



Universidade Federal do Oeste do Pará
Instituto de Biodiversidade e Florestas
Laboratório de Microscopia

MANUAL DO LABORATÓRIO DE MICROSCOPIA

Coordenador: Prof. Dr. Cléo Rodrigo Bressan

Técnica: Ellen Naiany Araújo de Freitas

Elaborado preliminarmente por:

Prof. Dr. Adenomar Neves de Carvalho

I. APRESENTAÇÃO

O Laboratório de Microscopia, do Instituto de Biodiversidade e Florestas/UFOPA, foi criado para atender principalmente as atividades básicas de ensino que necessitem observação de espécimes/materiais ou da estrutura do laboratório, mas também é aberto para toda a comunidade universitária da Universidade e da região, segundo às normas de uso e prioridades deste laboratório.

Este manual visa mostrar o uso apropriado, particularmente do estéreo microscópio, técnicas de regulagem da iluminação e de manutenção parcial, assim como a disponibilidade do laboratório para uso pelos professores para ensino, pesquisa ou extensão da Universidade Federal do Oeste do Pará.

II. OBJETIVOS

- Proporcionar as condições necessárias para o estudo prático das células, tecidos e pequenos organismos com material e equipamentos adequados.
- Criar competência, habilidade e responsabilidade na utilização de microscópios, identificação e análise de células, tecidos e micro-organismos e na montagem de lâminas.
- Definir o fluxo de atividades e responsabilidades para o uso do Laboratório de Microscopia do IBEF/UFOPA.

III. NORMAS DE AGENDAMENTO DO LABORATÓRIO

- As aulas práticas são agendadas por e-mail microscopia.ibef@gmail.com, ou pessoalmente com a técnica do laboratório nos horários de 8h-12h e 14h-18h.
- Agendar as aulas com, no mínimo, três dias úteis de antecedência.
- Quando houver coincidência nos horários de aula, os professores solicitantes devem entrar em acordo após comunicação com técnica ou coordenador. Não havendo acordo entre os envolvidos, será dada preferência para o primeiro que comunicou a necessidade do horário.
- O horário de funcionamento, com a presença do técnico, é das 8h-12h e das 14h-18h, sendo que, quando a aula começar antes ou após o horário de funcionamento, o professor solicitante é responsável por pegar a chave (nº28 Microscopia), na guarita do Campus, e devolvê-la.

IV. NORMAS DE UTILIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

Para que um laboratório atenda aos seus objetivos, é importante que todos colaborem, buscando seguir as instruções abaixo:

- Os equipamentos (microscópios, esteremicroscópios, etc.) não podem sair do laboratório, exceto em última necessidade, segundo o respaldo da coordenação e do preenchimento do termo de empréstimo devidamente assinado.

- Os materiais do laboratório de Microscopia estão à disposição para uso nas aulas práticas. A falta de outros materiais (reagentes, vidrarias, equipamentos, etc.), utilizados nas aulas práticas é de responsabilidade do professor solicitante.
- A entrada de alunos somente é permitida na presença de um professor ou servidor.
- O professor deve preencher com antecedência um relatório do material e dos equipamentos a serem utilizados na aula prática. Ao final de cada aula este relatório deve ser finalizado e entregue assinado ao técnico do laboratório, com as devidas observações.
- Os usuários do laboratório devem utilizar vestimenta adequada e demais utensílios de proteção para a atividade a ser realizada.
- Não é permitida a entrada de alimentos e material escolar não relacionado com a atividade.
- Materiais descartáveis devem ser colocados no lixo, as vidrarias lavadas e as bancadas limpas.
- Não é permitido a realização de práticas com patógenos humanos, com ou material possível de contaminação como fezes, sangue, tecidos animais doentes ou mortos, a não ser quando estarem em lâmina permanentes ou lacradas previamente em laboratórios adequados. Esta limitação é devido ao laboratório de microscopia não estar adequado para o trabalho com patógenos humanos.

A. O USO E MANUTENÇÃO PARCIAL DE MICROSCÓPIO E ESTÉREOMICROSCÓPIO

Em primeiro lugar é essencial que você conheça as partes ópticas e mecânicas dos microscópios, tendo o cuidado de ler e **absorver as instruções contidas nos manuais que os acompanham, e/ou seguir as orientações do instrutor de classe.**

- Mantenha o microscópio livre de poeira, vapores ácidos e do contato com reagentes. Para mantê-lo seco, cubra com capa de flanela pois evita o pó e a multiplicação de fungos (Obs.: as capas devem ser lavadas periodicamente).
- Não manusear o equipamento com as mãos sujas ou molhadas. Jamais comer ou beber próximo ao equipamento.
- Na remoção do equipamento, segure-o firmemente com uma das mãos no braço e outra na base, ou com as duas no braço, a depender do modelo. Coloque-o bem apoiado sobre a mesa de trabalho de superfície plana, **evitando qualquer movimentação brusca.**
- Nunca desloque o aparelho com a lâmpada acesa ou logo após ter sido apagada.
- Muita atenção é necessária quando se observa a preparação em meio líquido, pois há sempre o risco de molhar a lente frontal da objetiva; portanto o conselho é retirar o excesso de líquido com papel de filtro, antes de colocar a lâmina sobre a platina; em de acidente, **enxugar imediatamente** com papel absorvente macio.
- Na observação de uma preparação, inicie sempre pela **objetiva de menor aumento**; para focalizar com aquelas de 20 ou 40 vezes, proceda da seguinte forma:
 - Escolha uma estrutura na preparação, mova a lâmina até que o objeto fique exatamente no centro do campo, em seguida mude para a objetiva de maior aumento, olhando por fora para evitar o choque com a lamínula.
 - Olhar pela ocular e abaixar o tubo ou elevar a platina com o macrométrico muito lentamente; assim que a imagem aparecer, mesmo confusa, parar e completar a focalização com o micrométrico.

- O uso da objetiva de imersão é mais delicado pois, a distância focal entre a face da objetiva e a parte superior da lamínula, diminui quando a ampliação é aumentada.
- Em primeiro lugar, assegure-se da existência de algo no campo, posicionando a objetiva de menor aumento.
- Certifique-se que a iluminação e o objeto estão bem centrados, suspenda o tubo e coloque uma gota de óleo no centro da operação; o óleo deve ter o mesmo índice de refração da objetiva; abaixe o tubo até colocar a lente frontal em contato com a gota de óleo ainda convexa, até a mudança de forma da mesma; suspenda levemente o tubo, mas sem perda de contato com a gota, coloque os olhos nas oculares e abaixe o tubo muito lentamente; assim que a imagem aparecer, complete a focalização com o micrométrico.
- Apesar das precauções mencionadas caso a imagem não fique no ponto, verifique se o revólver está bem centrado, se a preparação está invertida ou muito espessa ou se a lamínula não é tão fina quanto deveria.

B. CAUSAS DE INSUCESSO NA PRÁTICA DA MICROSCOPIA:

- Campo escuro: é resultante de má centralização de iluminação; veja as instruções no item "regulagem da iluminação";
- Falta de nitidez da imagem: se persistir após a regulagem da iluminação e de uma focalização cuidadosa, a causa deve ser buscada metodicamente:
 - A preparação pode estar suja em uma das faces e isto pode ser reconhecido pela movimentação de estrias e sombras, ao mesmo tempo que a preparação; deve-se limpá-la com um lenço de papel extra-macio, embebido em álcool ou éter;
 - A ocular está suja: ao girá-la veremos corpos estranhos movimentando ao mesmo tempo; seguir a instrução de limpeza descrita no item "limpeza e lubrificação";
 - A objetiva pode estar com algum líquido na lente frontal ou com poeira na lente posterior; ver abaixo a maneira de solucionar; ao usar a lente de imersão servir-se de óleo de imersão suficientemente fluído e nunca deixá-lo secar sobre a objetiva ou sobre as preparações.
- Ao terminar as observações certifique-se que nenhuma lâmina permaneça sobre a platina, ponha a objetiva de menor aumento em posição, mova o macrométrico até o limite máximo (mais alto), e cubra o aparelho.

C. REGULAGEM DA ILUMINAÇÃO.

Nos microscópios cujos condensadores ABBE são móveis, para verificar a centralização, feche completamente o diafragma e examine a imagem com a objetiva de menor aumento focalizada numa preparação; em microscópios que possuem condensador de campo (por onde passam os feixes de luz), este também deve ser fechado, reduzindo assim o cone de luz.

Em ambos os casos a centralização é feita girando os parafusos laterais do condensador Abbe até que a íris do diafragma esteja exatamente no centro, ou seja, coincidindo com o eixo óptico do sistema de lentes.

A imagem da íris do diafragma, uma vez centralizada, deve ser regulada movimentando o condensador, para cima ou para baixo, até que sua borda azulada esteja

nítida; abre-se então o condensador de campo ou o diafragma para preencher todo o campo, obtendo-se assim um feixe luminoso exatamente centrado.

Esta iluminação crítica ou de Köhler é, portanto, obtida quando o condensador focaliza a luz no objeto e a luz transmitida do objeto para a objetiva quase que preenche completamente as lentes.

D. LIMPEZA E LUBRIFICAÇÃO

Parte Óptica

Vimos que a falta de nitidez das imagens depende diretamente do estado de limpeza das lentes. Isto pode ser evitado pelo hábito de limpeza periódica.

Oculares

Com a objetiva de menor aumento focalizada em uma preparação, gire as oculares e verifique se existem partículas que acompanham o movimento; caso existam elas, podem estar nas duas superfícies e neste caso ambas devem ser limpas com um bulbo de borracha e cotonete.

Para retirar eventuais manchas de óleo, dedos; umedecer um cotonete com solvente apropriado (álcool a 70%GL ou éter), tomando cuidado para não inundar as lentes, e secar imediatamente com um lenço de papel. Frequentemente basta projetar o hálito na superfície das lentes e limpá-las.

Limpe frequentemente as oculares com lenço de papel fino; pois o contato com os cílios e mesmo poeira podem sujá-las. Nunca toque as lentes com os dedos, pois gordura atrai poeira.

Uma precaução especial é requerida no uso de solventes hidrocarbonetos, como o xilol, pois podem penetrar na área de fixação das lentes dissolvendo a cola, bem como produzir película sobre as lentes.

Objetivas

Cada objetiva deve ser desatarraxada cuidadosamente do revolver e após a limpeza recolocada na posição original, para tanto, usar o mesmo método descrito para as oculares. No entanto, como as superfícies das lentes são menores que as das oculares, recomendamos inspecioná-las com uma pequena lupa manual.

Para retirar poeira da face posterior da objetiva, usa-se um pincel de pelo muito macio.

Após o uso da objetiva de imersão, retirar o excesso de óleo com um papel de filtro e terminar a limpeza com um cotonete levemente embebido de éter. **Jamais usar álcool na limpeza do óleo de imersão**, pois este não é dissolvido pelo álcool, mas forma com ele um precipitado branco.

Nunca tente desmontar as objetivas ou oculares, pois poderá desalinhar as lentes ou colocá-las na ordem ou posição erradas. Se houver necessidade de limpá-las internamente, deve-se enviá-las ao serviço especializado

Condensador

Tanto o condensador de campo como o que contém o diafragma devem ser limpos com álcool ou éter. Cuidadosamente limpe as lentes, primeiro retirando a poeira, em seguida aplicando o líquido de limpeza e enxugando com papel macio.

Parte mecânica

A lubrificação também deve ser regular, especialmente do macrométrico, que é a parte mecânica mais vulnerável, evitando assim o acúmulo de poeira e areia. Antes de proceder a lubrificação, a sujeira das partes metálicas deve ser eliminada com álcool, e enxugadas com tecido de algodão macio e relubrificadas, colocando uma pequena quantidade de lubrificante na base da cremalheira. Depois move-se para cima e para baixo, a fim de espalhá-lo. A cremalheira do condensador assim como macro- e micrométrico podem ser lubrificados com vaselina neutra.

Importante: Esses procedimentos só são válidos para equipamentos que têm cremalheiras visíveis.

Nunca force um macro ou micrométrico que esteja emperrado ou duro. Evite deixar o equipamento em locais que recebam luz solar ou calor por muito tempo, pois estes podem derreter as graxas, danificando o mecanismo, ou descolar as lentes.

É útil reservar uma pinça para limpar detritos ou fragmentos acumulados em reentrâncias, bem como dispor de alicates e chaves de fenda (fendas, estrela, philips), para apertar ou folgar alguma peça deslocada.

Para as partes expostas, é suficiente limpá-las com tecido umedecido com água e sabão neutro, mas, pode-se aplicar à platina uma diminuta quantidade de vaselina neutra.

Parte elétrica

Se o equipamento apresenta problemas na hora de acender a lâmpada pode-se verificar a tomada, o fusível e a lâmpada do mesmo.

Tomadas: devem estar inteiras, com os fios bem firmes a ela, caso contrário, aconselha-se a sua substituição.

Fusíveis: Desligue e retire o equipamento da tomada e procure o fusível geralmente localizado na parte inferior ou posterior do equipamento. São constituídos por um tubo de vidro com duas extremidades de metal (uma de cada lado) com um diminuto fio no meio. Este fio deve estar inteiro. Caso contrário, o fusível deverá ser trocado por outro do mesmo tipo. A sua identificação fica em uma das partes de metal (caso não tenha identificação, consulte o manual do equipamento).

Lâmpadas: verifique se ela está bem atarraxada no bocal e se seus "filamentos" encontram-se inteiros. Evite pegar na lâmpada com os dedos, faça-o com um lenço de papel, pois existem lâmpadas alógenas, que ao serem tocadas com os dedos, queimam.

E. MANUTENÇÃO

Embora os aparelhos modernos sejam mais sofisticados, os princípios de construção do microscópio óptico, do uso e da manutenção adequados, ainda são os mesmos. No entanto, as regras mais elementares de utilização são frequentemente ignoradas, até mesmo por usuários experientes, comprometendo assim não só a durabilidade do equipamento, mas também a não utilização de possíveis recursos.

Muitas vezes, os microscópios, que são enviados para conserto, estão apenas com as lentes sujas e podem ser restaurados rapidamente. **No entanto é recomendável uma manutenção preventiva por ano, a qual deve ser feita por técnicos especializados.**

Contato: microscopia.ibef@gmail

Coordenador: Prof. Dr. Cléo Rodrigo Bressan
email: cleorb@gmail.com

Técnica do laboratório: Ellen Naiany Araújo de Freitas
email: ellenaraujof@hotmail.com