

AULA: PARTE EXPERIMENTAL – MICROSCOPIA

MICROBIOLOGIA

OBJETIVOS

- Conhecer o microscópio óptico e suas partes componentes;
- Manusear o microscópio óptico com os devidos cuidados;
- Identificar e classificar as colônias, segundo parâmetros indicados.

MATERIAL

Microscópio óptico;	Alça de inoculação (platina);
Óleo de imersão (cedro);	Tubos;
Papel absorvente;	Estufa de cultura a 34°C;
Lâminas e lamínula;	Estufa bacteriológica;
Bico de Bunsen;	Ágar nutriente;
Bastão de vidro;	Placas contendo microrganismos;

PROCEDIMENTO

1ª Parte: Trabalhando com o Microscópio Óptico Composto - M.O.C.

Constituição do Microscópio Óptico Composto - M.O.C.

Atualmente, o microscópio óptico composto (M.O.C.) é constituído por duas partes – uma parte mecânica e uma parte óptica. Cada parte engloba uma série de componentes constituintes do microscópio (fig. 1).

A **parte mecânica** serve para dar estabilidade e suportar a parte óptica. Esta parte é constituída por:

- **Base** – suporta o microscópio, assegurando a sua estabilidade;
- **Estativa** – peça fixa à base, na qual estão aplicadas todas as outras partes constituintes do microscópio;
- **Tubo Ocular** – cilindro que suporta os sistemas de lentes, localizando-se na extremidade superior a ocular e na inferior o revólver com objetivas;
- **Platina** – peça circular, quadrada ou retangular, paralela à base, onde se coloca a preparação a observar, possuindo no centro um orifício circular ou alongado que possibilita a passagem dos raios luminosos concentrados pelo condensador;
- **Ajuste Macrométrico** – engrenagem que suporta o tubo e permite a sua deslocação a da platina. É indispensável para fazer a focagem;
- **Ajuste Micrométrico** – imprime ao tubo ou à platina movimentos de amplitude muito reduzida, completando a focagem. Permite explorar a profundidade de campo do microscópio;
- **Revólver Objetivas** – disco adaptado à zona inferior do tubo, que suporta duas a quatro objetivas de diferentes ampliações: por rotação é possível trocar rápida e comodamente de objetiva.

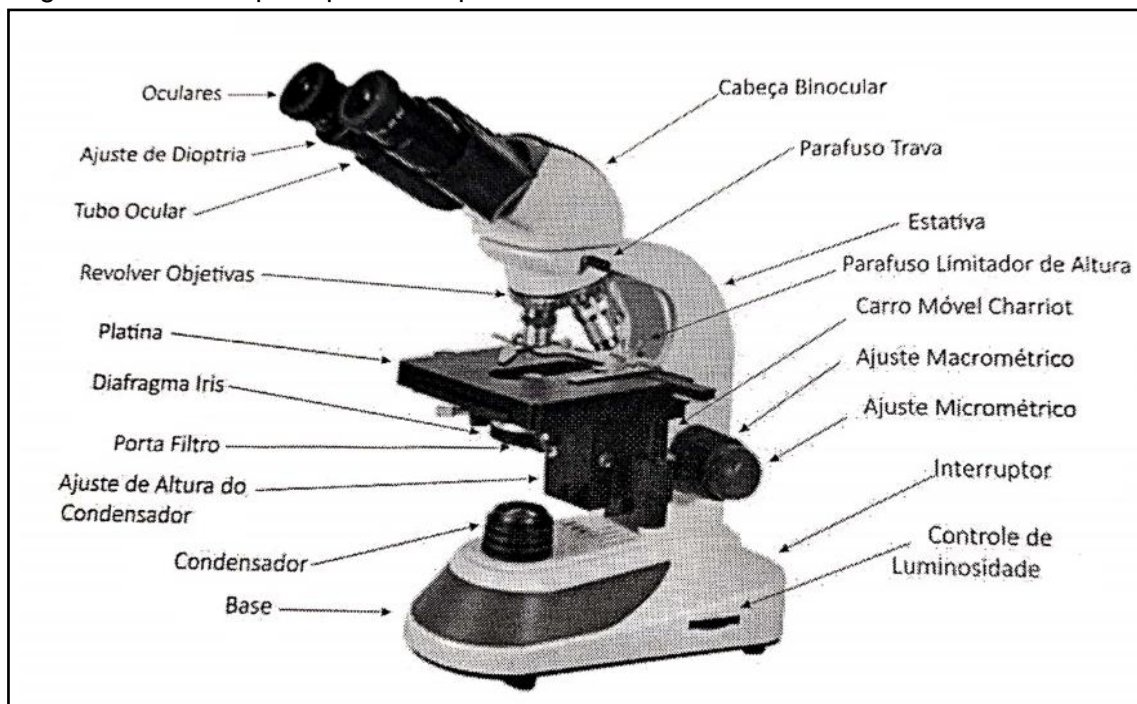
A **parte óptica** é constituída por:

- **Sistema de Oculares e Sistema de Objetivas** – o conjunto de lentes que permitem a ampliação do objeto. A ampliação dada ao microscópio é igual ao produto da ampliação da objetiva pela ampliação da ocular;
- **Fonte Luminosa** – existem vários tipos de fontes luminosas, podendo ser uma lâmpada (iluminação artificial), ou um espelho que reflita a luz solar (iluminação natural);
- **Condensador** – distribui regularmente, no campo visual do microscópio, a luz refletida pelo espelho;

- **Diafragma Iris**– regula a intensidade luminosa no campo visual do microscópio.

Devido a estes componentes serem de alta precisão e porque o microscópio é um instrumento caro, requer cuidados especiais de transporte, utilização e manutenção.

Figura 1: Microscópio Óptico Composto - M.O.C.



Fonte: arquivo de laboratório, 2019

Posição do Observador

- O observador deve estar sentado;
- Se o M.O.C. possuir uma ocular, deve olhar por ela com o olho esquerdo, mantendo os dois olhos abertos. Se o M.O.C. tiver duas oculares, deve olhar por ambas;
- Os parafusos de comando devem ser manuseados com a mão esquerda, deixando a mão direita livre para desenhar as observações.

Focalização

1. Colocar a ocular desejada;
2. Acender a fonte de luz acoplada;
3. Posicionar o condensador o mais próximo possível da platina;
4. Verificar se o diafragma está completamente aberto;
5. Colocar em foco a objetiva de menor aumento;
6. Fixar a lâmina preparada para observação na platina, através das presilhas;
7. Observar o campo microscópico;
8. Ajustar o foco utilizando o parafuso macrométrico.
9. Para maior aumento trocar as objetivas e ajustando o foco com o parafuso macrométrico e se necessário o micrométrico;
10. Para observar a lâmina corada com a objetiva de imersão, colocar uma gota de óleo de cedro sobre a área corada da lâmina;
11. Girar o revólver colocando a objetiva de imersão (maior aumento) em foco;
12. Olhando pelo lado, descer o canhão (ou subir a mesa de platina) utilizando o parafuso macrométrico até que a lente da objetiva de imersão encoste no óleo de cedro. NUNCA focalizar a imagem pela objetiva de imersão olhando pela ocular e sim sempre pelo lado;

13. Olhando pela ocular, girar o parafuso macrométrico LENTAMENTE, até conseguir focalizar de forma grosseira a preparação;
14. Mover o parafuso micrométrico até conseguir uma focalização ideal;
15. Para mudar o campo microscópico a ser observado, mover o Charriot.

Cuidados a ter com o M.O.C.

- Deve-se pegar no M.O.C. pelo braço, com a mão direita, enquanto se suporta a base com a mão esquerda;
- Não se deve tocar no sistema óptico com os dedos;
- A lente das objetivas não deve tocar na lamela;
- O M.O.C. deve estar completamente pousado numa mesa desocupada, e afastado da borda da mesa.

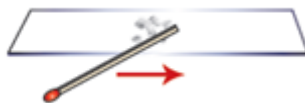
Manutenção e limpeza

- Após o uso do microscópio, procure limpá-lo com um pano macio, eliminando pó e outras sujeiras.
- Para limpar superficialmente as oculares e as objetivas de 10x e 40x utilize um pano macio ou algodão, removendo previamente o pó com um pincel de pelo macio, sem forçar demais, pois poderá riscar as lentes.
- Quanto a objetiva de 100x de imersão, cuide para que fique muito bem limpa depois de cada uso, pois se deixarmos o óleo de imersão sobre a lente ela se impregnará na sua superfície e se danificará irreversivelmente.
- Mantenha o microscópio em lugares isentos de umidade, em climas úmidos procure limpá-lo com frequência.
- Mantenha o aparelho coberto e certifique-se de que o interruptor esteja na posição desligado.

2ª Parte: Observação em Microscópico

a) Observando uma célula animal

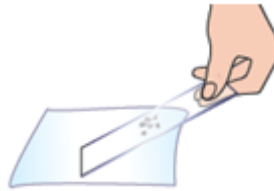
1. Com o auxílio de um cotonete raspar levemente a parte interna da bochecha;
2. Fazer um esfregaço espalhando sobre uma lâmina de vidro o material raspado da bochecha;



3. Fixar o material mergulhando a lâmina com o esfregaço em álcool 70%. Aguardar 2 minutos;



4. Retirar a lâmina do álcool e escorrer o excesso de líquido em um pedaço de papel de filtro;



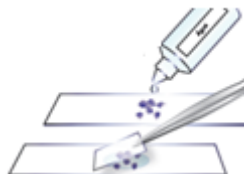
5. Colocar a lâmina sobre a bancada e pingar, sobre a região do esfregaço, uma gota de azul de metileno, aguardar 2 minutos;



6. Com o auxílio de uma pisseta remover o excesso de azul de metileno, jogando sobre a lâmina um jato de água.;



7. Com o auxílio de um frasco conta gotas, pingar uma gota de água sobre a região do esfregaço. Cobrir a preparação com uma lamínula;



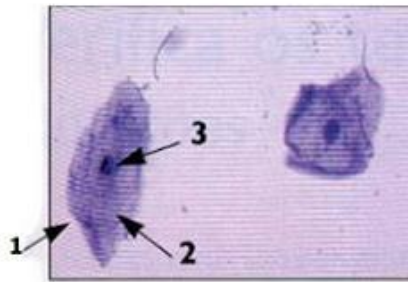
8. Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça;



9. Colocar a preparação dentro de um papel filtro dobrado. Pressionar levemente para retirar o excesso de líquido;



10. Observar ao microscópio, sempre começando pela objetiva de menor aumento (10x). Girar vagarosamente o micrométrico para obter o melhor foco. Fazer um desenho da célula observada.



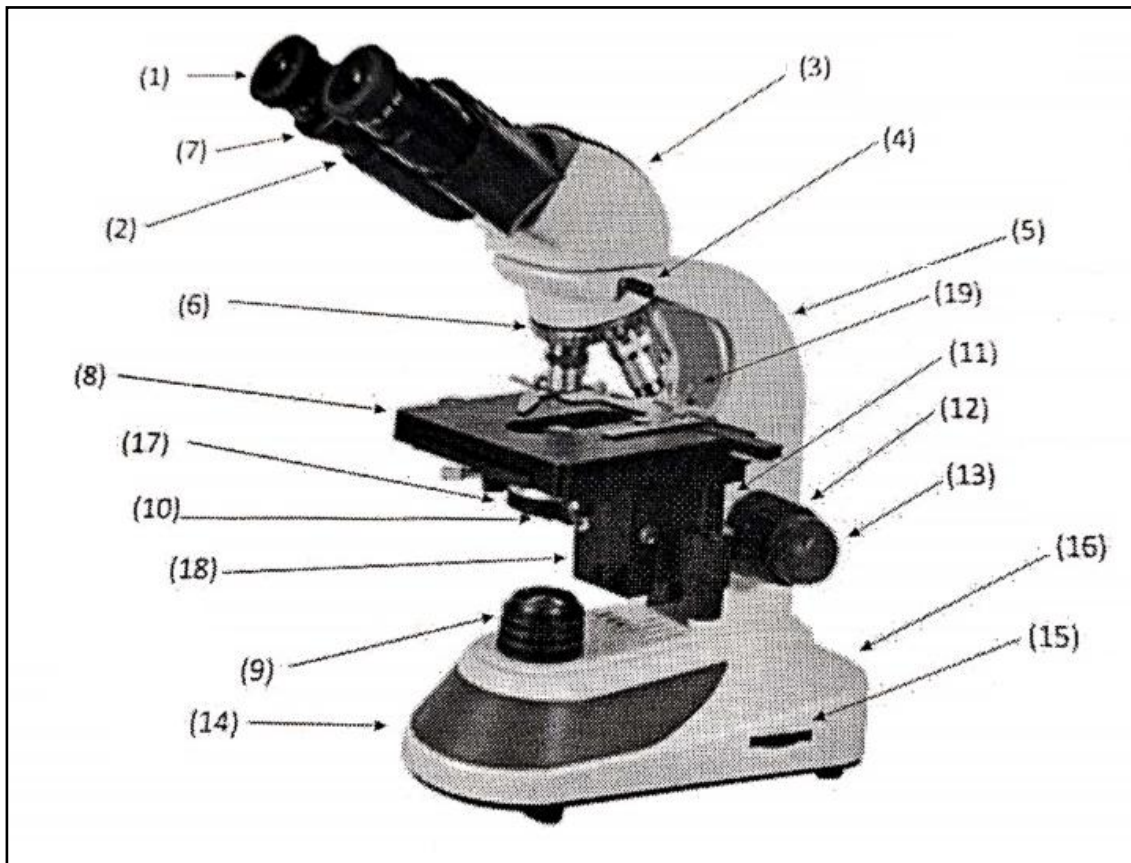
- 1 - membrana celular
2 - citoplasma
3 - núcleo



Fonte: DESSEN, Eliana Maria Beluzzo; OYAKAWA, Jorge. **Observação de células humanas em esfregaço de mucosa bucal.** Protocolos de aulas Práticas. Centro de Estudos do Genoma Humano, USP. Disponível em: <http://genoma.ib.usp.br/educacao/Observacao_Celulas_Humanas_web.pdf> Acesso em: 07/02/2012.

EXERCICIO

Identificando dos componentes do Microscópio:



- | | | |
|------------------------|---------------------------|---|
| () Oculares | () Ajuste de Dioptrias | () Controle Micrométrico |
| () Tubo ocular | () Platina | () Base |
| () Cabeça Binocular | () Condensador | () Interruptor |
| () Parafuso Trava | () Porta filtro | () Diafragma de Iris |
| () Estativa | () Carro móvel Charriot | () Ajuste de altura do condensador |
| () Revolver Objetivas | () Controle Macrométrico | () Parafuso Limitador de Altura da Platina |