

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 023
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 1/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Soro, Trimagem, Preparo de Parlódio Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

*ÍNDICE

1. OBJETIVO
2. ABRANGÊNCIA
3. RESPONSABILIDADES
4. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES
5. DEFINIÇÕES
6. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS
7. FLUXOGRAMAS
8. ANEXOS
9. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Edição	Alteração
01	Emissão inicial do documento em 27/07/2015. <i>Nota: inicialmente o conteúdo deste documento estava disponível no ONADOCS , POP 037; com data de vigência de 27/07/2015.</i>

Elaborado por: Suely Aparecida Pinheiro Palomino Joyce Kawakami Biologistas	27/07/2015	Aprovado por: Prof.Dra Maria Lourdes Higuchi Pesquisadora	15/03/21
--	------------	--	----------

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 023
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 2/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Soro, Trimagem, Preparo de Parlódio Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

1. OBJETIVO

- 1.1 Estabelecer normas para a identificação dos blocos que foram incluídos com material Biológico e o preparo de película de, Parlódio, para revestir as telas de Níquel, Cobre e Ouro, utilizados na Técnica de Inclusão de Soro, analisados pelo Microscópio Eletrônico.

2. ABRANGÊNCIA

- 2.1 Todos os colaboradores, alunos e estagiário.

3. RESPONSABILIDADES

- 3.1 Todos os profissionais, que realizarem a Técnica de preparação do Soro, para a Microscopia Eletrônica.

4. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

- 4.1 Não aplicável

5. DEFINIÇÕES

- 5.1 Os Blocos de Soro são Identificados, Trimados e colocados em Telas de Níquel, Cobre e Ouro, revestidos com a Película de Parlódio, que facilita a aderência do material nas Telas, seguindo para a análise pelo Microscópio Eletrônico

6. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

6.1 Identificação dos Blocos.

- 6.1.1 Após a polimerização, os blocos são retirados da estufa (nº21) e deixados em cima da bancada para esfriarem.
- 6.1.2 A seguir, são desencapsulados com o desemblocador (3ª gaveta armário de madeira) e os blocos são identificados com papel manteiga escrito com caneta Sakura (a base de acetona) e colados com cola superbonder (estocado na geladeira nº6). Não utilizar outra caneta para não apagar a identificação.
- 6.1.3 Os blocos são deixados na bancada para secar por 24 horas

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 023
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 3/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Soro, Trimagem, Preparo de Parlódio Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

6.2 Trimagem dos Blocos

6.2.1 Os blocos são trimados no Microscópio Estereoscópio (nº 49) com o auxílio de laminas de inox (gillet+protetor de laminas) em seguida são levadas ao Ultramicrotomo para corte ultrafino

6.3 Preparo de Película de Parlódio para as telas de Níquel, Cobre E Ouro:

6.3.1 Parlódio 2% em Acetato de Amila. Validade de 2 anos a Temperatura Ambiente em frasco âmbar.

6.3.2 Todo procedimento deve ser feito dentro da Estação de trabalho (nº 33) para evitar que a poeira contamine a película.

6.3.3 É utilizado um recipiente circular de vidro, que deve ficar em cima de um saco de lixo preto, para facilitar a visualização de poeiras na água. Encher o recipiente com água deionizada até a borda.

6.3.4 Limpar a água com papel canário, a fim de retirar toda a poeira.

6.3.5 Pingar uma gota da Solução de Parlódio 2%, no centro do recipiente e esperar alguns segundos para a formação da película.

6.3.6 Utilizar sempre a região das bordas, pois a película fica muito espessa no centro. Não utilizar a película se estiver colorida.

6.3.7 Com o auxílio de uma pinça, colocar as telas com a região brilhante voltadas para baixo, enfileiradas.

6.3.8 Repousar sobre as telas um pedaço de parafilme suficiente para cobri-las, retirar o excesso da película ao redor do parafilme com o auxílio da ponta da pinça, e recolher o parafilme em uma placa de petri e esperar secar antes de tampar.

6.4 OBS:

6.4.1 Cortes ultrafinos a 60-70nm de espessura feitos no Ultramicrotomo, são colocados em telas revestidas com Película de Parlódio de 200 mesh de cobre, níquel ou ouro .

6.4.2 As telas de cobre são coradas em solução de Citrato de Chumbo por 5 minutos para posterior observação ao Microscópio Eletrônico de transmissão.

6.4.3 As telas de níquel são utilizadas na Técnica de Imunoelétrica e as telas de Ouro são utilizadas na Técnica de Hibridização *in situ*.

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC 023
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 4/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Soro, Trimagem, Preparo de Parlódio Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

6.5 **Limpeza :**

- 6.5.1 O local, deverá ser limpo antes e após o uso com gazes embebidas com Álcool 70°C , descartar o material usado

7. **FLUXOGRAMAS**

- 7.1 Não aplicável

.

8. **ANEXOS**

- 8.1 Não aplicável

.

9. **REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA**

- 9.1 O protocolo será feito segundo descrito por Duarte, MIS et al – A fast method for processing biologic material for electron microscopic diagnosis in infectious disease. Ultrastructural Pathology, 16:475-482, 1982, com modificações.

.