

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC024
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 1/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Tecido, 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 038; 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 TEC024
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 2/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Tecido, 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 Tecido, 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 Tecido para a Microscopia Eletrônica.

4. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

- 4.1 Não aplicável

5. DEFINIÇÕES

- 5.1 Os Blocos de Tecido 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 TEC024
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 3/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Tecido, 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 semi fino

6.3 Cortes Finos

6.3.1 Cortes semi-finos de 0,5 µm feitos em ultramicrotomo (nº 53) são colocados em lâminas histológicas e esticados com vapor de Clorofórmio. A seguir, os fragmentos são fixados a lamina no bloco de aquecimento (nº62), por 15 minutos, corados com mistura 1:1 de Azul de Metileno a 1% contendo Bórax a 1% e Azur II a 1% no bloco de aquecimento por 15 minutos, o excesso de corante é desprezado na pia, a lamina é lavada com água de injeção e a lamina é novamente levada ao bloco de aquecimento para secar.

6.3.2 A partir da observação e análise ao Microscópio Óptico destes cortes semi-finos, serão selecionados os blocos mais representativos para o corte ultrafino.

6.4 Preparo de Película para telas ME:

6.4.1 Protocolo conforme descrito no POP TEC 023. Neste caso os blocos escolhidos são cortados e colocados em Telas de Cobre, corados com solução de Citrato de Chumbo, armazenada em caixas próprias para telas e observadas ao Microscópio Eletrônico de Transmissão.

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

	PROCEDIMENTO OPERACIONAL	Número: POP TEC024
		Edição: 05
Área: Laboratório de Patologia Cardíaca		Página: 4/4
Assunto: Microscopia Eletrônica Identificação Blocos de Tecido, Trimagem, Preparo de Parlódio Limpeza do Local		Vigência: 08/03/2021

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.