



MICROBIOLOGIA FUNDAMENTAL (ZMV 0368)

Prof^a. Dr^a. Andrezza M. Fernandes (*in memoriam*)
Prof^a. Dra. Ana Maria Centola Vidal e Prof^a. Dra. Lara Borges Keid
Técnicas de laboratório: Silvia H. S. de Godoy e Andréia C. N. Vaz.

AULA PRÁTICA 3

Cultivo de bactérias – técnicas de semeaduras (leitura)

Coloração em Bacteriologia I – Método de Coloração de Gam (preparo)

Microscópio óptico: componentes, manipulação e cuidados (manusear)

1. Introdução

O microscópio óptico é um instrumento de fundamental importância para rotina laboratorial. Por meio deste equipamento é possível ampliar os microrganismos e consequentemente determinar seus aspectos morfológicos e tintoriais.

2. Componentes

O microscópio óptico é constituído por diferentes partes, porém todas funcionam juntas (Figura 1). A ampliação da imagem ocorre quando a luz passa através da abertura pela lâmina e lente objetiva.

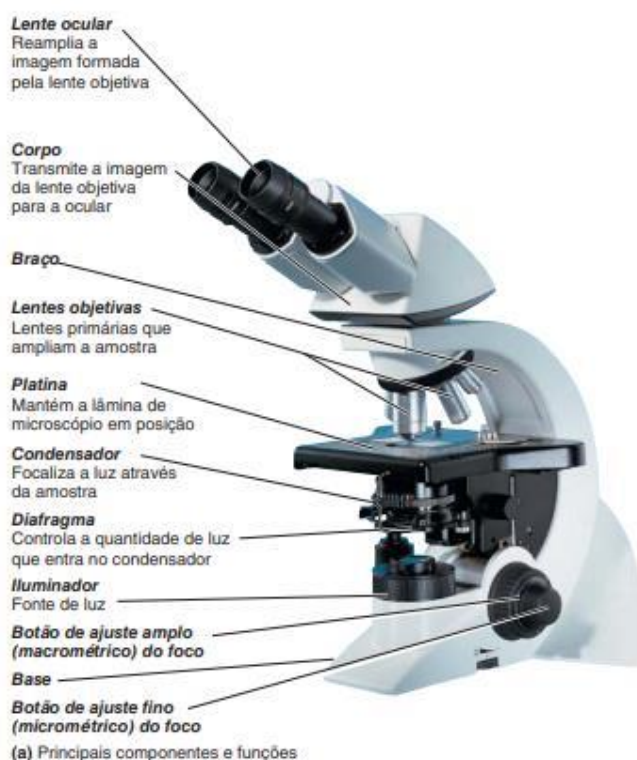


Figura 1. Componentes de um microscópio óptico e funções. Tortora et al., 2017.

As partes de um microscópio a saber são:

- **Lente ocular**- utilizada pela pessoa para examinar a amostra, geralmente contém um aumento de 10x ou 15x. É possível mudar o foco da ocular e corrigir qualquer diferença de visão entre ambos os olhos, denominado ajuste de dioptria.
- **Tubo** - parte que conecta a ocular às lentes objetivas.
- **Braço ou coluna**- é a parte que conecta o tubo à base do microscópio.
- **Macrométrico**- **esse dispositivo tem a finalidade de** estabelecer um foco geral para a amostra analisada.
- **Micrométrico**- **Diferente do dispositivo anterior, o micrométrico** estabelece um foco mais preciso e aumenta o detalhe da amostra analisada.
- **Revólver** – é peça rotativa que contém as lentes objetivas. Por meio deste, o técnico gira para selecionar diferentes lentes objetivas.
- **Lentes objetivas ou Objetivas**- **são as** lentes mais importantes do microscópio óptico. Podem aumentar a imagem entre 4x até 100x.
- **Mesa ou Platina**- é o local plano onde se coloca a lâmina que será examinada.
- **Presilha ou pinça**- **é uma parte metálica utilizada para manter a** lâmina presa.
- **Chariot**- **são** botões que movem a mesa ou platina para a esquerda e direita ou para cima e para baixo.
- **Fonte de iluminação**- **é a** fonte de luz para um microscópio. Em geral, uma lâmpada de baixa voltagem.
- **Diafragma**- é usado para ajustar a quantidade de luz que atinge a amostra analisada.
- **Condensador**- reúne e concentra a luz do iluminador sobre a amostra que está sendo visualizada.
- **Base**- parte que suporta o microscópio e onde a fonte de iluminação está localizada.
- **Interruptor**- chave na base do microscópio que liga ou desliga o iluminador.

Atividade 1: Leitura das placas – cultivo de bactérias (tipos de sementeiras)

Procedimento:

- Observar as placas, sem abrir.
- Anotar as diferenças entre o crescimento das colônias em cada placa.

Atividade 2: Coloração de Gram

Procedimento:

- Acender o bico de Bunsen; pingar uma gota de água estéril na lâmina de vidro; flambar a alça de sementeira, esperar esfriar sem encostar em nada e mantendo-a próxima ao fogo; abrir a placa de sementeira (superfície ou esgotamento) e pegar uma colônia isolada utilizando a alça; tampar a placa; espalhar o conteúdo da alça na lâmina de vidro; flambar a alça de sementeira antes de colocá-la na bancada; com o auxílio do prendedor de madeira, passar a lâmina sobre fogo algumas vezes até secar e fixar o esfregaço (não deixar a lâmina sobre o fogo, pois estilhaçará a lamina de vidro)
- Colocar a lâmina no suporte; cobrir o esfregaço com **Cristal violeta** por 1 min; lavar com água (pisseta); cobrir com solução de **Lugol** por 1-2 min; lavar com água; lavar com **Solução descorante** (aproximadamente 10 segundos ou até que o etanol que escorre da lâmina fique transparente); lavar com água; corar com **Fucsina** por 30 seg; lavar com água; secar e observar ao microscópio (objetiva de imersão).

Atividade 3. Aprender a utilizar um microscópio óptico. Vamos treinar!

- a.) Ligue o microscópio.
- b) Posicione a lâmina sobre a platina e prenda com a presilha.
- c) Para iniciar, use a menor ampliação. Ajuste o revólver para que a lente objetiva de menor aumento (4x) esteja no lugar correto.
- d) Aproxime a lâmina da objetiva pelo dispositivo macrométrico até perceber o foco.
- e) Ajuste a intensidade da luz de acordo com a objetiva utilizada.
- f) Utilize o dispositivo micrométrico para dar nitidez à imagem.
- g) Para aumentar a ampliação, gire o revólver e selecione a próxima lente objetiva.
- h) Ajuste novamente a intensidade da luz e a nitidez.
- i) Cuidado redobrado ao utilizar a objetiva de imersão (100x)!! Essa é a única objetiva em que se usa óleo de imersão. Qualquer outra objetiva é danificada ao entrar em contato com o óleo.
Normalmente, essa objetiva e óleo são úteis para visualizar as bactérias.
- j) Lembre-se de que o foco varia, portanto o que pode estar nítido para você pode

não estar para outra pessoa.

k) Após usar o microscópio, principalmente, se for usado óleo, limpar a objetiva com papel bem macio. Desligar o interruptor e cobri-lo com a capa.

IMPORTANTE: No microscópio, ir focando a lâmina com a objetiva de 4x, 10x e 40x, assim que chegar na objetiva de 100x chamar algum responsável para colocar o óleo de imersão.

Observar as lâminas de outros grupos e anotar os tipos de bactérias observadas (forma, arranjo, Gram + ou -).

LAVAR BEM AS MÃOS!

