



PROTOCOLO PARA PREPARAÇÃO DE ESPÉCIMES PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

- Limpar o material o máximo possível com um pincel fino
- Hidratar gradualmente até H₂O destilada
- Limpar com detergente (solução de formol 37% e detergente a 1:10), deixando imerso por alguns dias (em geral uma semana), trocando a solução a cada dois dias
- Lavar bem com H₂O destilada até não haver mais resíduos do detergente (neste ponto, se necessário e apenas por alguns segundos, utilizar ultra-som para finalizar a limpeza)
- Substituir a água por solução de Tetróxido de Ósmio 1% e deixar de 2 a 3 horas
- Desidratar progressivamente até etanol 100% (10%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100% por 10 minutos. Trocar o álcool 100% três vezes, sendo a última no máximo 1h antes de levar ao ponto crítico)

Observações:

A substituição da solução de detergente é importante para que a sujeira desprendida do material não seja depositada nele novamente. Movimentar o frasco ou a solução (por exemplo, agitar ou com um jato da pipeta) torna a limpeza mais eficiente.

O ultra-som rompe tecidos moles muito facilmente, o ideal é testar quanto tempo o material resiste (para cestódeos de tamanho médio a pequeno, 5 imersões de aproximadamente 2 segundos mostraram-se suficientes)

Para utilização da solução de ósmio, use sempre luvas e trabalhe na capela; a solução não deve permanecer fora da geladeira por muito tempo para não precipitar. Depois de usada, a solução de ósmio deve ser depositada em um frasco com etanol 92% e quando estiver escura (cinza) pode ser descartada.

A solução de ósmio é cristalina, e não deve ser utilizada se estiver escura.

Se o material for levado ao ponto crítico em redinhas, esta deve ser colocada na troca do etanol 90% para o 100%, para que todas as trocas de 100% sejam feitas dentro deste recipiente.

Se for necessário parar o processo na desidratação, o ideal é que seja no etanol 70%, para que o material não se torne quebradiço e colapse quando levado ao ponto crítico.