

# USO Y NORMAS DE UTILIZACIÓN DEL MICROSCOPIO

## Técnicas de visualización que el equipo permite

En el equipo se pueden realizar observaciones en:

- **Campo claro** (Bright Field: BF): imágenes oscuras frente al campo luminoso.
- **Campo oscuro** (Dark Field: DF): fondo oscuro sobre el que se ven los objetos intensamente iluminados.
- **Contraste de fases** (Phase Contrast: PH): produce variaciones de luminosidad de forma que sean visibles las distintas partes de la muestra.
- **Fluorescencia.**

Utilización del equipo con FLUORESCENCIA: seguir las instrucciones marcadas en los documentos situados al lado del microscopio y además preguntar a Elisa o Rebeca.

En este documento se dan unas guías acerca de como se ha de usar el microscopio y las normas que han de cumplirse. Si alguna persona no ha usado nunca el microscopio o necesita que se le explique con más detalle cómo se utiliza, puede preguntar a Elisa o Rebeca.

Al lado del microscopio habrá un cuaderno el que todos los usuarios han de apuntarse cada vez que se use el microscopio. Si se observa alguna incidencia se anotará en el cuaderno y además se avisará a los responsables del equipo (Elisa/Rebeca).

## Preparación de las muestras

La muestra objeto de estudio se colocará sobre un portaobjetos, y SIEMPRE se colocará por encima el cubreobjetos (lámina muy fina de vidrio que sirve para cubrir la muestra). El cubre puede no emplearse con el objetivo de inmersión (100x) única y exclusivamente en el caso de muestras previamente fijadas sobre el porta y totalmente secas.

Si la muestra objeto de análisis es un líquido, añadir la cantidad justa. Si se añade en exceso, las corrientes generadas al colocar el cubre impedirán una buena visualización.

En el armario situado abajo a la derecha del microscopio hay pipetas Pasteur para colocar la muestra sobre el porta. En caso de que se necesite añadir un volumen fijo, el usuario tendrá que traer su pipeta y después volvérsela a llevar. Hay disponible una pipeta de 1mL para la realización de ensayos de viabilidad. Pero para el resto el usuario tendrá que traerla.

## Enfoque de la muestra

- Colocar la preparación sobre la platina llevando el portaobjetos hasta el final de la platina.
- Colocar el objetivo de 4x o 10x para comenzar la observación.
- Acercar el objetivo a la preparación empleando el tornillo macrométrico a medida que se observa la muestra por los oculares. Para no incrustar el objetivo en la preparación se ha de hacer lentamente y mirando periódicamente hacia la preparación.
- Una vez enfocada la muestra con el objetivo 4x o 10x, al pasar a los objetivos de mayor aumento (20x y 40x), la imagen deberá estar ya casi enfocada, por lo que es **suficiente ajustar el enfoque con el micrométrico** (sin usar de nuevo el macrométrico). Si al cambiar de objetivo se perdió por completo la imagen, se ha de comenzar de nuevo por los objetivos de menor aumento (10x y 20x) y, por tanto, repetir la operación anterior.
- No forzar nunca los tornillos giratorios del microscopio (macrométrico, micrométrico, platina, revólver y condensador).

### ***Utilización del objetivo de inmersión (100x):***

- En caso de que se vaya a utilizar este objetivo, **esto sólo podrá hacerse utilizando aceite de inmersión** (que estará junto con el resto de material necesario para usar el microscopio en el armario situado abajo a la derecha del equipo). **NINGÚN OTRO OBJETIVO QUE NO SEA EL DE 100X SE PUEDE MANCHAR CON ACEITE DE INMERSIÓN, ASÍ QUE SE HA DE TENER ESPECIAL CUIDADO CON ESTO!!!**
- Para usar este objetivo, una vez que tenemos enfocado el campo de visión o la parte de la muestra que queremos observar con el objetivo de 40x, se gira el revólver hacia el objetivo de 100x pero sin llegar a colocarlo (dejándolo a medio camino); se coloca una gotita de aceite sobre la muestra y se termina de girar el revólver hasta colocar el objetivo de 100x. Seguidamente, se enfoca con el micrométrico con cuidado, ya que la distancia de trabajo entre el objetivo de inmersión y la preparación es mínima.

- Una vez se haya puesto el aceite de inmersión sobre la preparación, ya no se puede volver a usar ningún otro objetivo para evitar que se manchen. Si se quiere enfocar otro campo dentro de la misma muestra se ha de estar muy seguro de que no hay aceite de inmersión y se ha de empezar de nuevo a enfocar desde el objetivo de 4x o 10x (teniendo mucho cuidado de no manchar ningún objetivo que no sea el de 100x con aceite!!!)

### **Cuando se termine de usar el equipo:**

- Una vez finalizada la observación de la muestra y **ANTES DE RETIRAR LA PREPARACIÓN**, se baja la platina y se coloca el objetivo de menor aumento. En este momento se puede retirar la preparación.
- **Si se ha usado el objetivo de inmersión habrá que limpiarlo suavemente con el papel situado al lado del microscopio.** Si el papel se acaba, Matías sabe donde hay más o se le dice a Matías que pida más.
- Al finalizar el trabajo hay que **dejar colocado el objetivo de menor aumento en posición de observación (con la platina bajada hasta abajo) y dejar cubierto el microscopio con su funda** para que las distintas partes del equipo (objetivos, oculares, fuente de luz...) no se llenen de polvo; **EXCEPTO** si se ha estado usando fluorescencia y la lámpara de mercurio está aún caliente. En este caso el microscopio se cubrirá cuando esté frío.
- Los portaobjetos que han sido utilizados deberán lavarse con un poco lavavajillas, aclararse con agua, limpiarse con un papel mojado en etanol (si el etanol se acaba se rellena el frasco) y finalmente guardarse en la caja donde se guardan los portaobjetos.
- Los cubreobjetos deberán **desecharse SIEMPRE** en el tarro de vidrio que hay disponible al lado del microscopio.
- Al lado del microscopio hay dos tarros, uno para el vidrio (pipetas pasteur, cubreobjetos, portas en mal estado (viejos o rayados..); y otro para las puntas de pipeta usadas. Así que cada cosa deberá ir en su sitio.

- Cuando se hagan fotos utilizando el software disponible para ello, ASEGURARSE de que las fotos quedan guardadas en una carpeta que el usuario se deberá hacer y no en el escritorio o en las carpetas de cualquier otro usuario. ELIMINAR todas las fotos que ya no sean útiles. Si alguien no sabe usar el software pregunta a Elisa o Rebeca o a alguien que sepa usarlo.
- Cada persona que vaya a usar el equipo por primera vez deberá comunicarlo a Elisa o Rebeca.
- No se debe tocar ninguna parte del microscopio que no sean las que están relacionadas con el enfoque y observación de la muestra o que no se sepa para que sirve!. Esto es porque ya ha habido problemas de descentrado de las lámparas y luego es necesario avisar al técnico para su centrado. Lo mismo se aplica al manejo de la cámara y el software.
- La zona en la que está situado el microscopio deberá mantenerse siempre limpia. Si algo se derrama o se ensucia se limpiará con papel empapado en etanol.

