

CONSTRUÇÃO E USO DE UM MICRÓTOMO DE MÃO, EMPREGADO PARA OBTENÇÃO DE CORTES FINOS DE TECIDOS VEGETAIS E ANIMAIS

Paulo A. Otto¹

1. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

INTRODUÇÃO

Os micrótomos possibilitam a obtenção de cortes finos de amostras de material biológico, incluídos ou não em parafina, para análise ao microscópio de luz. Aparelhos de estrutura e funcionamento relativamente simples podem ser facilmente usados com finalidades educacionais por estudantes do ensino médio, principalmente para a preparação de material de natureza meio endurecida naturalmente, como é o caso dos tecidos vegetais. Na área da genética, o aparelho pode ser empregado para a obtenção de cortes de raízes de cebola (meristema apical) mostrando figuras de metáfase e de cortes de testículo de insetos (gafanhotos) para mostrar as fases da gametogênese.

Apresentamos neste artigo orientação quanto à construção e ao uso de um micrótomo de estrutura simples, o qual pode ser fabricado em oficinas equipadas com uma quantidade mínima de máquinas-ferramentas de precisão.

O custo unitário do aparelho, sem incluir gastos de mão de obra, é inferior a R\$ 100,00, em contraste com o preço de instrumentos comerciais, da ordem de R\$ 2.000,00.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os micrótomos apresentados neste artigo foram usinados em torno portátil de precisão marca Sherline usando-se, à exceção de parafusos e porcas de aço encontrados no comércio, peças (tubos, cilindros e placas) de alumínio. Todas as peças de alumínio, com exceção da usada na confecção da platina (2 mm de espessura) e da peça usada na extremidade do parafuso para deslocar o objeto a ser seccionado (cilindro maciço de aproximadamente 10 mm de diâmetro), possuem uma espessura de 1 mm.

A figura 1 mostra os principais componentes de um desses micrótomos. Detalhes técnicos sobre cada um desses constituintes são descritos em seguida.

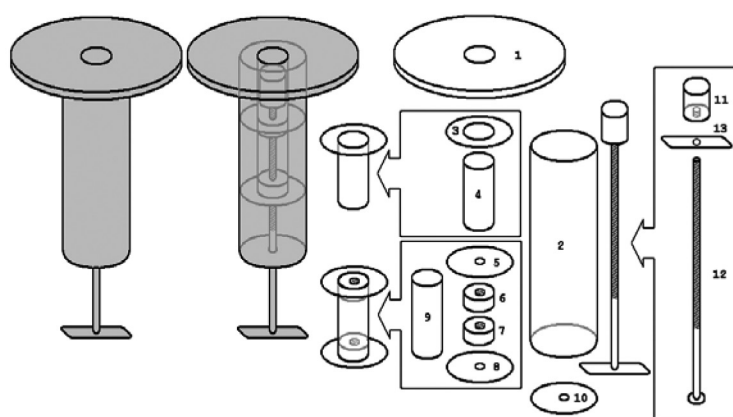


FIGURA 1: Constituintes do micrótomo. 1 - platina, onde é apoiado o instrumento de corte; 2 - cabo, por onde o instrumento é seguro; 3 - peça para centrar o poço 4 e o cabo 2; 4 - poço em que é colocado o material a ser seccionado; 5 a 9 - peça composta que, por meio das roscas das porcas 6 e 7, guia o parafuso (12), o qual carrega em sua extremidade livre o êmbolo (11) que empurra o cilindro com o material a ser seccionado no poço. A peça 13 (borboleta de alumínio) é usada para girar o parafuso. A peça 10 mantém fechada a parte inferior do cabo do micrótomo.

A platina (peça 1 da figura 1), estrutura destinada a orientar e apoiar de maneira correta o instrumento de corte, foi confeccionada a partir de placa de alumínio com 2 mm de espessura. O diâmetro externo da platina é de 72 mm. O orifício centrado interno, com 13 mm de diâmetro, abrigará o poço (peça 4 da figura 1) onde é colocado o material a ser seccionado com o seu suporte e possui um diâmetro de 13 mm. A não ser que se disponha de um torno profissional, o corte externo das platinas deverá ser executado em oficinas de serralheria, que possuem ferramentas de corte capazes de cortar, com precisão mínima, material metálico espesso. Caso a construção do micrótomo seja encomendada a uma oficina que disponha de torno profissional, é interessante que a platina seja confeccionada a partir de placas de aço inoxidável de 1 a 2 mm de espessura, com a finalidade de se evitar o seu desgaste pela lâmina da navalha que executa os cortes histológicos.

O tubo externo (cabo) dos micrótomos (peça 2 da figura 1), com um comprimento de 90 mm, por meio do qual os instrumentos são seguros, foi obtido por corte (a ângulo perfeitamente reto) de tubo de alumínio com 25 mm de diâmetro externo e 1mm de espessura. Tubos longos com aproximadamente esse diâmetro externo e espessura são encontrados em instrumentos de limpeza (vassouras e rodos) que podem ser adquiridos no comércio varejista. Como mencionado acima, o corte de ambas as extremidades do tubo deve ser realizado a ângulo perfeitamente reto, com o auxílio de guias comumente existentes em serralherias, que podem ser contratadas para a execução desse serviço.

A peça usada como poço (peça 4 da figura 1) é um tubo de alumínio com 13 mm de diâmetro externo, 1mm de espessura e 30 mm de comprimento. Uma arruela de 23 mm de diâmetro externo, 1 mm de espessura e com um orifício interno de 13 mm serve de orientação e apoio tanto para este poço como para o cabo, quando essas peças são unidas à platina por meio de adesivo epóxi ou de solda metálica.

A peça composta formada pelos elementos 5 a 9 da figura 1 serve de guia para o parafuso que move a peça a ser cortada. É composta por duas arruelas (peças 5 e 8 da figura 1) de 23 mm de diâmetro, 1mm de espessura e com um orifício centrado interno de 7 mm de diâmetro, às quais são coladas ou soldadas duas porcas de aço (peças 6 e 7 da figura 1), com 20 fios/polegada (porcas de 1/4) e espessura de 6 mm. Essas duas peças compostas são coladas ou soldadas a um tubo (peça 9 da figura 1) de alumínio (ou de cobre) de 34 mm de comprimento, 15 mm de diâmetro externo e 1mm de espessura, da maneira como mostrada nas figuras 1 e 2, com as porcas voltadas para o

interior do tubo. Essa peça montada é colada ou soldada à parte interna do cabo do micrótomo e ao tubo (peça 4) em cujo interior é deslocada a peça a ser seccionada.

Uma arruela (peça 10 da figura 1), de dimensões idênticas às das peças 5 e 8 descritas acima, é colada ou soldada à extremidade livre do cabo (peça 2), com a finalidade de se proteger o mecanismo interno do micrótomo.

Um parafuso de aço (peça 12 da figura 1), com 102mm de comprimento, diâmetro de 5,5 mm e rosca de 20 fios/polegada, adaptado às rosca das porcas (peças 6 e 7) do guia interno do micrótomo, é usado para deslocar, no poço do micrótomo, o material a ser seccionado. Para facilitar a rotação do parafuso, cola-se ou solda-se à extremidade da sua cabeça uma chapa (“borboleta”) de alumínio (peça 13 da figura 1) de 1mm de espessura, de dimensões 35 mm x 15 mm, com os cantos arredondados e possuindo em seu centro geométrico um orifício de 7 mm de diâmetro.

A última peça do micrótomo é um pequeno cilindro de alumínio (peça 11 da figura 1) de 11mm de diâmetro e 15 mm de comprimento, com uma rosca interna (20 fios/polegada) aberta numa das extremidades para ser adaptada (rosqueada e apertada) à extremidade livre do parafuso, já perfeitamente introduzida no interior do poço do micrótomo.

Uma volta completa do parafuso (de 20 fios/polegada) desloca verticalmente o objeto a ser seccionado $1/20$ de polegada = 1,27 mm. $1/12$ de volta do parafuso, portanto, corresponde aproximadamente a um deslocamento vertical do parafuso da ordem de 0,1 mm ou 100 micrômetros. Com um treinamento adequado os usuários poderão obter cortes da ordem de 50 ou mesmo 20 micrômetros ou menos, que já permitem um exame apropriado, em condições otimizadas, de material seccionado, ao microscópio de luz.

Com exceção dos parafusos e porcas de aço, adquiridos de lojas especializadas em ferragens e ferramentas, todas as demais peças foram compradas de lojas especializadas da rua Florêncio de Abreu (para as placas, tubos e cilindros de metal indicamos especialmente a “Casa da Bóia”, localizada no número 123 dessa rua), no centro da capital paulista, da mesma maneira que o adesivo epóxi profissional (“Araldite” de tempo de secagem 24 h) usado para unir as peças de metal.

A figura 2 abaixo, desenhada em escala, mostra a posição, em corte longitudinal, de todas as peças mostradas na figura 1 e descritas nos parágrafos anteriores. Os pontos de aplicação de cola ou solda para unir os componentes metálicos são mostrados em vermelho.

É importante salientar que, obviamente, pequenas variações das medidas das peças mostradas nas figuras 1, 2 e 3 são permitidas, uma vez que a finalidade do apa-

relho é deslocar com um mínimo de folga a peça a ser seccionada, colocada no poço situado no centro da platina do micrótopo.

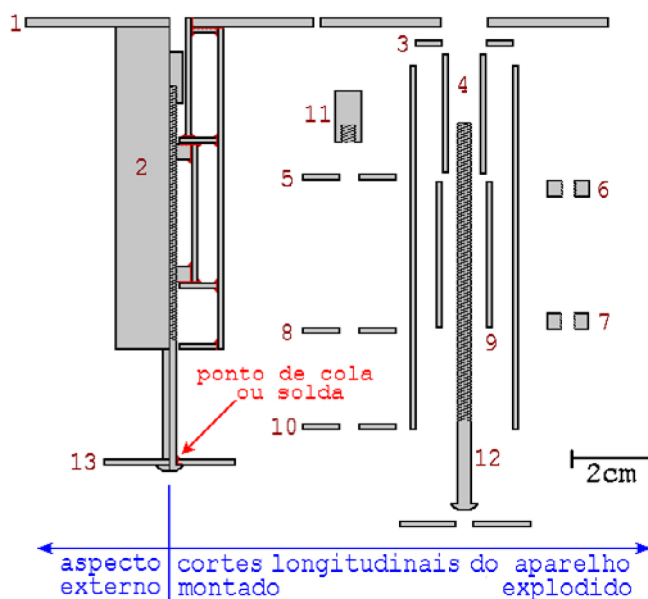


FIGURA 2: Vista lateral externa e corte longitudinal do micrótopo, mostrando seus componentes, em escala indicada pelo segmento de linha de 2 cm na parte inferior direita do desenho. As peças do micrótopo, numeradas de acordo com a identificação mostrada na figura 1, são coladas ou soldadas nos lugares indicados em cor vermelha. A peça 11 (êmbolo), atarrachada firmemente à extremidade livre do parafuso, impede que o parafuso seja destacado do aparelho.

A figura 3 mostra uma fotografia de todas as peças usadas no micrótopo, além de um aparelho montado (à direita) e do cortador e extrator (à esquerda) usados para

a obtenção de cilindros de material sólido que servirão de suporte ao material biológico a ser seccionado e descritos mais abaixo.

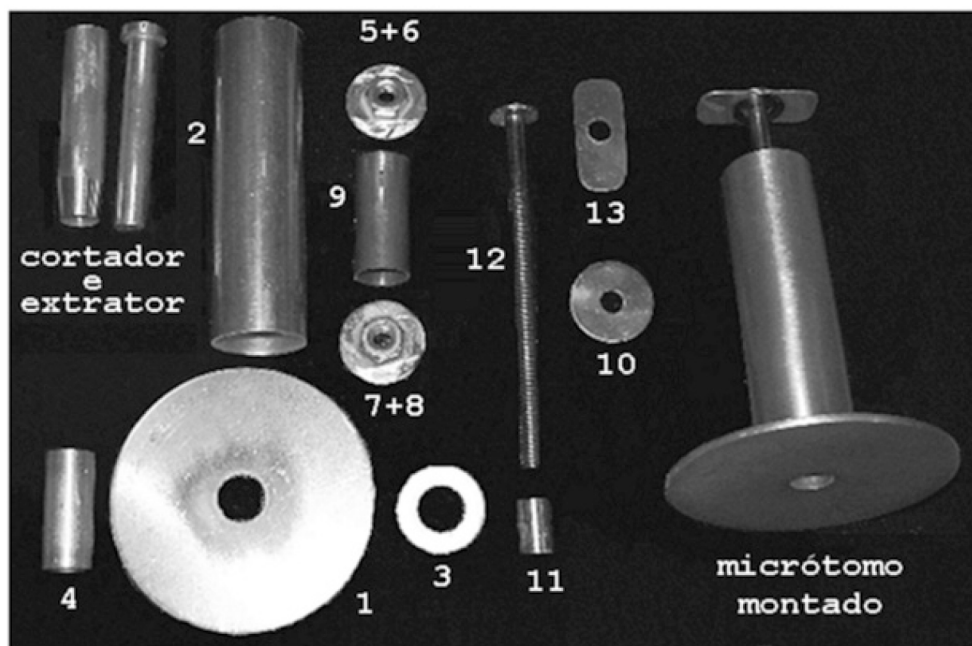


FIGURA 3: Peças do micrótopo (numeradas como nas figuras 1 e 2 e na descrição apresentada no texto). São mostrados ainda à esquerda o cortador de suportes e seu extrator correspondente, e à direita um aparelho completamente montado.

USO DO MICRÓTOMO

Uma descrição detalhada de todo o procedimento, incluindo o preparo das peças a serem seccionadas, é encontrado no artigo (a ser submetido brevemente à revista *Genética na Escola*) “Prática: Cortes a mão livre executados com o micrótomo de mão”, da autoria de Gisele Costa, Tássia Cristina dos Santos e Veronica Angyalossy,

do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, bem como nos guias de aula prática que acompanham o aparelho, seus acessórios e o material correspondente ao preparo das lâminas para observação ao microscópio de luz. A fotografia abaixo (figura 4) mostra o aparelho montado e seguro em posição pela mão esquerda (de um usuário dextrômano).



FIGURA 4: *O micrótomo em posição de uso, seguro no cabo pela mão esquerda do usuário.*

O objeto a ser seccionado deve ser colocado na cavidade central da platina, incluído em parafina (no caso de tecidos animais) ou (no caso de estruturas vegetais como folhas, caules e raízes) em cilindros de cortiça obtidos a partir de rolhas ou de tecido vegetal mais ou menos rígido (como os de cenouras). Os cilindros de tecido vegetal

mais ou menos rígido são obtidos por meio de cortadores com extremidade em bisel e também usinados em alumínio, fornecidos juntamente com o micrótomo.

A figura 5 mostra a estrutura dos cortadores e a obtenção dos cilindros; as peças a serem seccionadas são inseridas entre as duas metades do cilindro.

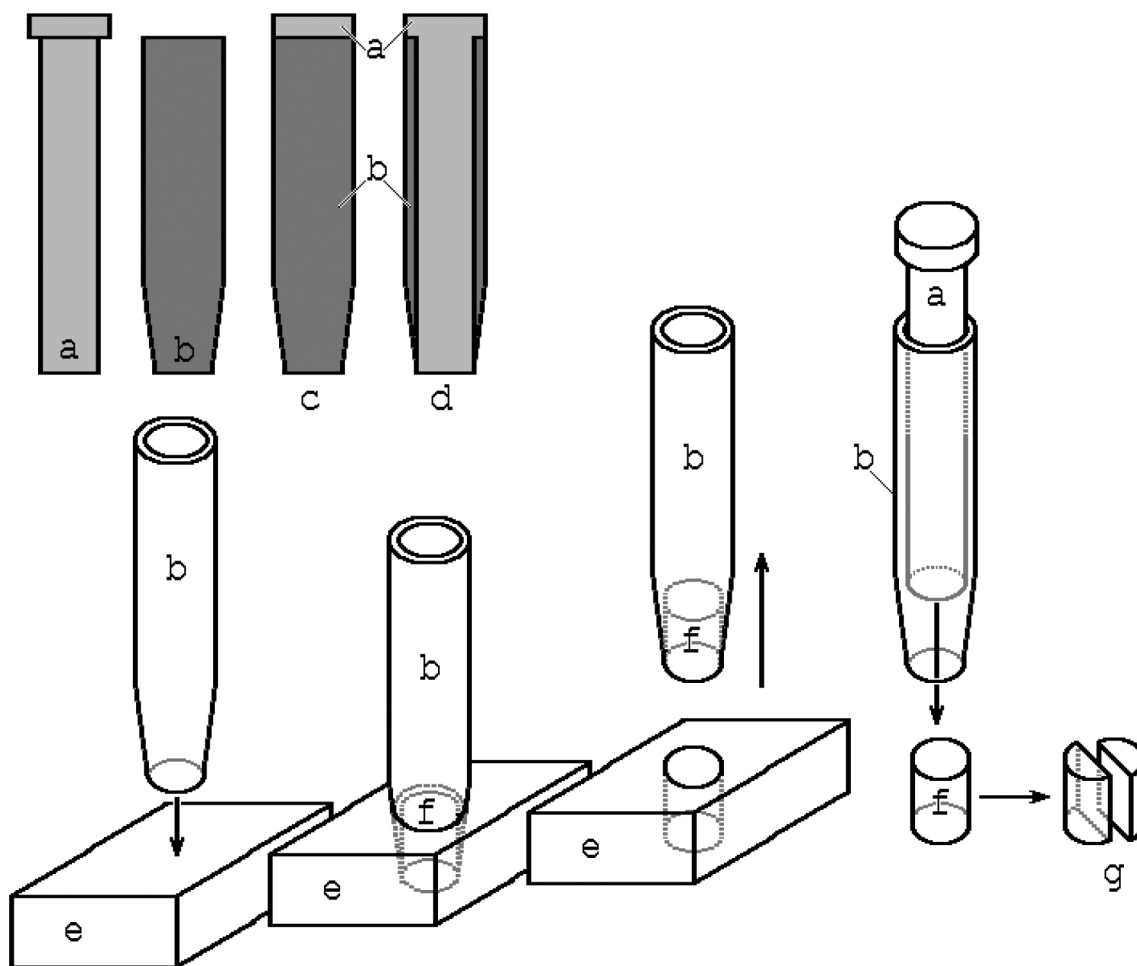


FIGURA 5: Na parte de cima do desenho, esquemas mostrando (da esquerda para a direita) (a) o extrator; (b) o tubo cortador e (c) o tubo cortador com o extrator em seu interior, em vista externa e (d) em corte longitudinal. A parte de baixo do desenho mostra a obtenção de um cilindro de tecido (f) de cenoura a partir de um pedaço do vegetal com cerca de 1 cm de espessura (e). A peça a ser seccionada pelo micrótomo (folha, caule ou raiz) será inserida entre as duas metades do cilindro, previamente separadas (g) por meio de uma lâmina afiada ou qualquer outro instrumento cortante.

As dimensões do tubo cortador (vazador) de alumínio são 58 mm (comprimento), 13 mm (diâmetro externo) e 1mm de espessura. Uma das extremidades do tubo é afunilada como mostrado na figura 4, com a finalidade de apresentar uma extremidade de corte com espessura minimizada. O afunilamento em bisel é obtido torneando-se a peça com a ferramenta de corte do torno avançando de maneira inclinada em relação ao eixo de rotação da peça (ou, alternativamente, avançando-se a ferramenta de maneira normal e inclinando-se o eixo de rotação do motor que gira a peça que está sendo trabalhada). O extrator é um cilindro sólido de alumínio com 60 mm de comprimento e 10mm de diâmetro; um anel com 12 mm de diâmetro externo, 10mm de diâmetro interno e 2 mm de espessura, colado ou soldado numa das extremidades do cilindro extrator faz com que este, introduzido no cortador, atinja exatamente o final da extremidade afunilada.

Obviamente as peças a serem usadas como suporte do material a ser seccionado podem ser obtidas manualmente, por meio de uma lâmina afiada. O importante é que o suporte mais a peça a ser seccionada fiquem incluídas no poço do micrótomo sem folgas, com a finalidade de se conseguirem cortes de boa qualidade.

A seção da peça incluída em parafina, cortiça ou tecido vegetal mais ou menos rígido (cenoura), devidamente já enclausurada no poço do micrótomo, com um mínimo de folga lateral, é realizada por uma metade de lâmina de barbear montada em um suporte apropriado (navalha com lâmina descartável), mostrado na figura 6 abaixo, usada nos salões de barbearia, de marca “Bonenberger”, e adquirida em lojas comerciais especializadas em material de cutelaria ou de barbearia). O preço unitário desses suportes é da ordem de R\$ 20,00.



FIGURA 6: *Suporte tipo navalha (porta-lâminas descartáveis) usado para fazer os cortes de tecido.*

A figura 7 mostra a execução de uma seção de amostra (folha de planta) incluída no cilindro (suporte) de cenoura.

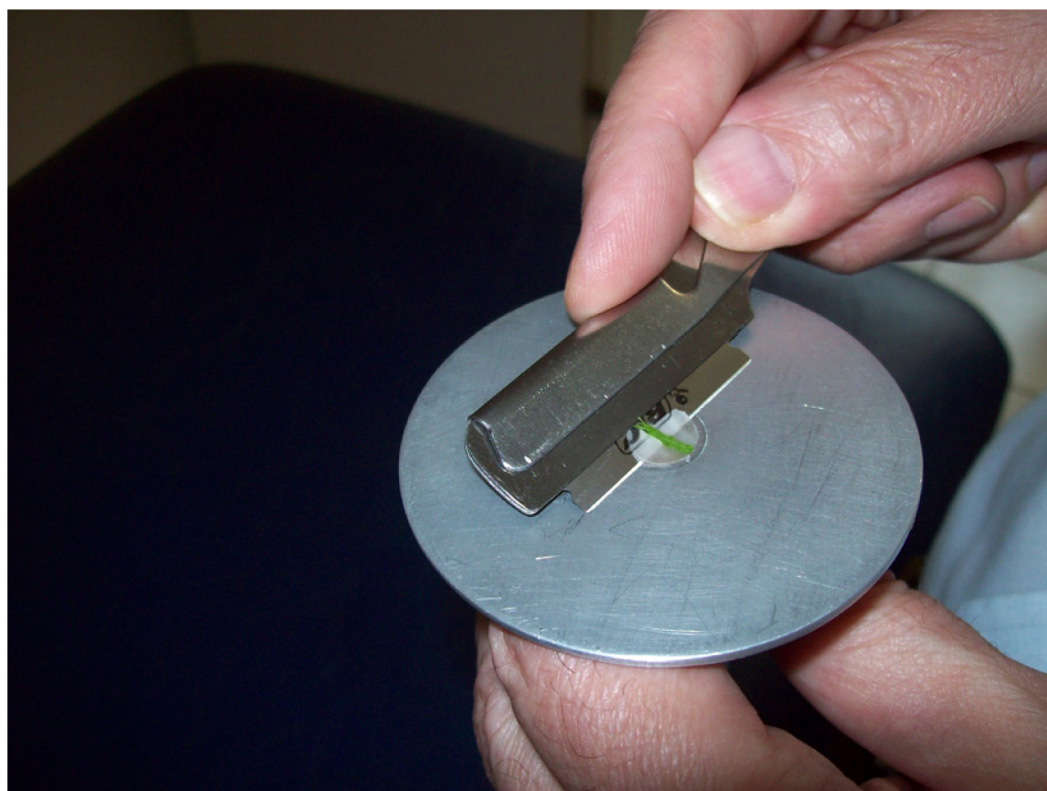


FIGURA 7: *Obtenção de um corte transversal de uma folha de planta incluída num cilindro de cenoura, mostrando a maneira correta de manusear o micrótomo e a navalha. Como se pode notar na fotografia acima, a lâmina que executa o corte desliza em posição quase horizontal, totalmente encostada na superfície da platina, devendo-se tomar especial cuidado para evitar que a lâmina (de aço) risque a platina (de alumínio).*

Os estojos (acessórios opcionais que no entanto são importantes para proteger os instrumentos e garantir-lhes uma vida útil longa) em que são guardados os micrótomos e alguns de seus acessórios podem ser feitos de

madeira ou plástico, encomendados de firmas especializadas. Os por nós utilizados (figura 8) saíram na base de R\$ 150,00 a unidade.

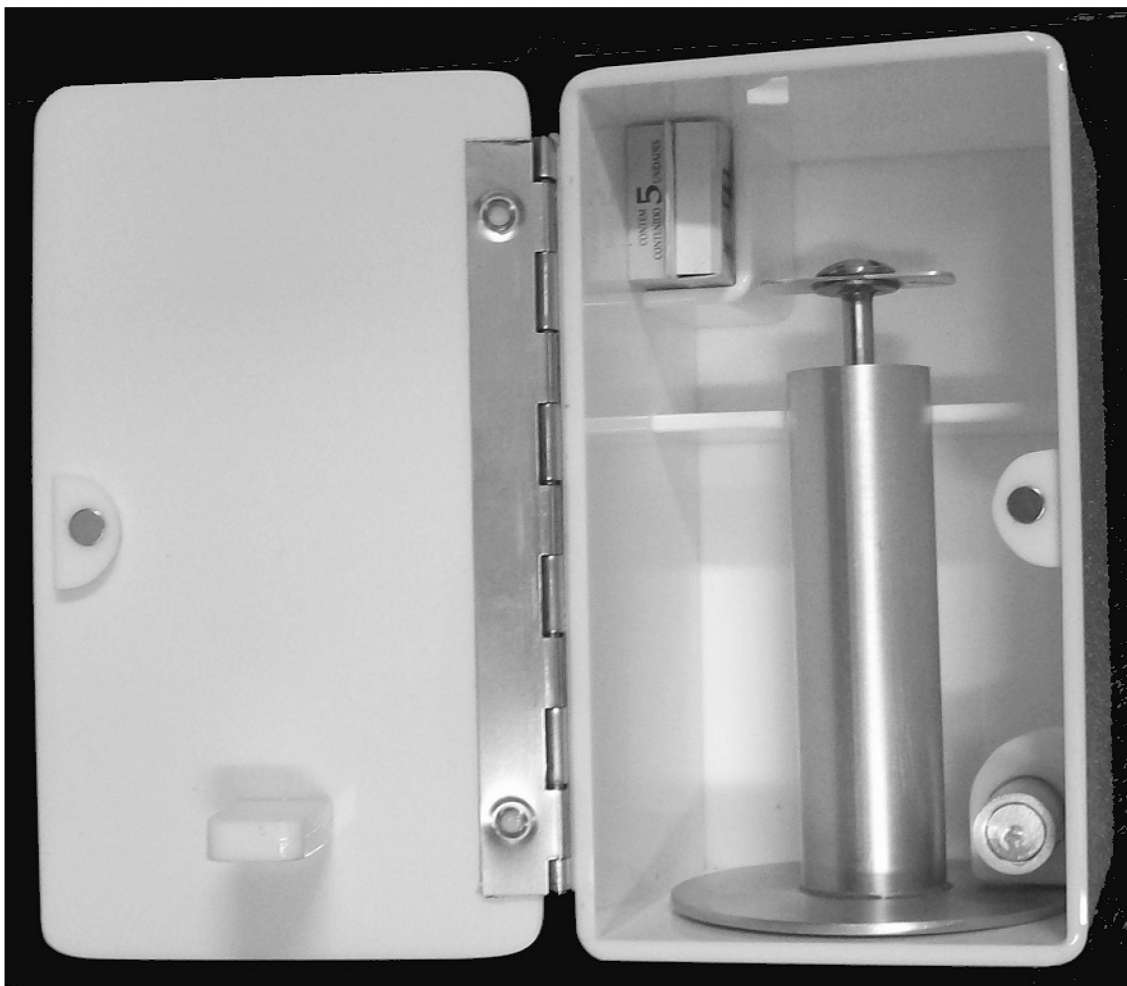


FIGURA 8: *Estojo para acomodar o micrótomo, o conjunto cortador-extrator e duas caixas de lâminas de barbear.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço às sugestões, correções e comentários da Dra. Eliana M. B. Dessen (Departamento de Genética e Biologia Evolutiva e Centro de Estudos do Genoma Hu-

mano, IB USP), da Dra. Veronica Angyalossy (Departamento de Botânica, IB USP) e dos demais colegas que acompanharam a construção do aparelho e a confecção do presente artigo. Agradeço às Srtas. Maraísa de Castro Sebastião e Magnólia Pretell Bocángel pelas fotografias.