

Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

## Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento

### Sub-unidad de Soporte al Diagnóstico

#### Servicio de Anatomía Patológica

### “Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN”



Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Equipo Técnico de la Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico	<ul style="list-style-type: none"><li>• Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento</li><li>• Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico</li><li>• Unidad de Gestión de la Calidad</li></ul>	<b>Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio</b>  Director del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja

Fecha: Octubre - 2019	Código: GP-007/INSN- SB/ USDYT-V.01	Página 1 de 14
-----------------------	-------------------------------------	----------------



Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional  
de Salud del Niño  
San Borja



Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT  
BIOTWIN

## Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

I. Título.....	3
II. Finalidad.....	3
III. Objetivos .....	3
a. Objetivo General .....	3
IV. Ámbito de aplicación.....	3
V. Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT .....	3
VI. Consideraciones Generales.....	3
a. Definiciones Operativas.....	3
1. Aspectos Epidemiológicos importantes.....	3
2. Consentimiento Informado.....	3
b. Conceptos Básicos.....	3
c. Requerimientos Básicos .....	4
VII. Consideraciones Específicas .....	4
a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento .....	4
VIII. Autores, fecha y lugar .....	14
IX. Bibliografía.....	14

## Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

### I. Título

Guía de Procedimiento para manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN.

### II. Finalidad

Brindar las pautas necesarias para garantizar un manejo adecuado del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN y así poder obtener imágenes apropiadas que coadyuven al diagnóstico anatomopatológico.

### III. Objetivos

#### a. Objetivo General

Proporcionar de forma ordenada, secuencial y detallada las operaciones que se deben aplicar en el manejo adecuado del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN.

### IV. Ámbito de aplicación

La presente guía de procedimiento es de aplicación a la práctica profesional del personal responsable(s) de la operatividad del microscopio electrónico de transmisión del servicio de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de salud del Niño San Borja.

### V. Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT

Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

### VI. Consideraciones Generales

#### a. Definiciones Operativas

##### 1. Aspectos Epidemiológicos importantes

No aplica

##### 2. Consentimiento Informado

No aplica

#### b. Conceptos Básicos

- Microscopio Electrónico de Transmisión

## Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

El microscopio electrónico de transmisión (MET) es un instrumento que aprovecha los fenómenos físico-atómicos que se producen cuando un haz de electrones suficientemente acelerado colisiona con una muestra delgada convenientemente preparada. Cuando los electrones colisionan con la muestra, en función de su grosor y del tipo de átomos que la forman, parte de ellos son dispersados selectivamente, es decir, hay una gradación entre los electrones que la atraviesan directamente y los que son totalmente desviados. Todos ellos son conducidos y modulados por unas lentes para formar una imagen final sobre un dispositivo de carga acoplada (CCD) que puede tener miles de aumentos con una definición inalcanzable para cualquier otro instrumento. La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que se corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes.

### c. Requerimientos Básicos

#### c.1. Equipos Biomédicos.

- Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

#### c.2. Equipo no médico.

- UPS
- Chiller

#### c.3. Materiales Médicos no Fungibles.

- Pinzas Tweezer self closing EMS (Referencia: 78319-4X y 78518-3C)

#### C4. Materiales Médicos Fungibles.

- Nitrógeno líquido
- Grillas de cobre 300 mesh
- Grillas de cobre con Fomvar

## VII. Consideraciones Específicas

### a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento

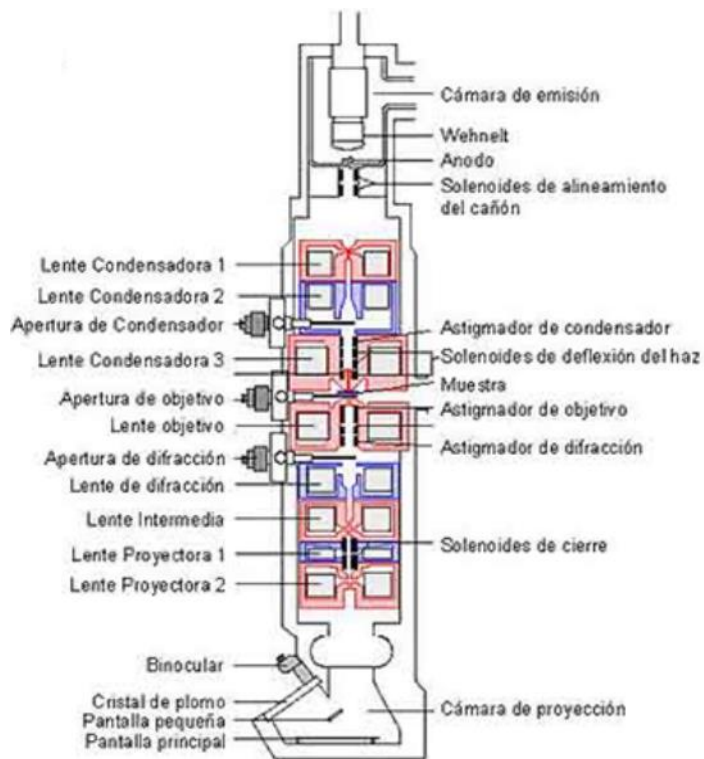
El Microscopio electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN consta de las siguientes partes:

#### a.1. Dos portamuestras:

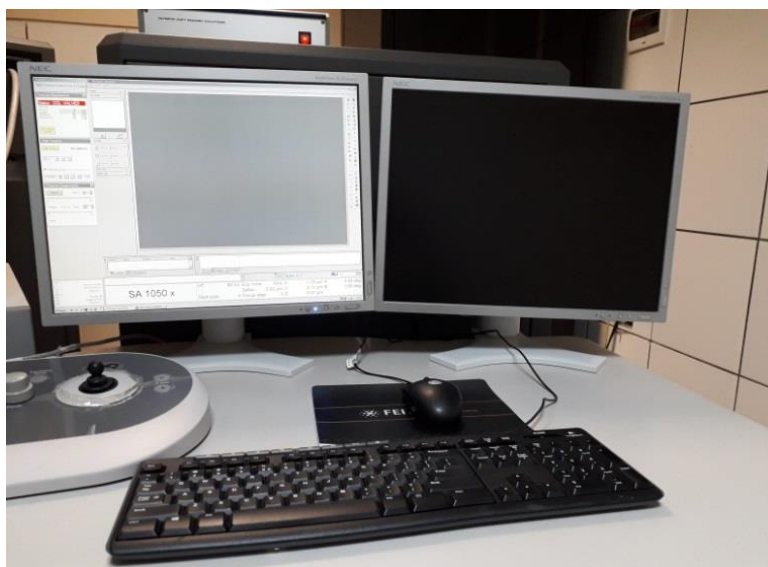


Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

**a.2. Columna de vacío:**

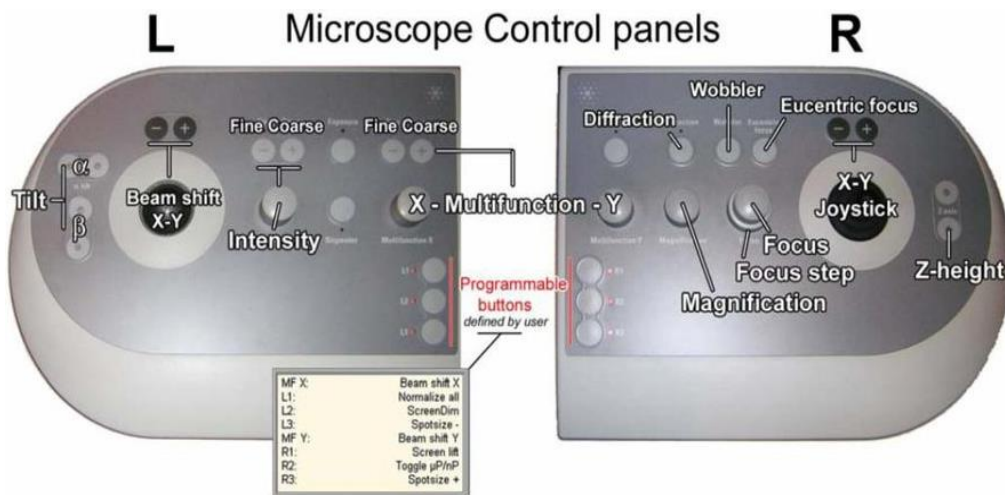


**a.3. Dos monitores con su respectivo CPU, un teclado y un mouse:**

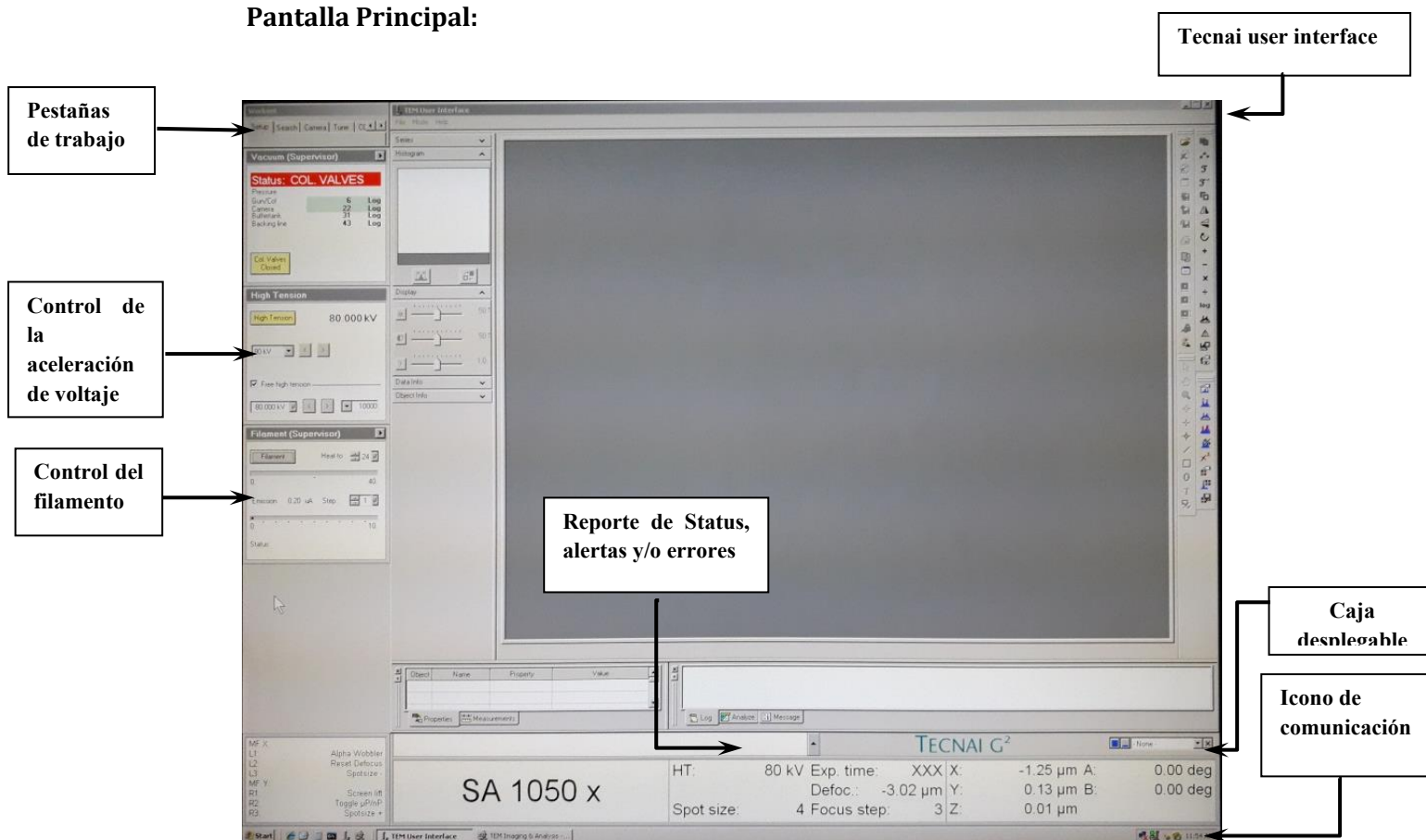


## Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

### a.4. Dos paneles de control



### Pantalla Principal:



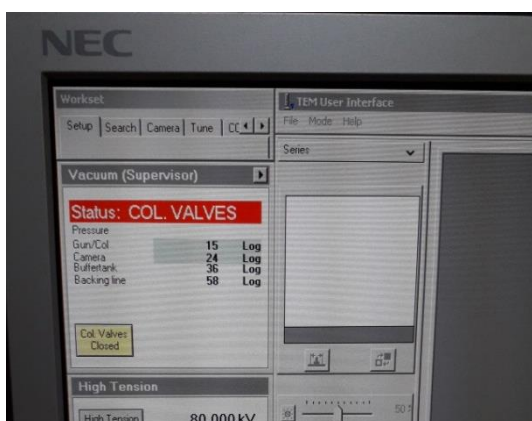


## Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

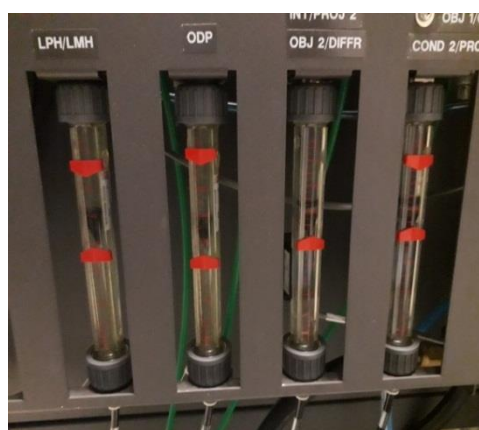
Antes de iniciar el encendido del MET se debe realizar la siguiente:

1. Revisión del estado del MET: Col valves
2. Revisión de los flujómetros: Debe indicar el nivel señalado por el proveedor
3. Abastecimiento de Nitrógeno líquido al termo criogénico del MET.

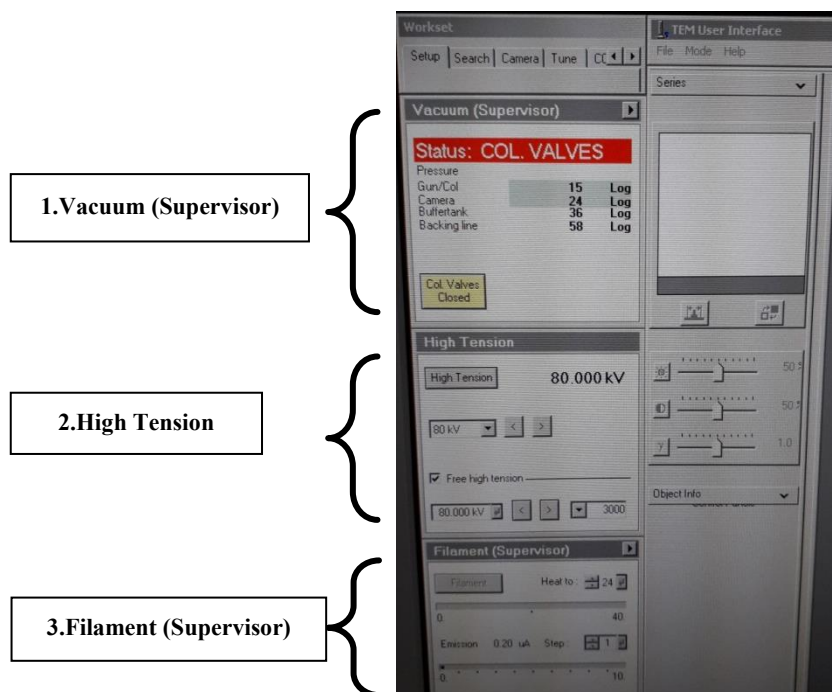
### Estado



### Flujómetros



En el programa TEM User Interface se aprecia al lado izquierdo de la pantalla principal la ventana Workset en la cual en Setup se visualizan tres zonas: Vacuum (Supervisor), High Tension y Filament (Supervisor).

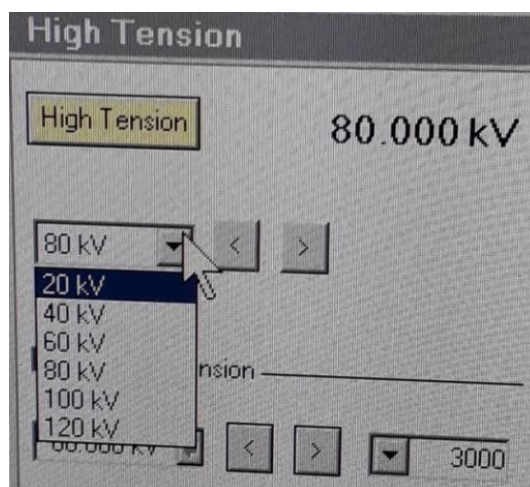


Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

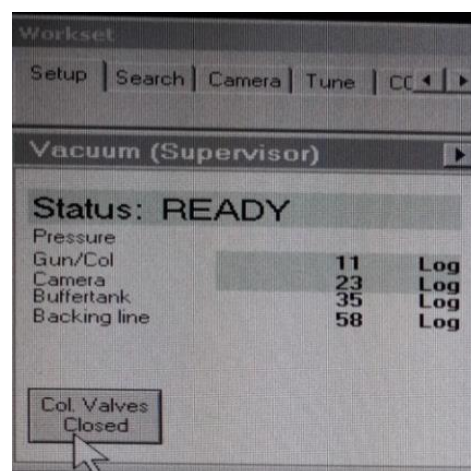
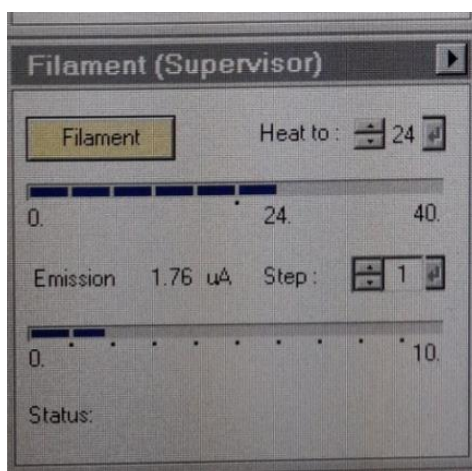
A. Encendido del MET

1. Elevación de la Tensión (High Tensión: HT).

- Verificar en la zona de Vacuum que el equipo se encuentre en Status: Col Valves (recuadro Col Valves Closed de color amarillo).
- En la zona de High Tensión desplegar la ventana de KV y seleccionar 20KV, después presionar el recuadro plomo de High Tension el cual cambiara a amarillo, High Tension seguidamente seleccionar 40KV y esperar unos minutos, continuar con 60kv y por ultimo con 80 KV.



2. Presionar en la zona de Filament (Supervisor) el recuadro plomo Filament, el cual cambiara a color amarillo: Filament una vez que alcance a 24 inmediatamente presionar el recuadro amarillo Col valves Closed de la zona de Vacuum el cual cambiara a plomo. El equipo queda en status: To Ready.



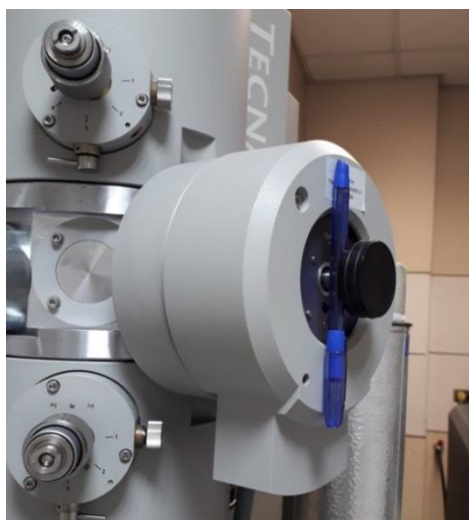


Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT  
BIOTWIN

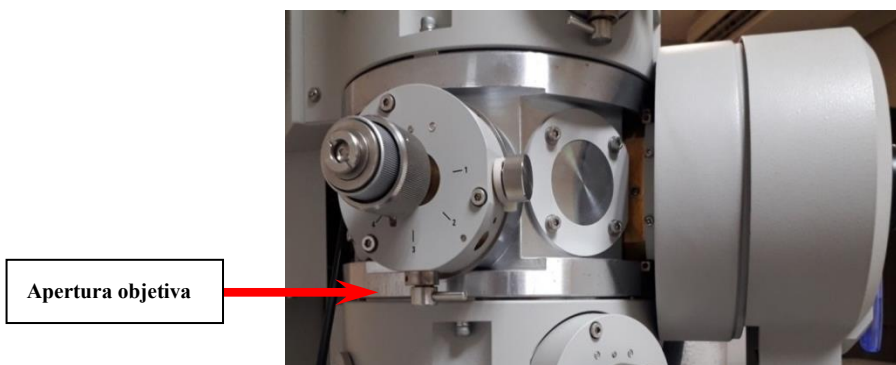
3. Disminuir la intensidad de la luz y las magnificaciones hasta observar el tejido en la pantalla fluorescente.



4. Alinear el haz.
  - Retirar parcialmente con ayuda de un lapicero la muestra a estudiar del Compustage.

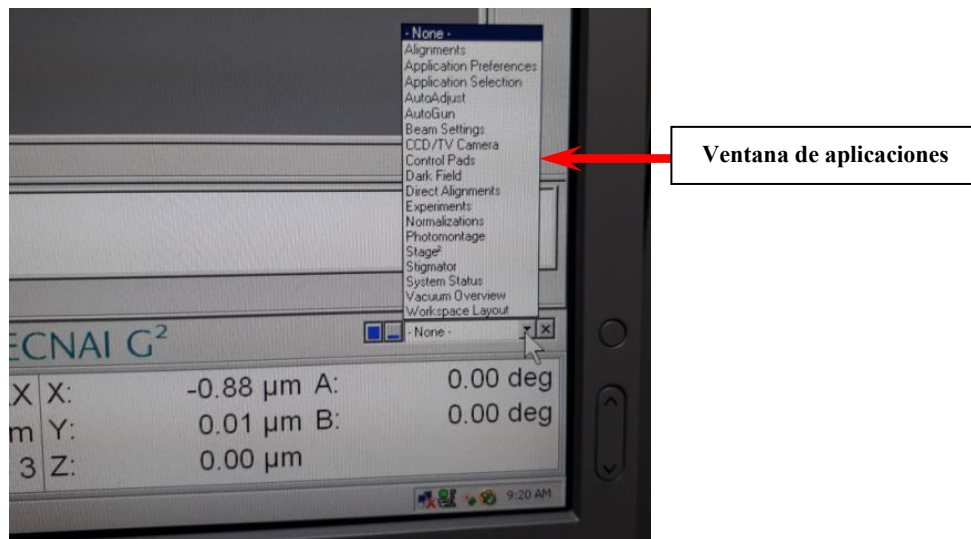


- Abrir la apertura objetiva y ubicar el haz de luz disminuyendo la magnificación.

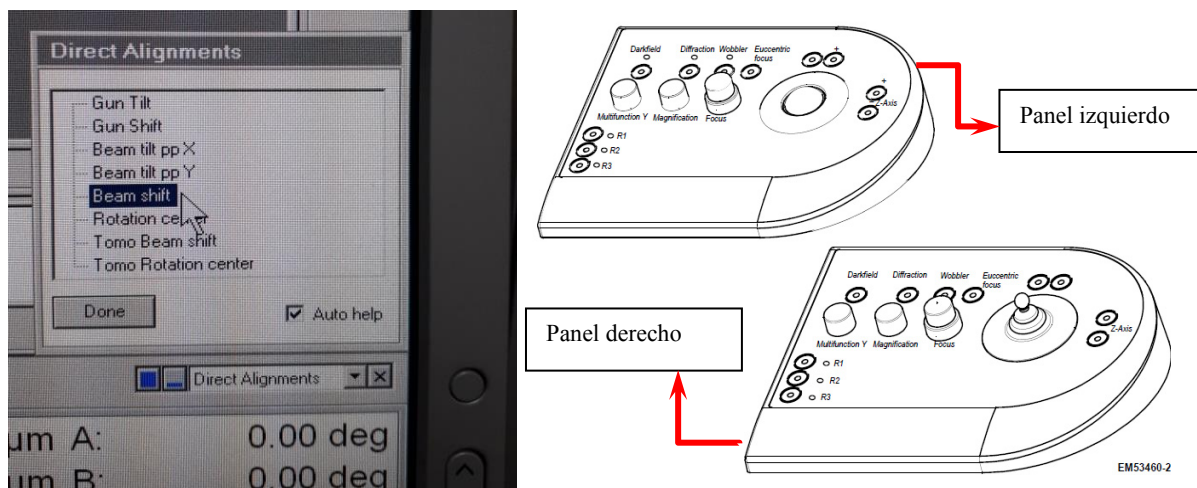


Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

- Elevar la magnificación hasta 6000 y realizar la alineación:
  - Desplegar la ventana del lado derecho de la pantalla y seleccionar Direct alignments:



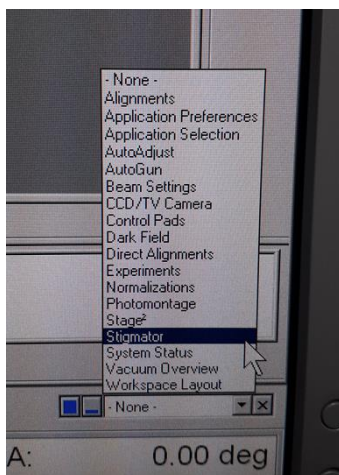
- Seleccionar Beam shift y con los multifocales X e Y de los paneles derecho e izquierdo, centrar el haz y presionar Done, después seleccionar Beam Tilt PPX y con los multifocales X e Y de los paneles evitar el movimiento del Haz, una vez terminado presionar Done, después seleccionar Beam Tilt PPY y con los multifocales X e Y evitar el movimiento del Haz, una vez terminado presionar Done, nuevamente seleccionar Beam shift y terminar de centrar el Haz.



Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

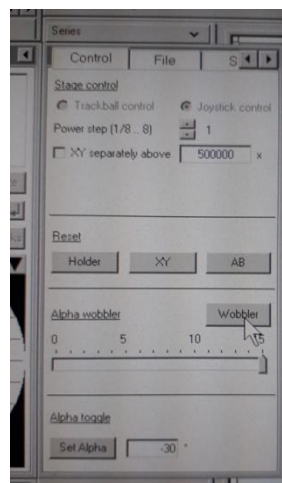
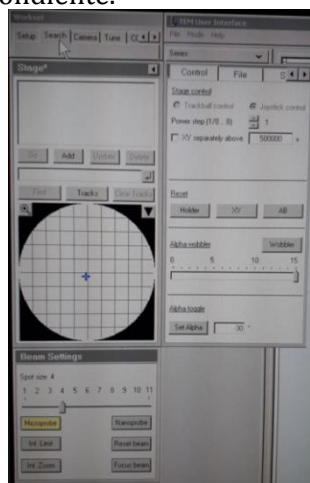
5. Si se observa que el haz de luz no es circular se debe realizar los ajustes con el condensador

- Desplegar la ventana del lado derecho y seleccionar Stigmator.



Stigmator

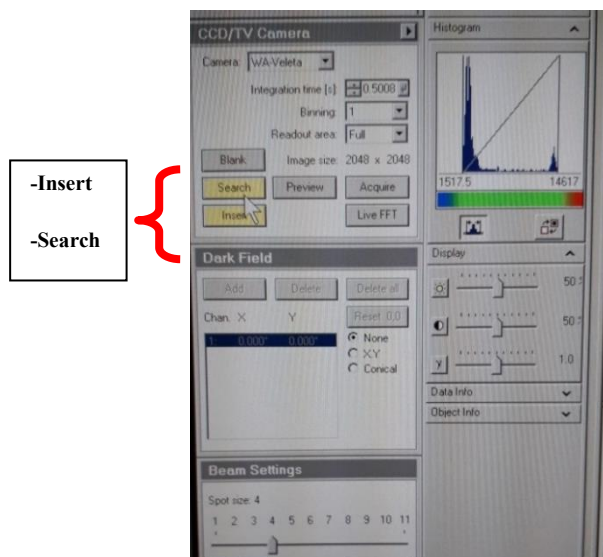
- Una vez desplegada la pantalla elegir Condenser, hacer click derecho y elegir la segunda opción con la finalidad de guardar información por si ocurre algún inconveniente. Continuar con los ajustes del haz empleando los multifocales X e Y de los paneles de control.
  - Una vez obtenido el haz circular, dar click en None.
6. Una vez alineado el haz y con el haz circular, cerrar la Apertura objetiva introducir la muestra.
  7. Disminuir la intensidad de la luz y la magnificación.
  8. Dirigirnos a la ventana de Search, desplegar la ventana del lado derecho y presionar Wobbler, para alcanzar la altura eucentrica (distancia focal de la muestra con el lente objetivo) y con los botones del panel derecho Z axis, regular la altura correspondiente.



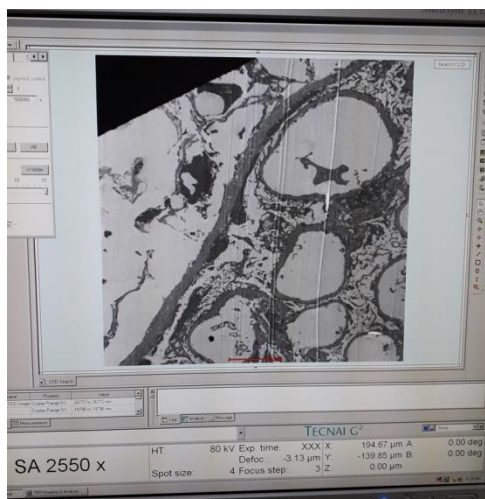
Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

B. Captura de imágenes

- En la ventana Camera del Worset, presionar Insert y Search los cuales cambiaran de plomo a color amarillo.



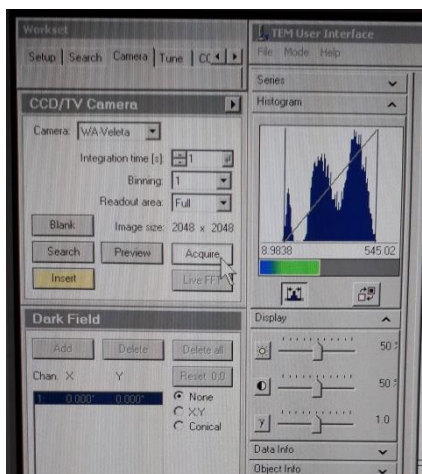
- En la pantalla del TIA se observara la imagen a evaluar y con el uso de la palanca de mando del panel derecho dirigirnros hacia la zona de interés, realizando las magnificaciones y el enfoque necesario.





Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT BIOTWIN

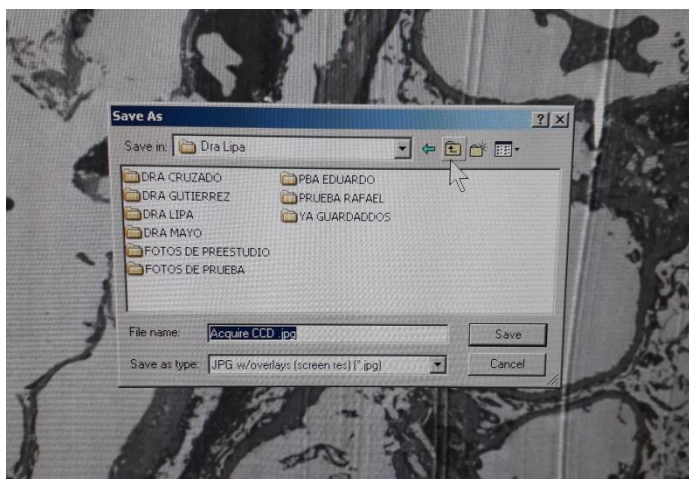
- Una vez ubicado el área de interés, presionar Acquire para capturar la imagen.



- Después presionar Search y ubicar otra zona de interés para capturar otra imagen, realizar el procedimiento las veces necesarias.

### C. Guardado de imágenes

- Sobre la fotografía hacer click derecho con el mouse, seleccionar Export data el cual desplegara una ventana donde seleccionar o crear el archivo sobre el que se guardarán las imágenes, por sugerencia del proveedor elegir en Save as type : JPG w/overlays y darle Save.



- Realizar el procedimiento las veces necesarias.



Guía de Procedimiento para Manejo del Microscopio Electrónico de Transmisión: FEI TECNAI G2 SPIRIT  
BIOTWIN

D. Estado de Cryocicleérmino de la jornada laboral retirar el thermo que contenía el nitrógeno líquido, dirigirnos a la pantalla principal en Vacuum (supervisor) y desplegar la pantalla de Cryo, seleccionar Cryocycle y apagar la pantalla del monitor.

**E. Consideraciones Especiales**

Durante el uso del Microscopio electrónico de Transmisión considerar lo siguiente;

- GUN COL: MENOR A 35
- SPOT SIZE: 4
- HT: 80KV
- FOCUS STEP: 3 A MENOS
- FILAMENT: 24

**VIII. Autores, fecha y lugar**

- Nombre de Autor:  
-Lic. Saby Natalia Fonseca Chávez  
[sfonseca@insnsb.gob.pe](mailto:sfonseca@insnsb.gob.pe)
- Fecha de elaboración y Lugar del Procedimiento.  
Octubre 2019, Instituto Nacional Del Niño San Borja/Servicio de Anatomía Patológica.
- Vigencia:  
2 años a partir de su aprobación con R.D.

**IX. Bibliografía**

1. MyScope – Focus/stigmation  
<https://myscope.training/legacy/tem/background/concepts/imagegeneration/stigmationfocus.php>
2. FEI TECNAI G2 F30 TWIN TEM  
Training Manual - Electron Microscopy Core Facility  
University of Missouri  
June 2013  
<http://emcfiles.missouri.edu/pdf/F30%20Lab%20Manual%20v1.pdf>
3. FEI Tecnai 12 (‘T12’) 120 kV TEM  
Simplified Operating Manual  
FEMR facility for Electron Microscopy Research  
July 2017  
[https://www.mcgill.ca/femr/files/femr/t12\\_operating\\_manual\\_06\\_12\\_2017\\_2.pdf](https://www.mcgill.ca/femr/files/femr/t12_operating_manual_06_12_2017_2.pdf)