

A petri dish containing a bacterial culture medium with numerous colonies of varying sizes and colors, including white, yellow, orange, and dark brown. A black rectangular box with a white border is overlaid on the center of the dish, containing text. The letter 'F' is visible on the right side of the dish.

Aula Prática

- Preparo de meio de cultivo
- Influência da temperatura no crescimento de microrganismos

F

PREPARO DE MEIO DE CULTIVO

PRECAUÇÕES DURANTE AS REPICAGENS

DESINFECÇÃO

- 1) Local de trabalho (balcão, câmara asséptica)
deve ser limpo com álcool 70 %
 - 2) Passar álcool nas mãos
 - 3) Trabalhar na zona estéril do bico de bunsen /
lâmparina
 - 4) Nunca abrir totalmente as placas de Petri
 - 5) Manter tubos de ensaio inclinados ($\pm 45^\circ$)
-

Exercício

BDA (Batata-Dextrose-Ágar)

- Caldo de batata ----- 100ml
(200g de batata/1L água)
- Dextrose (glicose) ----- 1,5g
- Ágar ----- 1,5g

- Colocar em Erlenmeyer e fechar com tampão de algodão
- Cobrir o bocal do Erlenmeyer com jornal e anotar o número do balcão e turma
- Colocar na autoclave para esterilizar
- Após esterilização, verter para 3 placas (em câmara asséptica)

***PARA AGILIZAR A AULA, UTILIZAREMOS BDA PRONTO USO, EM PÓ.**

Autoclave – equipamento para esterilização

➤ Calor Úmido Sob Pressão



Autoclave



Cesta interna da autoclave



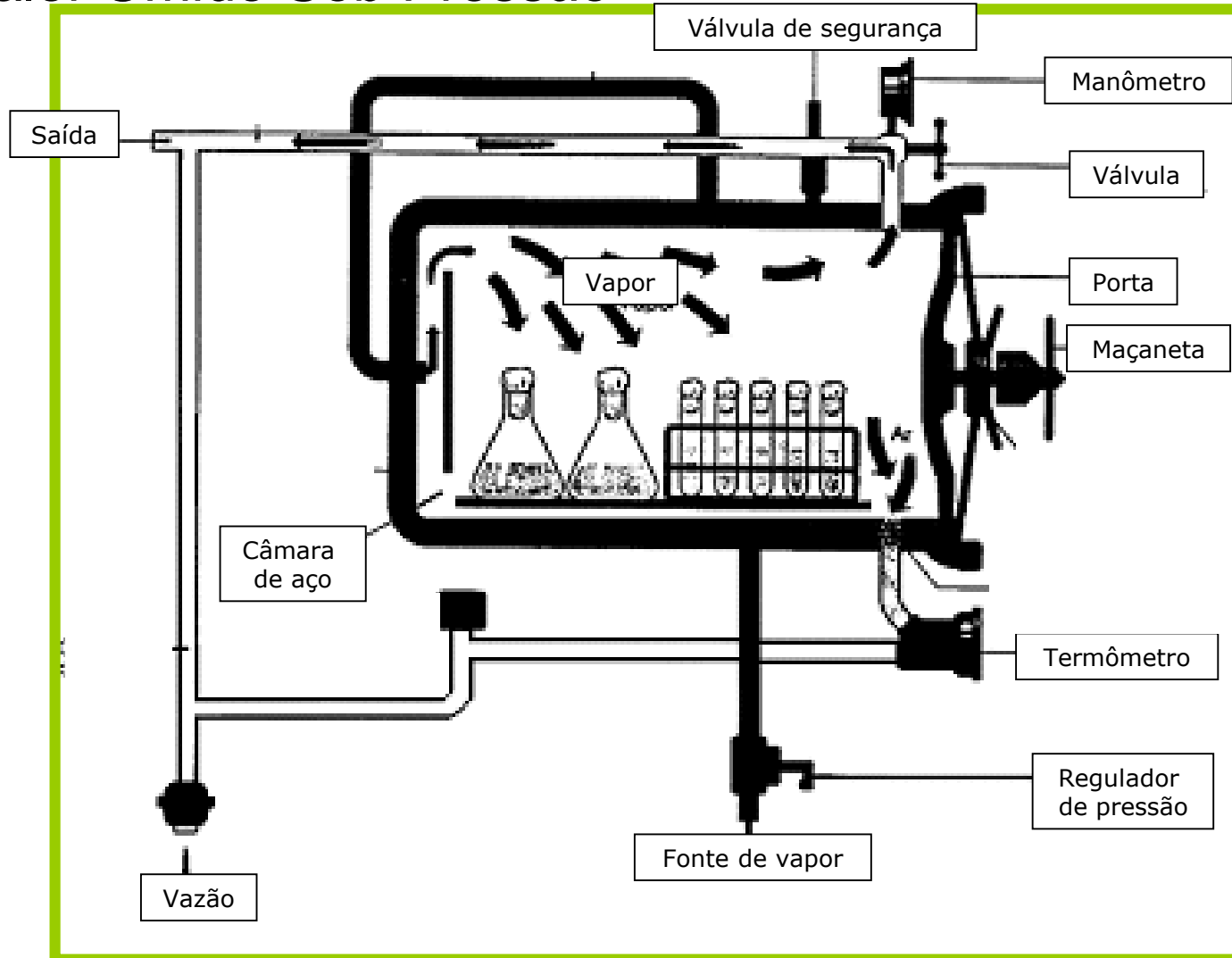
Válvula de exaustão e manômetro



Resistência coberta por água e suporte da cesta

Funcionamento da autoclave

➤ Calor Úmido Sob Pressão



1. Modelos de autoclaves

➤ Calor Úmido Sob Pressão



Câmara Asséptica ou Fluxo Laminar

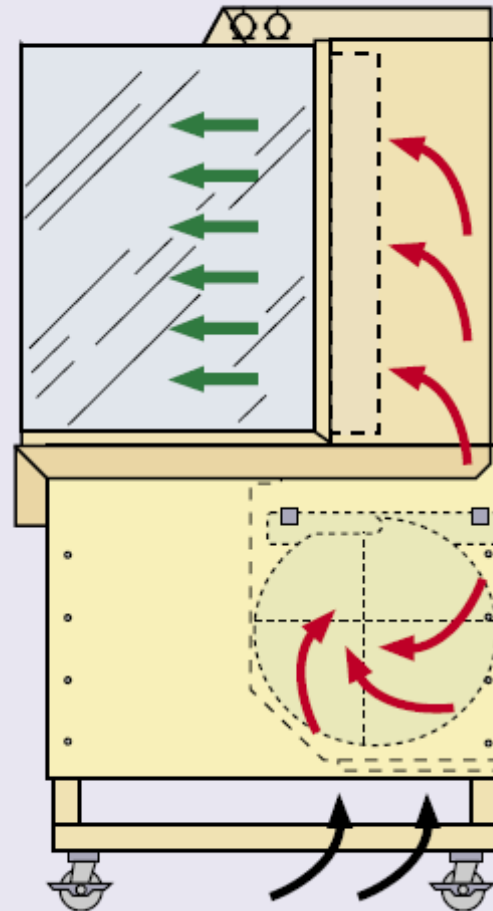


- Equipada com lâmpada germicida (Luz UV ~260nm)
 - Danifica moléculas de DNA, formando dímeros de pirimidinas
 - Pouca penetração (baixa energia)

Câmara Asséptica ou Fluxo Laminar

Funcionamento:

- ➔ Ar exterior contaminado
- ➔ Ar pré-filtrado
- ➔ Ar filtrado classe 100
(NBR 13700)



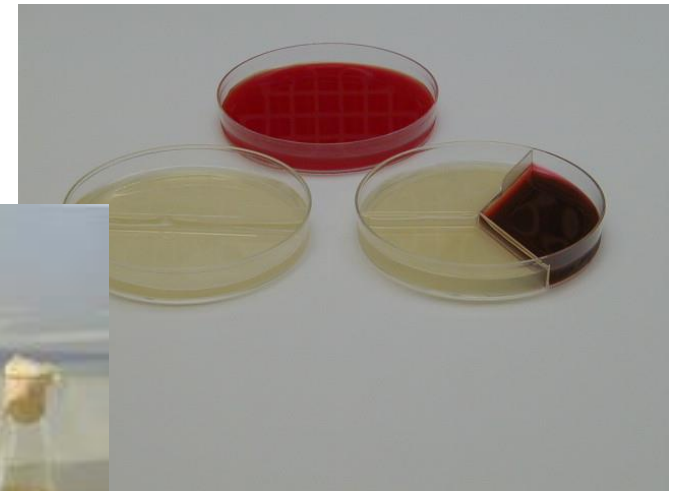
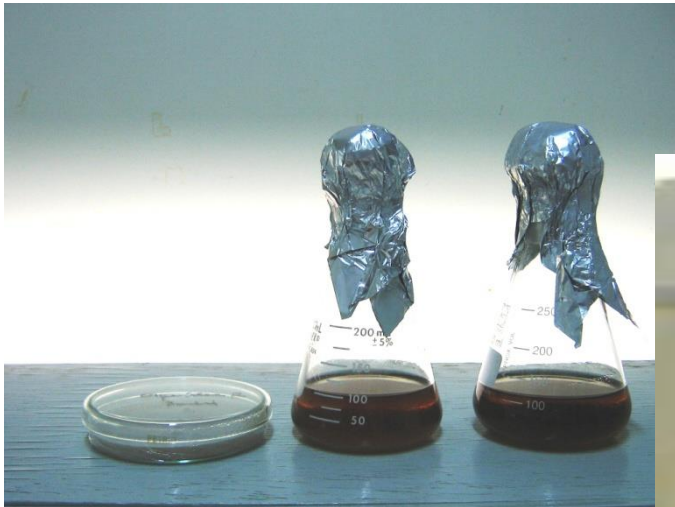
Câmara Asséptica ou Fluxo Laminar



Conceito

Meio de Cultivo:

- Preparado nutritivo que propicia condições para o desenvolvimento de microrganismos
- Utilizado no estudo de características morfológicas / fisiológicas dos microrganismos



Requerimentos para um meio adequado

- **Umidade**
- **Carbono**
- **Nitrogênio**
- **Minerais**
- **Vitaminas**
 - **pH**
 - **Oxigênio**
- **Estabilidade (esterilização)**

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

2. Quanto à composição

3. Quanto à seletividade

Classificação de Meios de Cultivo

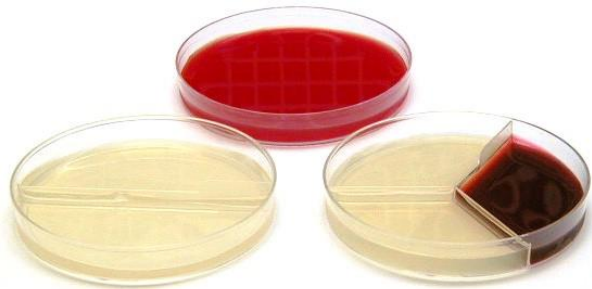
1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos (solidificados):



Ágar (agente solidificante)

- Difícil decomposição
- Polissacarídeo complexo
- Extraído de algas marinhas
- Ponto de fusão: 85 – 100°C
- Ponto de solidificação: 35 – 50°C
- 1 a 2 % no meio de cultivo

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos

2. Quanto à composição

- Meios complexos
- Meios semi-sintéticos
- Meios sintéticos

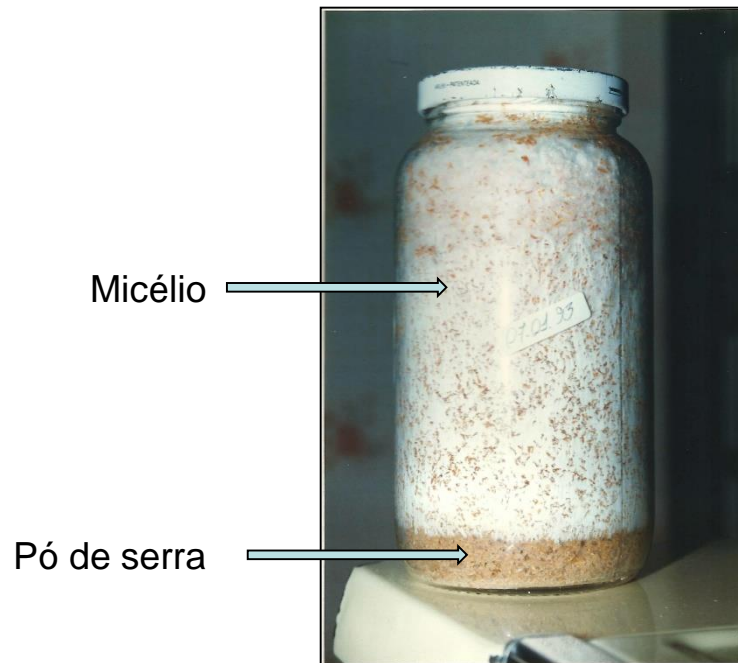
Classificação de Meios de Cultivo

2. Quanto à composição

- Meios complexos:

Composição química complexa e desconhecida

Ex.: Meio com sementes / pó de serra / etc



Produção de
inóculo de Shiitake
em meio com pó
de serra e farelo
de arroz

Classificação de Meios de Cultivo

2. Quanto à composição

- Meios complexos:

Composição química complexa e desconhecida

Ex.: Meio com sementes / pó de serra / etc

- Meios semi-sintéticos:

Composição química parcialmente conhecida

Ex.: Meio BDA (Batata – Dextrose – Ágar)

BDA

- Caldo de batata ----- 100ml

(200g de batata/1L água)

- Dextrose (glicose) ----- 1,5g

- Ágar ----- 1,5g

Classificação de Meios de Cultivo

2. Quanto à composição

- Meios sintéticos:

Composição química e concentração dos constituintes conhecida

Ex.: Meio de cultivo para *Escherichia coli*

- Glicose -----	15,0 g
- $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -----	1,0 g
- KCl -----	0,2 g
- MgSO_4 -----	0,2 g
- Ágar -----	10,0 g
- Água destilada -----	1000ml
- pH entre 6,8 – 7,8	

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos

2. Quanto à composição

- Meios complexos
- Meios semi-sintéticos
- Meios sintéticos

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos
- Meios seletivos
- Meios diferenciais

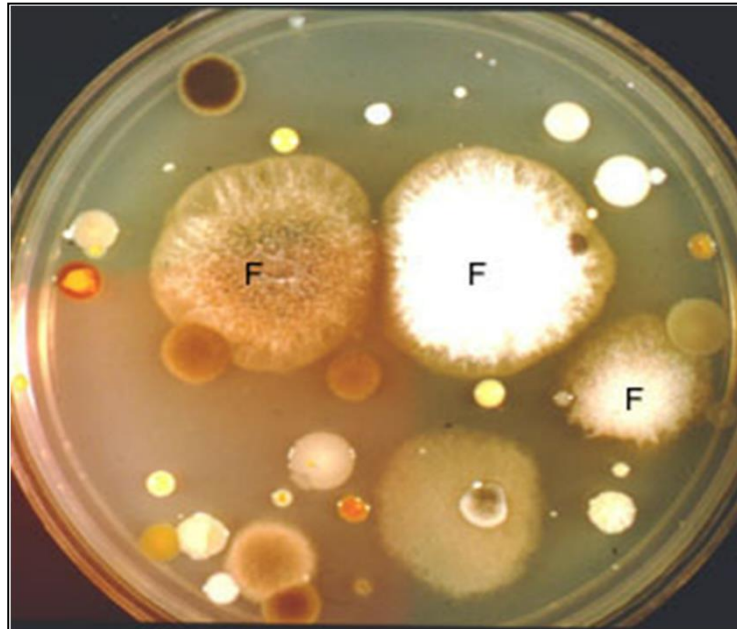
Classificação de Meios de Cultivo

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos:

Desenvolvimento de ampla gama de microrganismos

Ex.: BDA



Classificação de Meios de Cultivo

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos:

Desenvolvimento de ampla gama de microrganismos

Ex.: BDA

- Meios seletivos:

Desenvolvimento de determinado microrganismo

Ex.: Cristal violeta → impede crescimento de

bactérias Gram +

Meio Agar MacConkey



Classificação de Meios de Cultivo

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos:

Desenvolvimento de ampla gama de microrganismos

Ex.: BDA

- Meios seletivos:

Desenvolvimento de determinado microrganismo

Ex.: Cristal violeta → impede crescimento de
bactérias Gram +

- Meios diferenciais:

Coloca em evidência propriedades úteis à identificação

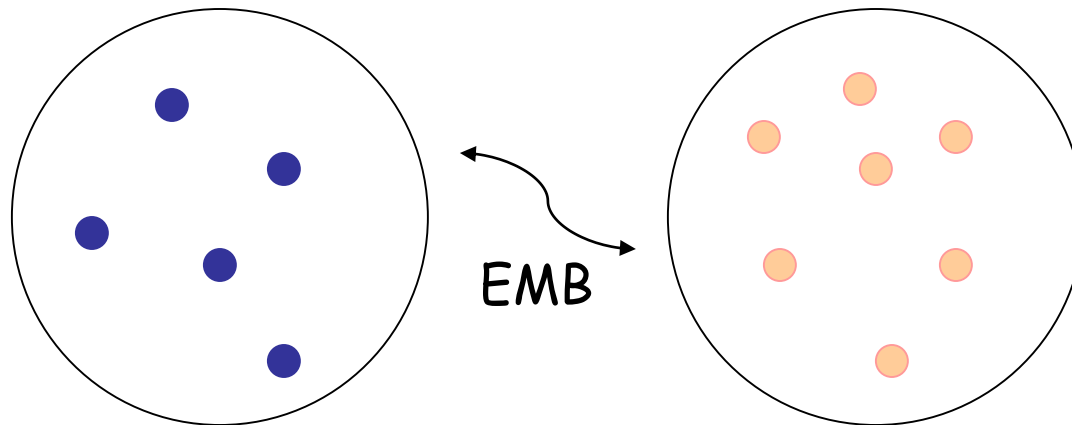
Ex.: Ágar – eosina – azul de metileno

E. coli → colônia pequena / negra

A. aerogenes → colônia grande / cinza escura

Meio Diferencial

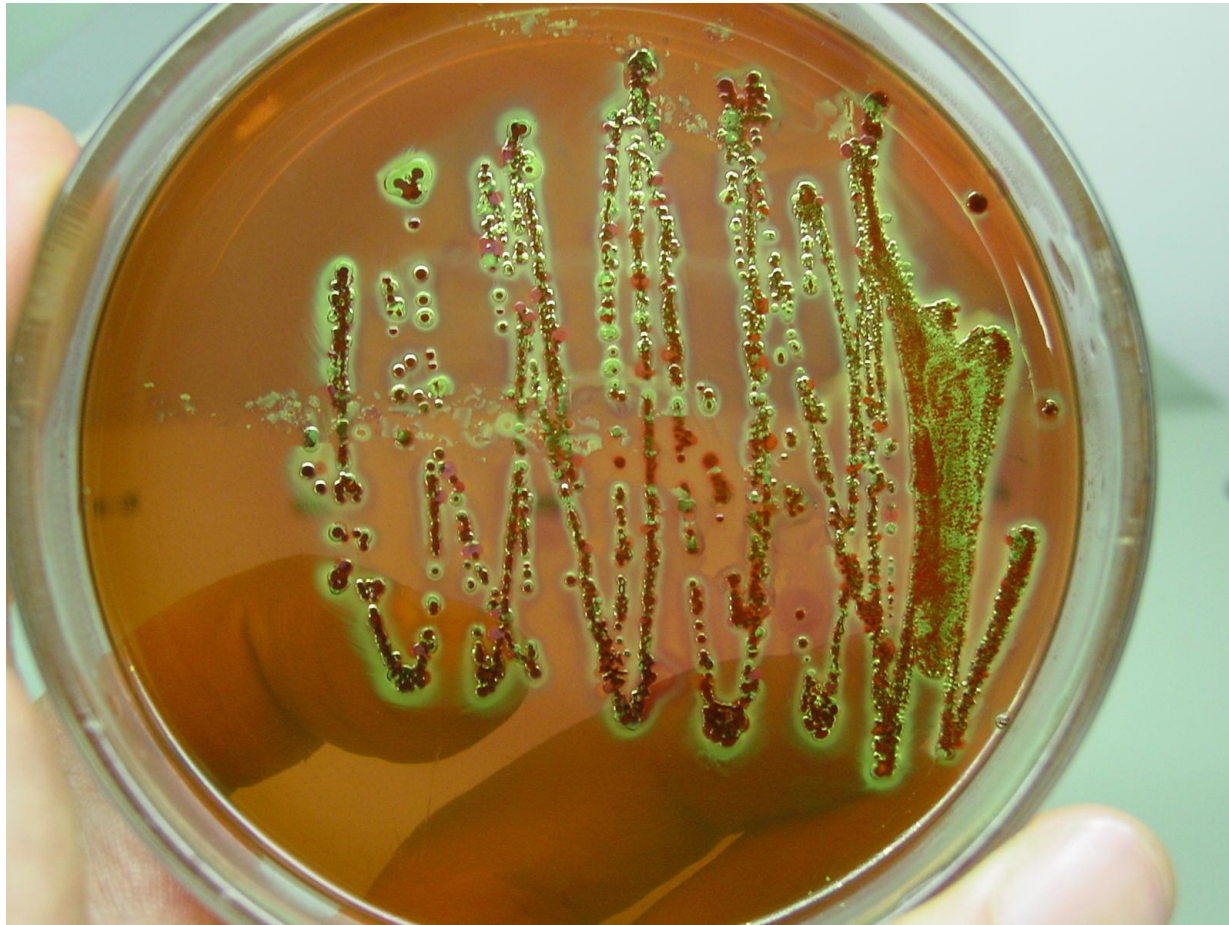
Meio **diferencial**: Eosina azul de metileno (EMB)



Escherichia coli

Aerobacter aerogenes

Meio diferencial: análise microbiológica da água (*E.coli* em meio EMB)



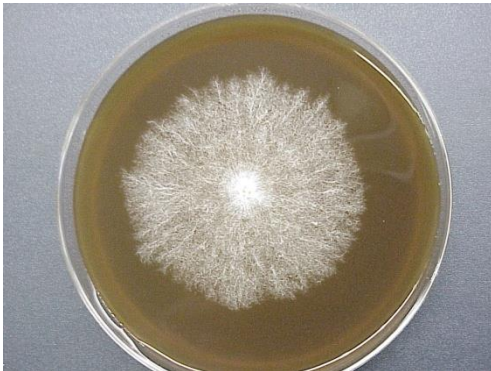
Crescimento

Bactérias

- Meio levemente alcalino / neutro (pH 7-8)
- Rico em proteínas



Fungos



- Meio ligeiramente ácido (pH 5-6)
- Rico em carboidratos