



MICROBIOLOGIA FUNDAMENTAL (ZMV 0368)

Prof^a. Dr^a. **Andreza M. Fernandes** (*in memoriam*)
Prof^a. Dra. **Ana Maria Centola Vidal** e Prof^a. Dra. **Lara Borges Keid**
Técnicas de laboratório: **Silvia H. S. de Godoy** e **Andréia C. N. Vaz**.

AULA PRÁTICA 1

Materiais, equipamentos, colheita e transporte de amostras, preparo de materiais para esterilização e estudo da contaminação do ambiente.

1. Introdução.

Para a realização de qualquer atividade do laboratório de microbiologia é essencial selecionar os materiais e utensílios adequados. Portanto, é necessário ter conhecimento de cada um deles e também suas funções e cuidados. Os materiais e utensílios utilizados no laboratório são necessários não só para isolamento e identificação dos microrganismos, mas também para os processos de esterilização, aferições de volumes, transferência e conservação de microrganismos.

2. Objetivos:

Essa aula visa explicar sobre colheita e transporte de amostras, apresentar os principais equipamentos, materiais e utensílios utilizados na rotina do laboratório de microbiologia, assim como demonstrar suas funções e colocar em prática alguns procedimentos comuns realizados em laboratório de microbiologia.

3. Colheita e transporte de amostras.

Amostras de alimentos acondicionados em embalagens individuais devem ser enviadas ao laboratório na sua embalagem original, fechada e intacta. O volume a ser enviado deve ser igual ou maior do 200g ou 200mL. Se a embalagem unitária for menor que a quantidade recomendada para o envio, recomenda-se coletar várias embalagens unitárias. No caso de alimentos contidos em embalagens grandes, deve-se coletar porções representativas da massa total em frascos estéreis, para tal o operador deverá utilizar roupas limpas, EPIs e estar com as mãos desinfetadas.

Estas amostras devem vir acompanhadas das seguintes informações: data e hora da colheita, empresa/marca, T°, motivo da colheita, data fabricação e validade, responsável pela colheita e condições da mesma no ponto de colheita. As amostras de produtos devem ser armazenadas em caixas apropriadas para transporte, respeitando a temperatura na qual o alimento esta conservado.

Equipamentos e materiais.

- **Microscópio óptico** (vamos aprender a manusear na 3ª aula prática);
- **Autoclave** (esterilização pelo calor úmido (vapor sob pressão - autoclave - 121°C por 15 minutos);
- **Contador de colônias:** serve para contar UFC (unidades formadoras de colônias);
- **Estufas bacteriológicas:** cultivo de microrganismos a temperaturas variadas;
- **Bico de Bunsen:** é utilizado como fonte de calor para vários procedimentos, ao trabalharmos na área de segurança ao redor da chama do bico de Bunsen, estamos garantindo que todo nosso procedimento seja feito em condições assépticas, ou seja, sem risco de contaminação por microrganismos do ambiente.
- **Erlenmeyers ou frascos com tampa;** usado para preparar, esterilizar meios de cultivos;
- **Bequer:** usado para diferentes fins, como realizar o preparo de soluções, meios, nunca usados para aferir volumes;
- **Provetas:** usadas para aferir volumes;
- **Tubos de ensaios:** usados para reações, testes bioquímicos, acondicionar, transportar, cultivar e acondicionar microrganismos;
- **Micropipetadores automáticos:** usados também para aferir volumes e para transferência de volumes, juntamente com ponteiros estéreis;
- **Placas de petri:** usadas para cultivos de microrganismos diversos, podendo ser descartável ou de vidro, além disso pode ter dimensões diferentes;
- **Alças e agulhas de platina;** usadas para inoculação ou semeadura de microrganismos;
- **Alça de Drigalski:** usada para espalhamento de amostras ou culturas, principalmente quando se pretende contar colônias;
- **Suabe ou Swab:** um enorme cotonete estéril, que pode ser usado para coleta, ou semeadura e transferência de microrganismos;

- **Boneca de algodão:** usada para tampar frascos, com o intuito de conservar e proteger os meios de cultura após a esterilização;
- **Fita adesiva:** para embalar/lacrar os materiais que serão submetidos a esterilização;
- **Fita de esterilização:** usada para indicar se o material foi submetido a esterilização;
- **Papel Kraft:** usado para embalar o material;
- **Plástico termoresistente:** usado também para embalar materiais;
- **Prendedor de madeira:** usado para coloração de lâminas de vidro;
- **Lâmina:** é utilizada para fixar e corar bactérias, possuem tamanho retangular e é de vidro;
- **Lamínula:** é uma versão reduzida da lâmina, utilizada para cobrir a lâmina, ela serve como uma barreira entre a lente do microscópio e o material biológico que deve ser analisado, protegendo dessa forma a ambos.
- **Pinças de metal:** usadas para diferentes propósitos, mas principalmente para a realização de testes bioquímicos e antibiogramas.

4. Procedimento 1 – Preparo de material para esterilização

Embalar 01 caixa com ponteiros e embalar 02 alças de Drigalski, utilizar papel Kraft e fitas adesivas.

5. Procedimento 2 – Estudo da contaminação do ambiente

- 5.1. Identificar uma placa contendo ágar Sabouraud, anotando o nome do Grupo, Data e escreva **AR**. Abrir a placa longe do bico de Bunsen e deixa-la exposta por 15 minutos, ao término do tempo, feche a placa.
- 5.2. Identificar uma placa contendo ágar Sabouraud, anotando o nome do Grupo, Data e escreva **CABELO**. Acender o bico de Bunsen, abrir a placa perto do fogo e, com cuidado, colocar um fio de cabelo de um dos integrantes do grupo dentro da placa, encostado no Agar e fechar a placa.
- 5.3. Identificar uma placa contendo ágar PCA (Plate Count Agar), anotando o nome do Grupo, Data e escreva **SWAB**. Ainda com o bico de Bunsen acesso, pegar o swab, abrir pela haste, umedecer o swab

(algodão) na solução salina estéril, retirar o excesso, apertando contra as laterais, esfregar o swab na superfície escolhida. Volte perto do bico de Bunsen, abra a placa e passe suavemente o swab na superfície do Agar, feche a placa.

As placas de Agar Sabouraud serão incubadas a 25°C e as placas de Agar PCA em estufa bacteriológica a 37°C.

Desligar o bico de Bunsen e guardar todo o material na bandeja.

LAVAR BEM AS MÃOS!