



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena -EEL

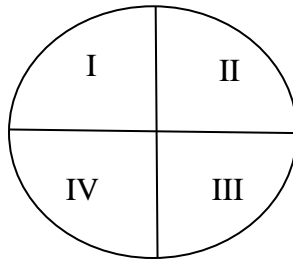
Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050

AÇÃO DOS PRODUTOS QUÍMICOS NO CONTROLE DO CRESCIMENTO BACTERIANO: MÉTODO DE DIFUSÃO DE DISCO EM PLACA

1- PROCEDIMENTO

Para realização do teste com células bacterianas crescidas em placas com meio Agar Triptona-NaCl, seguir o procedimento abaixo:

1. Seccionar a parte inferior das placas de Petri em 4 divisões e identifica-las:
I – hipoclorito de sódio
II – gluteraldeído
III – antisséptico bucal
IV – peróxido de hidrogênio



2. Em ambiente estéril, mergulhar um cotonete estéril (*swab*) nos tubos de ensaio com as culturas de bactérias.
3. Retirar o excesso de meio de cultura, apertando delicadamente o algodão do cotonete contra a parede interna do tubo de ensaio;
4. Esfregar o cotonete em toda a superfície do meio (*overlay*). Repetir esse procedimento três vezes, girando a placa em um ângulo de 60° entre cada repetição;
5. Deixar a cultura secar por 10 minutos à temperatura ambiente;



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Engenharia de Lorena -EEL

Departamento de Biotecnologia
Disciplina Microbiologia Experimental - LOT 2050

6. Com auxílio de uma pinça previamente flambada, transferir sob condição asséptica os discos de papel na placa (ATENÇÃO: Cuidado para não danificar o Agar);
7. Com a pipeta aplique o volume de 50uL da substância química no centro de cada papel de disco;
8. Incubar na estufa as placas por 24 horas a 37⁰C, na posição invertida;
9. Avaliar o crescimento nas placas, procurando identificar as áreas de inibição em torno dos discos de papel;
10. Medir com uma régua ou paquímetro o diâmetro (em milímetros) do halo de inibição.

RESULTADOS: Anotar os resultados na tabela a seguir:

Agente químico	Diâmetro dos halos (mm)	
	Microrganismo 1	Microrganismo 2