

Meio de Cultivo e Esterilização



Departamento de Fitopatologia e
Nematologia – ESALQ/USP

Exercício

BDA (Batata-Dextrose-Ágar)

- Batata -----200 g/L
- Dextrose (glicose) ----- 20 g/L
- Ágar ----- 15 g/L

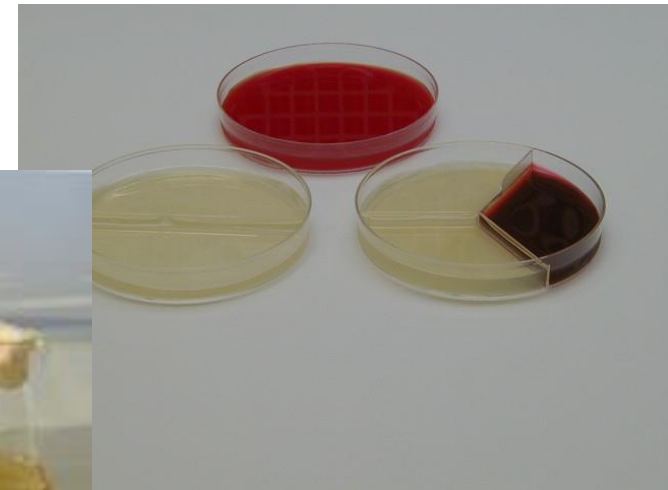
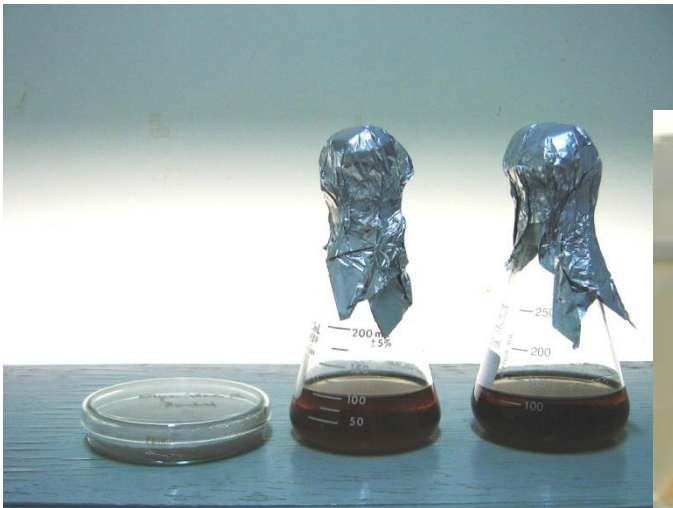
meio complexo e
não seletivo

- Pesar 1,2 g de BDA
- Colocar em Erlenmeyer (30 mL H₂O) e fechar com tampão de algodão
- Cobrir o bocal do Erlenmeyer com jornal/papel e anotar o número do balcão e turma
- Colocar na autoclave para esterilizar
- Após esterilização, verter em 2 placas/bancada (câmara asséptica ou bancada)

Conceito

Meio de Cultura:

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



Requerimentos para um meio adequado

- H_2O
- Carbono
- Nitrogênio
- Minerais
- Vitaminas
- pH
- Oxigênio
- Estéril

Crescimento

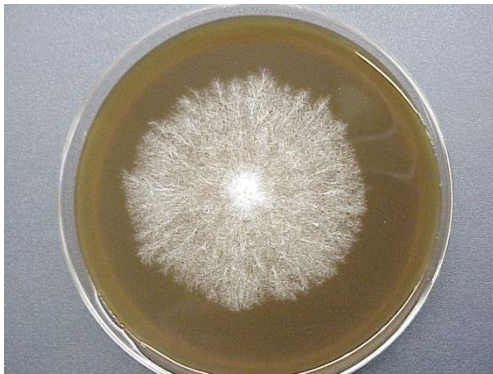
Bactérias

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



Fungos

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



Classificação de Meios de Cultura

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos

2. Quanto à composição

- Meios complexos
- Meios sintéticos

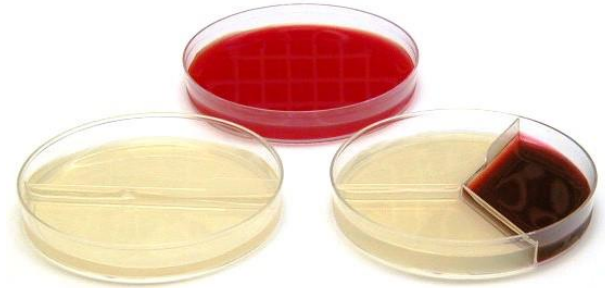
3. Quanto à seletividade

- Meios seletivos
- Meios não seletivos
- Meios diferenciais

Classificação de Meios de Cultura

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 cultura



Classificação de Meios de Cultura

2. Quanto à composição

- **Meios complexos:**

Composição química complexa e desconhecida

Ex.: Meio com sementes, BDA

BDA (Batata-Dextrose-Ágar)

- Batata -----200 g/L
- Dextrose (glicose) ----- 20 g/L
- Ágar ----- 15 g/L

Classificação de Meios de Cultura

2. Quanto à composição

- **Meios sintéticos:**

Composição química e concentração dos constituintes conhecida

Ex.: Meio de cultivo para *E. 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 Cultura

3. Quanto à seletividade

- **Meios não seletivos:**

Desenvolvimento de ampla gama de microrganismos

Ex.: BDA, NA (nutriente ágar)

- **Meios seletivos:**

Desenvolvimento de determinado microrganismo

Ex.: Cristal violeta (impede crescimento bactérias Gram +)

- **Meios diferenciais:**

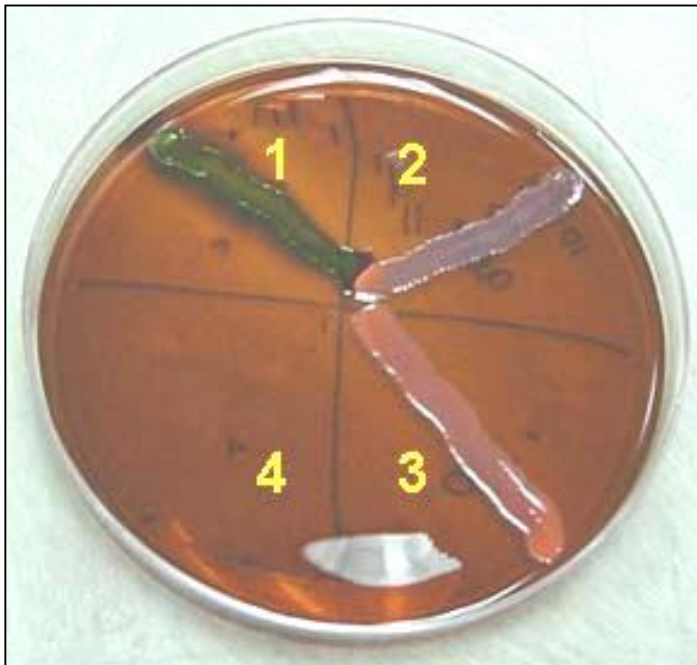
Coloca em evidência propriedades úteis à identificação

Ex.: Ágar – eosina – azul de metileno

E. coli → colônia com brilho verde metálico

A. aerogenes → colônia rosada

Meio Diferencial



Quadrante 1: Crescimento de *Escherichia coli* (**Gram-negativa**) em meio eosina-azul de metileno. Observar a coloração verde metálica.

Quadrante 3: Crescimento de *Aerobacter aerogenes* (**Gram-negativa**). Observar a coloração rosa.

Conceitos

Esterilização:

- Processo pelo qual se visa eliminar (remoção/morte) todos os microrganismos de um material / meio.
- O processo de esterilização pode ser:
 - Físico
 - Químico
 - Físico-químico

Assepsia:

- Conjunto de processos (técnicas) utilizados para impedir a entrada de microrganismos em local que não os contenha.

1. Esterilização pelo calor úmido (físico)

➤ Calor Úmido Sob Pressão

Autoclavagem = calor + pressão



Autoclave



Cesta interna da autoclave



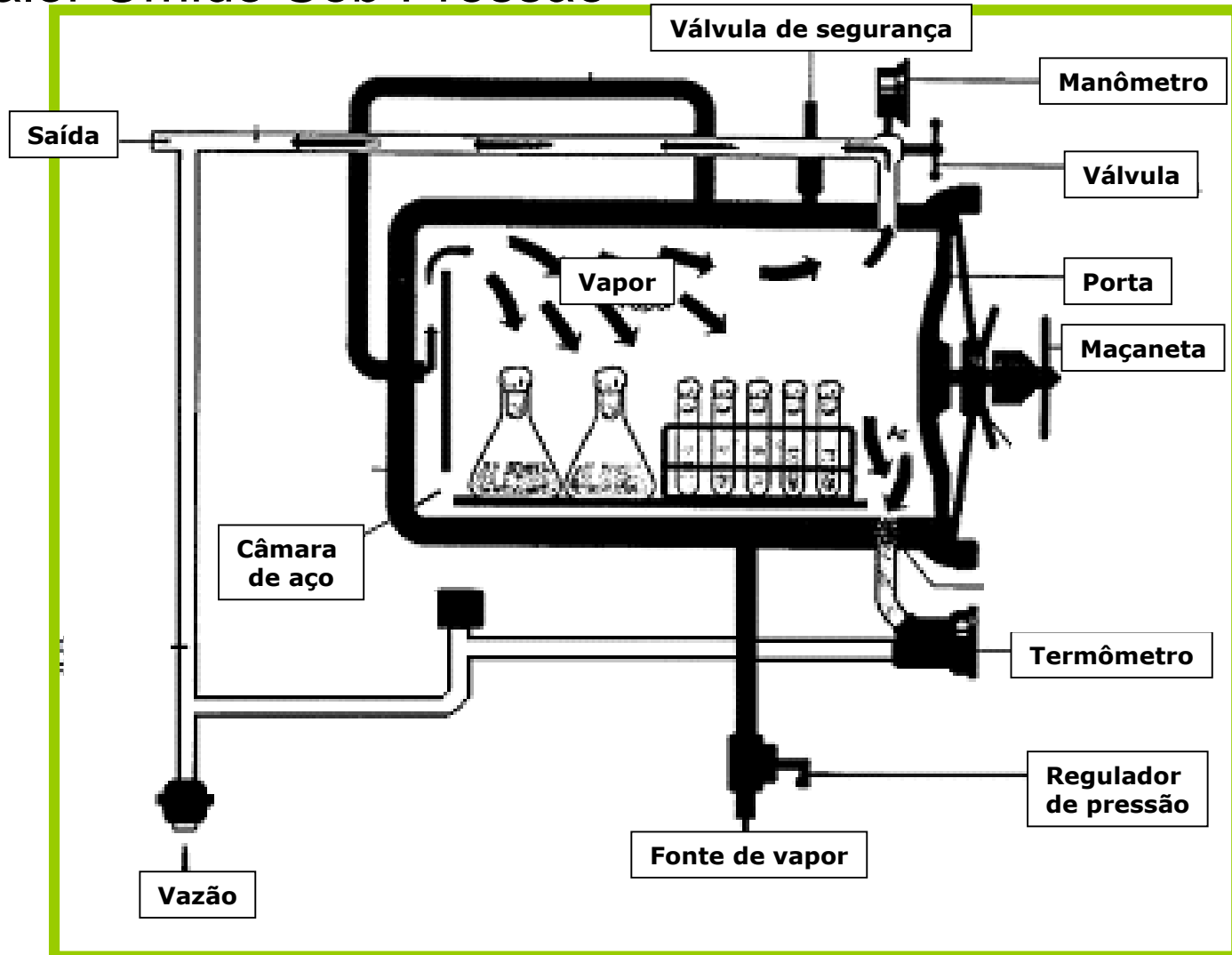
Válvula de exaustão e manômetro



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

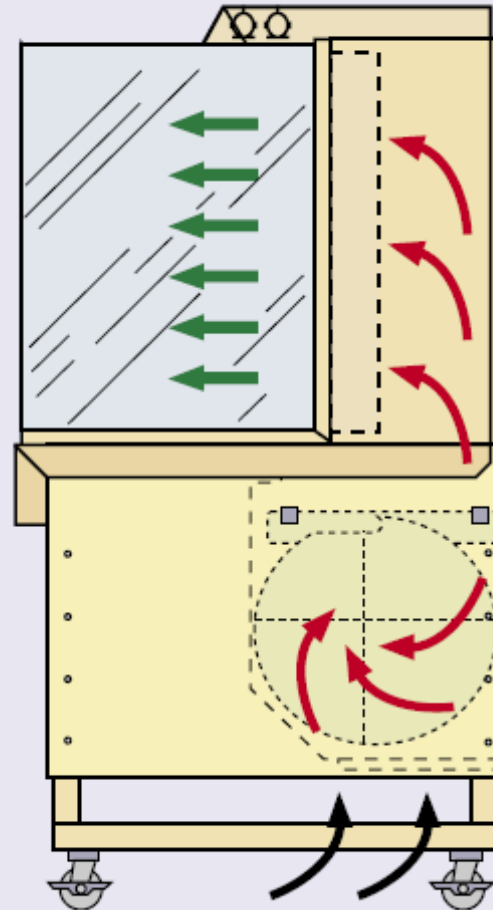


- Equipada com lâmpada germicida (Luz UV ~260nm)
 - Danifica moléculas de DNA, formando dímeros de pirimidinas
 - Pouca penetração (baixa energia)

Câmara Asséptica ou Fluxo Laminar

Funcionamento:

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



Câmara Asséptica ou Fluxo Laminar

