

PREPARAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA

1.INTRODUÇÃO

Para o cultivo e identificação de microrganismos, usam-se soluções e substâncias nutritivas chamadas meios de cultura, que devem atender às exigências nutricionais das espécies a serem cultivadas.

2.OBJETIVO

Preparar diferentes meios de cultura a serem utilizados para o cultivo de microrganismos.

3.MATERIAL

Meio de cultura desidratado;
Béqueres;
Balões Volumétricos;
Água Destilada;
Balança;
Placas de Petri.

4.MÉTODO

Pesar o pó, seguindo o protocolo indicado, e adicionar separadamente à água destilada, tomando-se o cuidado de homogeneizar a cada componente adicionado. Os meios de cultura mais utilizados em laboratórios de microbiologia estão disponíveis comercialmente, já na forma desidratada. Nestes casos, pesar a quantidade de mistura especificada na embalagem do produto e acrescentar à água destilada.

Ágar MacConkey (INTERLAB)

Indicação:

Ágar MacConkey é um meio de cultura destinado ao crescimento de bactérias Gram negativas e indicar a fermentação de lactose. Cor natural do meio é um amarelo.

Resultado:

Rosa (lactose +) Bactérias: *Klebsiela*, *Enterobacter*

Amarelo (lactose -) Bactérias: *Salmonella*, *Pseudomas* e *Shigella*

Materiais:

Ágar MacConkey ----- 50g
H₂O destilada ----- 1000ml

Método:

- Dissolver o MacConkey na H₂O destilada e agitar bem;
- Ferver em micro-ondas ou placa aquecida agitando sempre para dissolver na água por 1

- minuto;
- O pH final é de $7,0 \pm 0,2$.
- Autoclavar em erlenmeyer a meia rosca por 15 minutos a $121^\circ \text{C}/1 \text{ atm}$.
- Distribuir em placas ainda quente, antes de solidificar.

Ágar Cled (INTERLAB)

Indicação: Para isolamento, enumeração e identificação presuntiva de microrganismos presentes na urina e e indicar a fermentação de lactose. Cor natural do meio é um verde.

Resultado:

Amarelo (lactose +)

Verde (lactose -)

Materiais:

Ágar Manitol ----- 36g

H₂O destilada ----- 1000ml

Método:

- Dissolver o Cled na H₂O destilada e agitar bem;
- Aquecer em micro-ondas ou placa aquecida agitando sempre para dissolver na água por 1 minuto;
- O pH final é de $7,3 \pm 0,2$.
- Autoclavar em erlenmeyer a meia rosca por 15 minutos a $121^\circ \text{C}/1 \text{ atm}$.
- Distribuir em placas ainda quente, antes de solidificar.

Ágar Manitol (HIMEDIA)

Indicação: Para cultivo de qualquer microrganismo (cresce Gram +).

Materiais:

Ágar Manitol ----- 27,8g

H₂O destilada ----- 1000ml

Método:

- Dissolver o Manitol na H₂O destilada, agitar bem;
- Aquece em micro-ondas ou placa aquecida agitando sempre para dissolver na água até a ebulição;
- Autoclavar em erlenmeyer a meia rosca por 15 minutos a $121^\circ \text{C}/1 \text{ atm}$;
- Distribuir em placas ainda quente, antes de solidificar.

TÉCNICA DE SEMEADURA

1. INTRODUÇÃO

A escolha da técnica para o cultivo de microrganismos varia de acordo com o tipo de meio de cultura e a finalidade do cultivo, porém algumas regras devem ser seguidas nas inoculações:

- As alças devem ser esterilizadas por flambagem antes e após qualquer cultivo. Tome cuidado de esfriá-las antes da coleta.
- Os recipientes devem sempre ser abertos próximos à chama do bico de Bunsen.
- Deve-se evitar ao máximo que as tampas dos tubos e placas fiquem sob a bancada durante o cultivo.
- Para garantir uma semeadura correta, deve-se evitar ao máximo perfurar ou rasgar o Ágar, pois poderá ocorrer acúmulo de bactérias neste setor do meio além de alterar as condições de crescimento bacteriano.

2. SEMEADURA EM MEIO (Placa de Petri – técnica do esgotamento)

1- Divida a Placa de Petri em três partes, fazendo linhas com pincel marcador na parte de baixo da placa.

2- Mergulhe a alça de platina esterilizada na cultura bacteriana que lhe é apresentada.

3- Faça estrias em cada divisão, respeitando as linhas e utilizando da melhor forma possível toda a superfície da placa.

