

Aula Prática 04: TÉCNICAS DE SEMEADURA DE CULTURAS BACTERIANAS

A. Transferência de uma cultura bacteriana de um tubo (meio líquido) para outro tubo (meio líquido)

- 1) Nomeie um tubo com meio de cultura estéril como tubo 1.
- 2) Esterilize a alça de transferência na chama do bico de Bunsen até que a alça fique vermelha (flambe a alça);
- 3) Pegue o tubo 1 com meio estéril e o tubo A com uma cultura bacteriana, e remova as tampas com os dedos da mão que segura a alça;
- 4) Passe as extremidades abertas dos tubos através da chama (flambe os tubos) para evitar contaminações;
- 5) Espere alguns segundos para a alça esfriar;
- 6) Com a alça, retire uma pequena quantidade do inóculo do tubo A com a cultura bacteriana e, em seguida, introduza a alça no tubo 1 com o meio de cultura estéril;
- 7) Flambe as bocas dos tubos novamente e tampe-os;
- 8) Esterilize a alça na chama;
- 9) Identifique o tubo inoculado e o grupo.
- 10) Incube o tubo a 37 °C e 150 rpm de agitação por 18 h.

B. Transferência de uma cultura bacteriana em tubo (meio líquido) para placa de Petri (meio sólido)

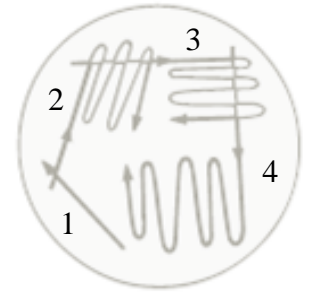
- 1) Nomeie uma placa de Petri como Placa 1.
- 2) Ajuste uma micropipeta automática para o volume de 0,1 mL (100 µL).
- 3) Com a micropipeta automática, retire uma ponteira amarela do suporte de ponteiras, sem tocá-la.
- 4) Remova a tampa do tubo A com uma cultura bacteriana e flambe a extremidade aberta do tubo.
- 5) Incline o tubo e introduza somente a ponteira no tubo, colete 0,1 mL do inóculo e retire a ponteira do tubo.
- 6) Flambe a boca do tubo e recoloque sua tampa.
- 7) Na placa de Petri semi-aberta contendo meio de cultura esterilizado (Placa 1), despeje o conteúdo da ponteira e dispense a ponteira no descarte contendo hipoclorito de sódio 3%.
- 8) Mergulhe a espátula de Drigalsky em álcool 70%, flambe-a e espere cerca de 1 min para esfriar. Confirme o resfriamento encostando-a no meio de cultura.
- 9) Espalhe o inóculo líquido sobre a superfície do ágar com a espátula de Drigalsky, de modo a distribuir os microrganismos uniformemente pelo meio sólido.
- 10) Feche a placa de Petri e deixe-a invertida sobre a bancada;
- 11) Mergulhe a espátula de Drigalsky em álcool 70% e flambe-a novamente;
- 12) Incube a placa 1 a 37 °C por 18 h.

C. Transferência de uma cultura bacteriana em placa de Petri (meio sólido) para tubo (meio líquido)

- 1) Esterilize a alça de transferência e resfrie-a em um canto da placa onde não haja inóculo;
- 2) Remova uma colônia bacteriana ou uma porção do crescimento com a alça e recoloque a tampa da placa;
- 3) Remova a tampa de um tubo com meio estéril, flambe-o e introduza a alça no meio;
- 4) Chacoalhe a alça para que as células bacterianas se desprendam e fiquem em suspensão no meio líquido;
- 5) Flambe a boca do tubo novamente e tampe-o;
- 6) Esterilize a alça de transferência;
- 7) Identifique o tubo inoculado e o grupo, e incube o tubo a 37 °C e 150 rpm de agitação por 18 h.

**D. Transferência de uma cultura bacteriana em placa de Petri (meio sólido) para outra placa de Petri (meio sólido)
– Isolamento de colônias por semeadura em esgotamento em placa de Petri**

- 1) Com a alça esterilizada e resfriada, toque levemente uma colônia bacteriana em meio sólido;
- 2) Inocule a cultura em outra placa de Petri, estriando de acordo com a figura ao lado. Lembre-se de esterilizar a alça entre cada procedimento esquematizado na figura: ou seja, inocule a região 1, esterilize a alça e espere que a mesma esfrie, então a partir da região 1, inocule a região 2. Repita o procedimento para as regiões 3 e 4.
- 3) Inverta a placa, identifique-a na borda da base, e incube-a a 37 °C por 18 h.



E. Questões

- 1) Descreva o objetivo de cada método de semeadura.
- 2) Descreva os resultados obtidos para cada método após incubação a 37 °C.
- 3) Observe o meio de cultura líquido antes da inoculação e depois de 18 h de crescimento. O que aconteceu com o meio? A que fenômeno está associado esta mudança?
- 4) Compare as placas obtidas nos itens B e D. Qual método apresenta maior eficiência em obter colônias isoladas? Por quê? Qual é a importância de se obterem colônias bacterianas isoladas?