

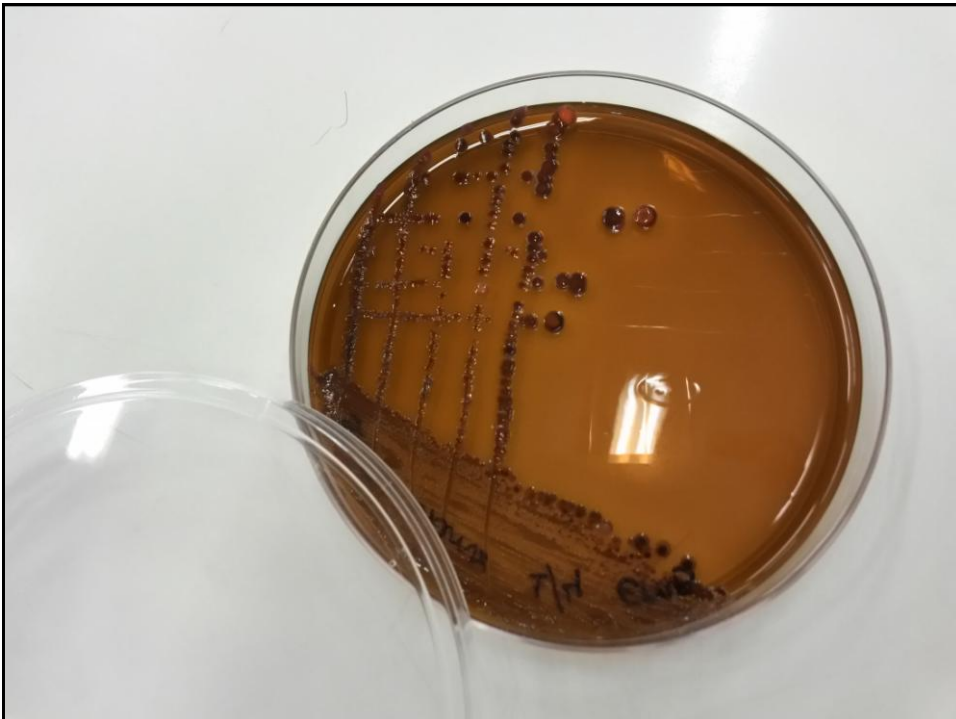
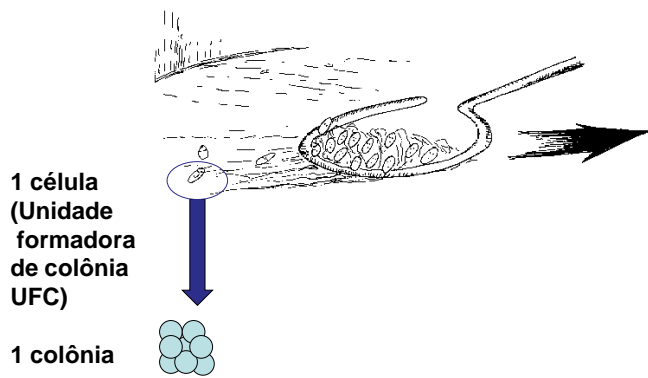


Instrumentação e técnicas básicas de assepsia

**Sobre as aulas práticas
Profa. Dra. Ilana Camargo**

Parte III

Ao semear...



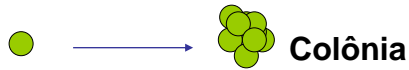
Isolamento de microrganismos em Cultura Pura

Inóculo: material a ser semeado, colocado no meio de cultura.

Incubação: bactérias → 37°C / 24horas; Fungos → 25-30°C

Durante a incubação as células individuais se multiplicam e produzem um grande número de células = **Colônia** - visível a olho nu.

Cada colônia é uma cultura pura com ancestral único.



Todas as células em uma colônia têm o mesmo parentesco.

Isolamento de microrganismos em Cultura Pura

Objetivo dos métodos:

Diminuir a população microbiana, assim as células individuais estarão localizadas a uma certa distância umas das outras.

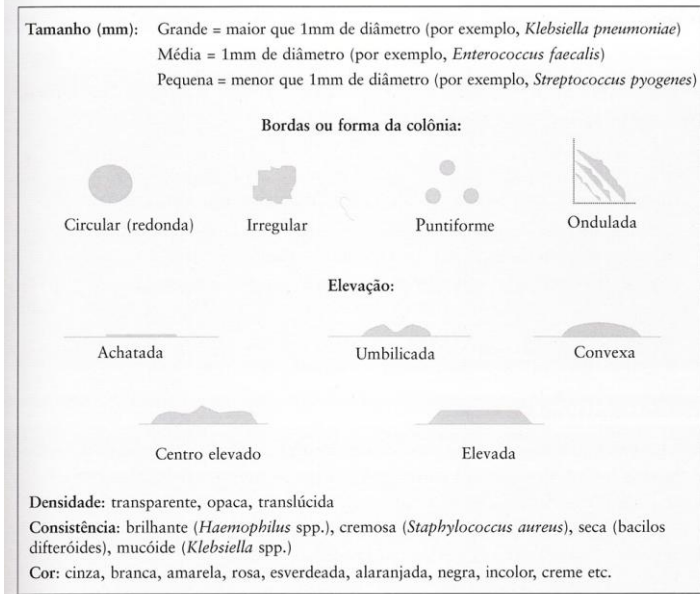
Para isolar uma cultura pura, uma colônia individual é transferida do meio para outro em placa ou tubo.

Diferenças morfológicas de colônias entre as diferentes espécies:

- aderente; - rugosa;
- elevada; - irregular;
- lisa; - regular; - seca;

Classificação e Identificação Características morfológicas

Diferenças morfológicas de colônias (Macroscópica)



Isolamento de colônias para posteriormente obter cultura pura

Objetivo dos métodos:

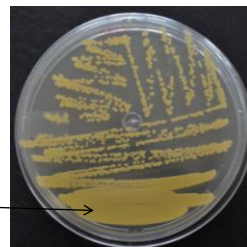
Diminuir a população microbiana, assim as células individuais estarão localizadas a uma certa distância umas das outras.

Para obter uma cultura pura, uma colônia individual é transferida do meio para outro em placa ou tubo.

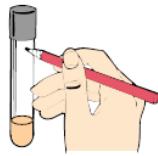
Cultura mista



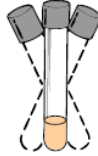
Cultura pura



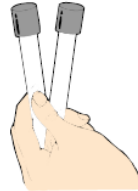
Manobras assépticas



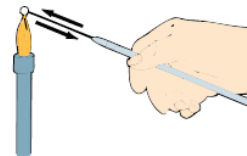
(a) With a wax pencil, label the medium to be inoculated



(b) Shake the primary culture tube to suspend the bacteria



(c) Place both tubes in the palm of one hand to form a V



(d) Flame the inoculating loop or needle along full length



(f) Cool the loop or needle and pick up bacteria

Streak the surface of a slant

Place the bacteria on slide

Streak the bacteria on petri plate

Manobras assépticas



(a) Shake the culture tube from side to side to suspend the organisms.



(b) Heat the loop and wire to red-hot.



(c) Remove the cap, and flame the opening of the tube. Do not place the cap down on the table.



(d) After allowing the loop to cool for 5 seconds, remove a loopful of organisms. Avoid touching the sides of the tube.



(e) Flame the mouth of the tube again.



(f) Return the cap to the tube, and place the tube in a test tube rack. Transfer the loopful of organisms.

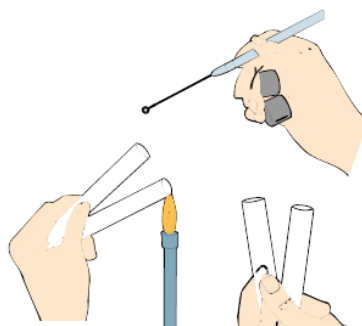


(a) Flame the opening of the broth tube.



(b) Insert a sterile loop into the broth culture.

Manobras assépticas



(g) Reflame the neck of the tubes

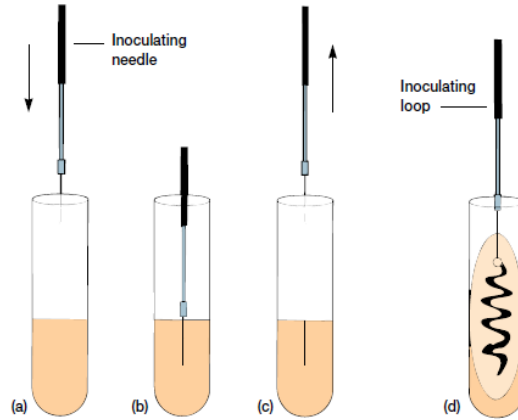


(h) Recap the tubes

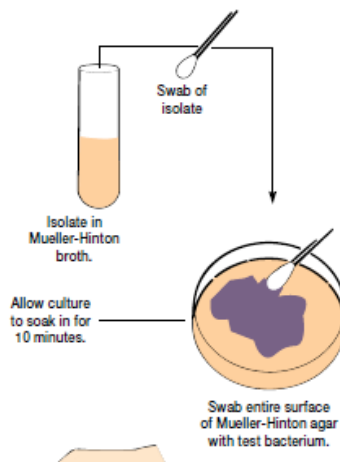


(i) Reflame the loop or needle

Figure 14.5 Transferring Techniques. (a)–(c) Stab technique for transferring bacteria. Notice that the inoculating needle is moved into the tube without touching the walls of the tube, and the needle penetrates medium to $\frac{2}{3}$ its depth. (d) Technique for streaking the surface of a slant with a loop.



Swab de algodão esterilizado



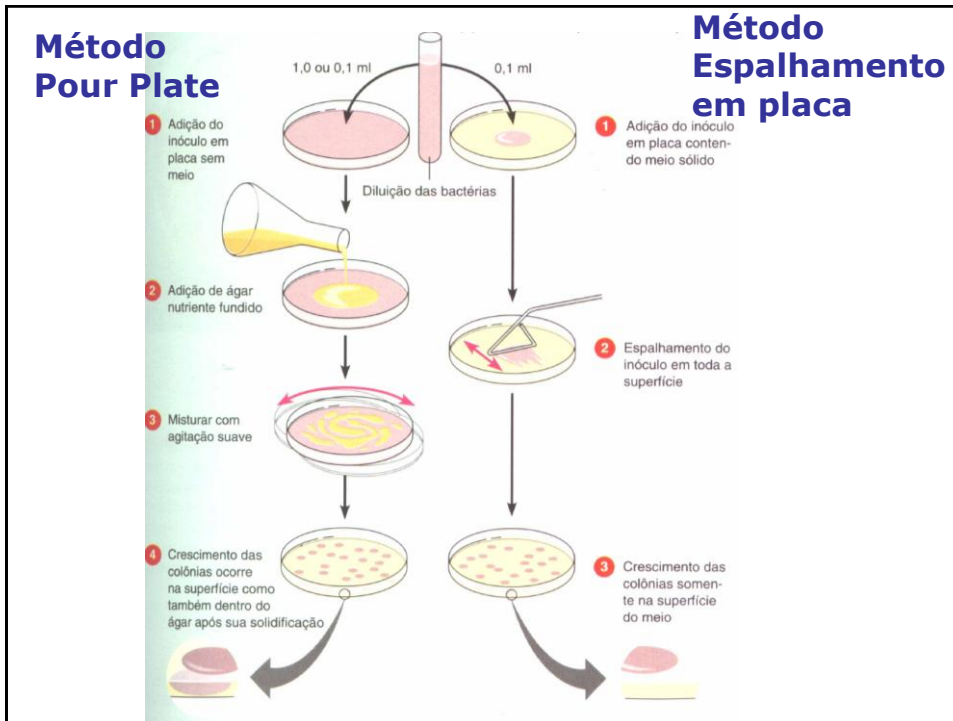
Métodos de isolamento de microrganismos em cultura pura



(c) Transfer the culture to a section of an agar plate by rubbing the loop back and forth across the surface.

Métodos de isolamento de microrganismos:

- Espalhamento em placa;
- Pour-plate;
- Esgotamento por estrias;



Método de espalhamento em placa



Método de esgotamento em placa

Por estrias

Flambar a alça entre cada etapa

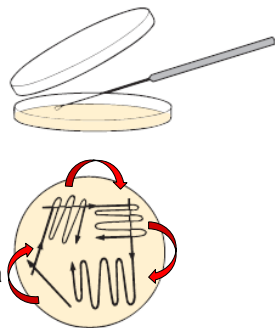


Figure 5.8 Streak-Plate Technique. Preparation of streak plates. The upper illustration shows a petri dish of agar being streaked with an inoculating loop. A commonly used streaking pattern is pictured at the bottom.

Figure 16.1 Streak Plate. Notice the well-isolated colonies of *E. coli* (white) and *S. marcescens* (red).

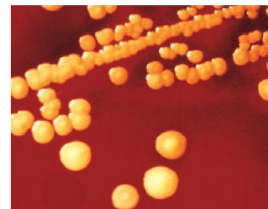
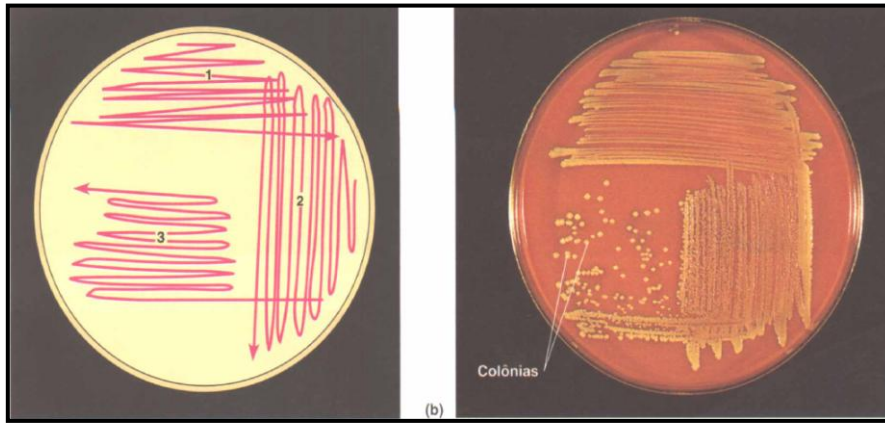


Figure 5.9 Bacterial Colonies on Agar. Colonies growing on a streak plate. A blood-agar plate has been inoculated with *Staphylococcus aureus*. After incubation, large, golden colonies have formed on the agar.

Método de esgotamento em placa

Por estrias

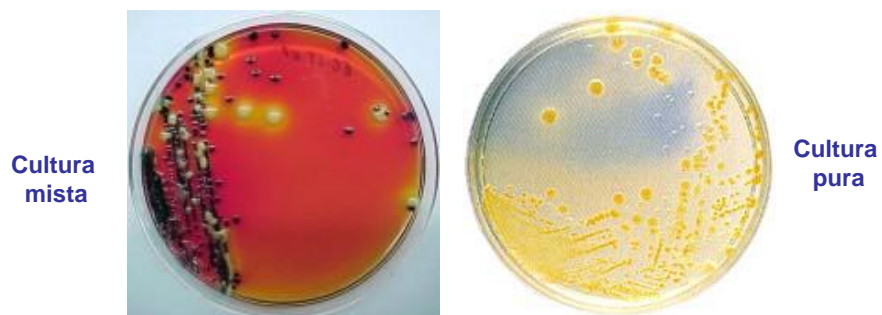


Cultura Pura

Onde todas as células na população são idênticas e todas se originaram de uma mesma célula parenteral.

Natureza - Culturas mistas: muitas espécies diferentes no mesmo ambiente

Primeiro passo: Isolar as diferentes espécies contidas em um espécime (amostra).

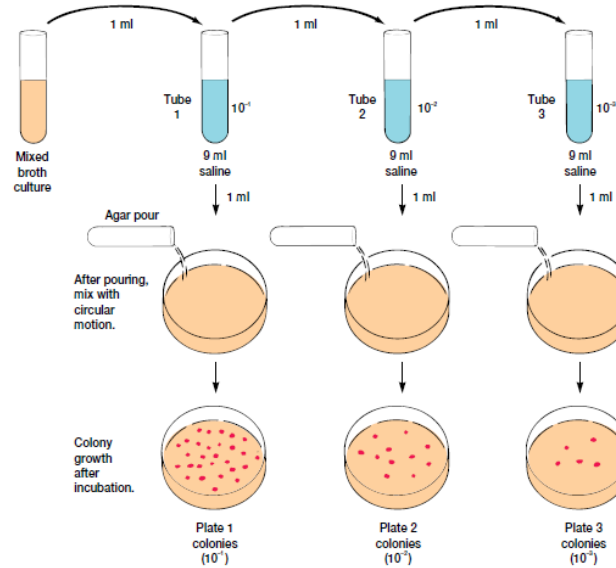




(a) Bacteria and fungi from laboratory air.

Contagem de colônias

Método Pour Plate



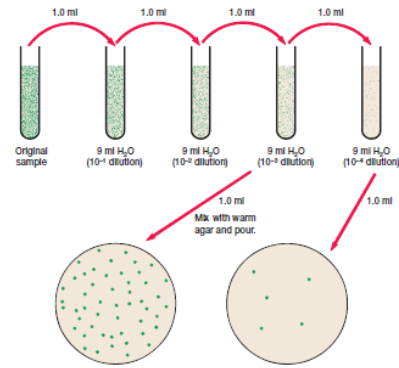
Contagem de colônias

UFC = Unidade Formadora de Colônia

Tubo 10^{-3} = 50 UFC

No tubo original = $50 \times 1 \times 10^3$

5×10^4 UFC/mL



(b)

Tubos de ensaio e Tubo de Durham

