

### Aula Prática 03: PREPARO DE MEIO DE CULTURA

#### A. Procedimentos de manuseio de materiais microbiológicos que devem ser realizados em todas as aulas

- 1) Lave as mãos com detergente, seque-as e desinfete-as com álcool 70%;
- 2) Desinfete a superfície da bancada com álcool 70%;
- 3) Acenda o bico de Bunsen para criar um ambiente estéril ao redor do local de trabalho;
- 4) Manuseie os materiais próximos à chama do bico de Bunsen;
- 5) Ao terminar todos os procedimentos da aula, desinfete novamente a bancada com álcool 70%, lave as mãos com detergente e desinfete-as com álcool 70%.

#### B. Preparo de meio de cultura

- **Meio de cultura sólido: Ágar Nutritivo**

- 1) Em um béquer, adicione peptona (0,5 g), NaCl (0,5 g), extrato de levedura (0,2 g) e extrato de carne (0,1 g) a 100 mL de água destilada.
- 2) Dissolva a mistura com uma colher.
- 3) Ajuste o pH para 7,2-7,6. Se necessário, utilize soluções de 1 M de HCl ou de 1 M de NaOH para corrigir o pH.
- 4) Adicione ágar bacteriológico (1,5 g) a um erlenmeyer de 250 mL.
- 5) Adicione o restante do meio de cultura ao erlenmeyer e vede-o com gaze, fita crepe e papel alumínio.
- 6) Esterilize o meio de cultura em autoclave por 15 min a 121 °C.
- 7) Abra o erlenmeyer próximo ao bico de Bunsen e distribua o meio em placas de Petri (cerca de 20 mL por placa – a metade da placa).
- 8) Após colocar o meio de cultura, mantenha as placas de Petri com as tampas semi-abertas até o meio solidificar.
- 9) Embale o conjunto de placas em filme plástico para evitar a desidratação e armazene-as a 4 °C.

- **Meio de cultura líquido: Caldo Nutritivo**

- 1) Em um béquer, adicione peptona (0,25 g), NaCl (0,25 g), extrato de levedura (0,1 g), e extrato de carne (0,05 g) a 50 mL de água destilada.
- 2) Dissolva a mistura com uma colher.
- 3) Ajuste o pH para 7,2-7,6. Se necessário, utilize soluções de 1 M de HCl ou de 1 M de NaOH para corrigir o pH.
- 4) Distribua 5 mL do meio de cultura em cada tubo de ensaio.
- 5) Deixe as tampas dos tubos de ensaio semi-abertas e esterilize-os em autoclave por 15 min a 121 °C.
- 6) Espere os tubos esfriarem, feche as tampas e armazene-os a 4 °C.

#### C. Questões

- 1) Descreva os experimentos de Pasteur de 1861 que refutaram a teoria da geração espontânea e discuta a importância dos seus resultados para o estabelecimento das técnicas de assepsia.
- 2) Qual é o agente responsável pela solidificação do meio de cultura? Por que ele foi importante para a Microbiologia? Quais podem ser os estados físicos dos meios de cultura?