

# Normas Adotadas no Laboratório de Microbiologia

---

As aulas práticas de microbiologia têm como objetivo ensinar ao estudante os princípios e os métodos utilizados em um laboratório de microbiologia.

Nessas aulas trabalharemos com uma variedade de bactérias, algumas patogênicas para o homem. Portanto, é essencial seguir as normas de segurança estabelecidas para um laboratório de microbiologia, a fim de se evitar contaminação dos estudantes, professores e funcionários.

- 1 - Desinfetar a bancada de trabalho no início e término de cada aula prática.

Para essa finalidade, utiliza-se álcool comercial. Com este procedimento, os microrganismos que poderiam contaminar as culturas na área de trabalho são removidos.

- 2 - Não comer ou fumar no laboratório.

Se a bancada, equipamentos ou instrumentos tiverem sido contaminados acidentalmente com qualquer microrganismo, comer ou fumar é meio eficiente para uma auto contaminação.

- 3 - Usar sempre avental.

Não utilizá-lo fora do laboratório, caso tenha sido contaminado acidentalmente.

- 4 - Lavar as mãos ao sair do laboratório e sempre que suspeitar de contaminação.

- 5 - Avisar ao professor em caso de contaminação acidental.

- 6 - Não colocar materiais contaminados (pipetas, lâminas etc.) sobre a bancada.

Estes materiais devem ser colocados em recipientes apropriados que serão dispostos em cada bancada.

- 7 - Cada aluno é responsável pelo material que receber.

- 8 - Seguir as normas de uso dos aparelhos. O microscópio é um instrumento de trabalho valioso e deve ser manipulado cuidadosamente. São tidos como pré-requisitos conhecimentos sobre microscópios ópticos comuns.

- 9 - Cuidado ao acender o bico de gás (bico de Bunsen). Verificar se não existem substâncias inflamáveis por perto.

- 10 - Flambar alças, agulhas e pinças antes e após o uso.

# 1. Limpeza, montagem e esterilização de material usado em Microbiologia

---

Após ter estudado esta unidade e ter preparado o experimento prático, você estará apto a:

## *Limpeza e Montagem*

---

### **Objetivos**

- Caracterizar a estrutura e o funcionamento de um laboratório de Microbiologia
- Executar técnicas de preparo e montagem de matéria para esterilização.

### **Introdução**

um laboratório de Microbiologia destina-se ao estudo de microrganismos, compreendendo entre outras atividades, seu isolamento, identificação, caracterização, quantificação e conservação. A este estudo aplicam-se "técnicas microbiológicas", que envolvem uma série de operações e normas padronizadas, instalações e instrumental próprios.

No estudo de microrganismos são imprescindíveis as seguintes operações: execução de preparações microscópicas, esterilização de vidrarias, preparo de meios de cultura e materiais diversos, técnicas de cultivo, isolamento e outros ensaios microbiológicos.

## *Esterilização*

---

### **Objetivos**

- Caracterizar os diversos métodos de esterilização.
- Executar O processo de esterilização em calor umido e conhecer outros metodos.

### **Introdução**

Vários procedimentos de esterilização são usados para destruir microrganismos. A escolha do método depende principalmente de natureza do material a ser esterilizado.

O objetivo da esterilização é destruir ou remover todos os organismos patogênicos ou não, incluindo os esporos bacterianos. Não existe a expressão meio termo como "quase estéril", o termo estéril ou esterilização não deve ser usado com sentido relativo.

As bactérias nas suas formas vegetativas, são destruídas com certa facilidade pelos métodos comuns de esterilização. O mesmo comportamento observado para as células vegetativas e esporos de leveduras e bolores esporos bacterianos, no entanto, constituem um grupo de organismos

apresentam a maior resistência a ação dos agentes físicos, especialmente a temperatura. A maioria dos esporos bacterianos exige, para a sua eliminação temperaturas superiores a 100°C por período de tempo prolongado. A relação temperatura e tempo de exposição que deve ser usada para tornar material estéril é baseada no grau de resistência ao calor dos esporos bacterianos.

## 2. Técnicas assépticas e sementeira de microrganismos

---

### *Objetivos*

---

- Treinar o aluno na manipulação de meios e culturas em condições de assepsia;
- Executar técnicas de sementeira de microrganismos em meios sólidos e líquidos.

### *Introdução*

---

O isolamento, cultivo e identificação de microrganismos requerem técnicas adequadas de inoculação destes microrganismos em meios de cultura que possibilitem o seu rápido crescimento, livre de contaminações. Estas são as chamadas "técnicas assépticas". Para sua execução, certas precauções especiais devem ser observadas pelo manipulador na ocasião da prática de técnicas de sementeira, com o fim de preservar a pureza do cultivo e minimizar os riscos de infecção ou intoxicação no laboratório. Assim, o estabelecimento de uma zona de esterilidade é garantida pela regulação do bico de gás (Bunsen). É somente nesta zona, estéril, que os tubos ou recipientes com meios de cultura, estéreis ou com material a ser inoculado, deverão ser abertos ou manipulados. Qualquer outro material deverá ser mantido nesta área, para ser preservada a sua esterilidade. As manipulações devem ser feitas, preferencialmente, por trás da chama do bico de gás. As alças ou agulhas, de platina ou níquel-cromo, devem ser flambadas imediatamente antes e depois de qualquer transferência. Elas devem ser flambadas em todo seu comprimento, a partir de alguns centímetros do cabo de Kolle, até ao rubro, mantendo-as em posição vertical à chama do bico de Bunsen. Nunca iniciar a flambagem pela extremidade livre da alça ou agulha. Deixar esfriar nas proximidades da chama.

# 3. Preparação, acondicionamento e controle de qualidade de meios de cultura.

---

## Objetivos

- Realizar a preparação de meios de cultura.
- Realizar a armazenagem correta dos meios de cultura.
- Descrever os fatores que podem interferir na preparação dos meios que influenciam um resultado satisfatório de crescimento bacteriano.
- Efetuar as normas que regem o controle de qualidade dos meios de cultura.

## Introdução

Os meios de cultura destinam-se ao cultivo artificial dos microrganismos. Estes meios fornecem os princípios nutritivos indispensáveis ao seu crescimento. As exigências nutritivas estão relacionadas a uma fonte de carbono, de nitrogênio, de energia e de sais minerais. Alguns microrganismos também necessitam de fatores de crescimento que são substâncias que eles não podem sintetizar, tais como vitaminas, aminoácidos etc.

Outras condições inerentes ao meio de cultura necessário ao desenvolvimento são as condições de pH, pressão osmótica e grau de umidade.

# 4. Técnica de inoculação de bactérias em meio de cultura e verificação de crescimento

---

## Objetivos

---

- Realizar inoculação em meio de cultura líquido e sólido.
- Verificar a presença ou ausência de crescimento bacteriano nos meios inoculados.
- Definir e descrever as características morfológicas de uma colônia.
- Definir cultura pura e mista.

## Introdução

---

Os microrganismos necessitam de um meio de cultura adequado para seu crescimento *in vitro*. Mas, além dos componentes presentes no meio, outros fatores interferem no seu desenvolvimento: são fatores ambientais como temperaturas (psicrófilas, mesófilas e termófilas) e tensão de oxigênio (aeróbias, anaeróbias, microaerófilas e anaeróbias facultativas).

Inoculando um microrganismo em um meio de cultura que possua todos estes requisitos nutritivos e fatores ambientais favorecidos, o microrganismo inicia seu desenvolvimento neste meio, passando pelas diversas fases da *curva de crescimento*, desde a fase de latência, logarítmica, estacionária, até a fase da morte.

A fase logarítmica (exponencial) é caracterizada por divisões sucessivas (cissiparidade), originando a formação de um agrupamento de bactérias da mesma espécie, que é denominado *colônia*. Esta é visualizada sem o auxílio do microscópio, sendo então considerada como característica macroscópica das bactérias.

# 5. Morfologia bacteriana e coloração de Gram

---

## Objetivos

- Executar a técnica de coloração de Gram.
- Relacionar a composição química da parede celular das bactérias com os corantes de Gram.
- Classificar as bactérias de acordo com a coloração de Gram.
- Verificar a importância de realizar a coloração de Gram a partir de um material clínico.
- Citar as formas das bactérias.
- Descrever seus arranjos.

## Introdução

### **MORFOLOGIA**

As células bacterianas são caracterizadas morfologicamente quanto aos seguintes aspectos:

### **TAMANHO:**

As bactérias são microscópicas, medindo desde 0,3 por 0,8 $\mu$ m até 10 por 25 $\mu$ m. As espécies de maior interesse médico medem entre 0,5 a  $\mu$ m por 2 a 5 $\mu$ m. Sendo assim, não conseguimos visualizá-las a olho nu, precisando do uso de microscópio óptico comum. A aplicação de aumento maior (microscópio eletrônico) só é útil no estudo das estruturas bacterianas.

### **FORMA:**

As bactérias podem ser classificadas quanto à forma em três grupos básicos:

1. *Cocos* - células esféricas;
2. *Bacilos* - células cilíndricas, em forma de bastonetes;
3. *Espirilos* - células espiraladas.
4. Algumas células se comportam como bacilos curvos que podem ser denominados *víbrios*.

Entre as bactérias espiraladas existem as *espiroquetas*, que são células flexíveis que se movimentam por rotação e flexão.

### **ARRANJO:**

1. Diplococos
  2. Estreptococos
  3. Estafilococos
  4. Tétrades
- Entre outros.

Em todos esses procedimentos práticos de laboratório de microbiologia é necessário ter uma sequência.

O tempo de geração de uma bactéria é de 20 minutos. Por esse motivo é necessário que haja disponibilidade do laboratório todos os dias, para que os alunos possam acompanhar todo o crescimento do microrganismo em estudo. E assim, conseguir os meus objetivos pedagógicos.