

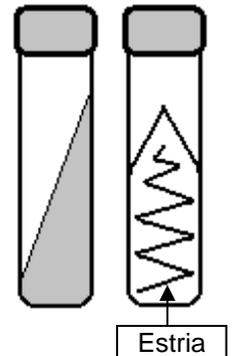
TÉCNICAS DE SEMEADURA

1- Técnica de Semeadura em Estrias:

Objetivo - Obter o crescimento do micro-organismo no meio de cultura afim de:

- ⇒ Estocar a bactéria;
- ⇒ Estudar seu metabolismo em uma prova “bioquímica”;
- ⇒ Avaliar sua capacidade de crescimento ou não no meio de cultura;

Procedimento – Será utilizado um tubo com **Agar Nutriente Inclinado**. Asepticamente, semear o micro-organismo com auxílio de alça ou agulha de níquel cromo, fazendo estrias na superfície (ápice) do meio como apresentado na figura ao lado.

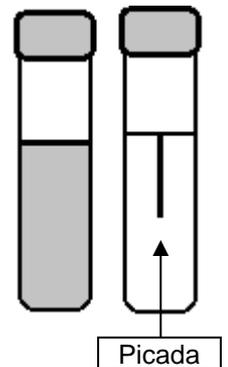


2- Técnica de Semeadura em Picada:

Objetivo - Verificar a motilidade do micro-organismo no **Agar Semissólido**.

Procedimento - Semear o micro-organismo com auxílio de uma agulha de níquel cromo, fazendo uma picada no centro do meio de cultura penetrando até a metade da sua altura, do meio como apresentado na figura ao lado. Após o período de incubação interpretar o resultado:

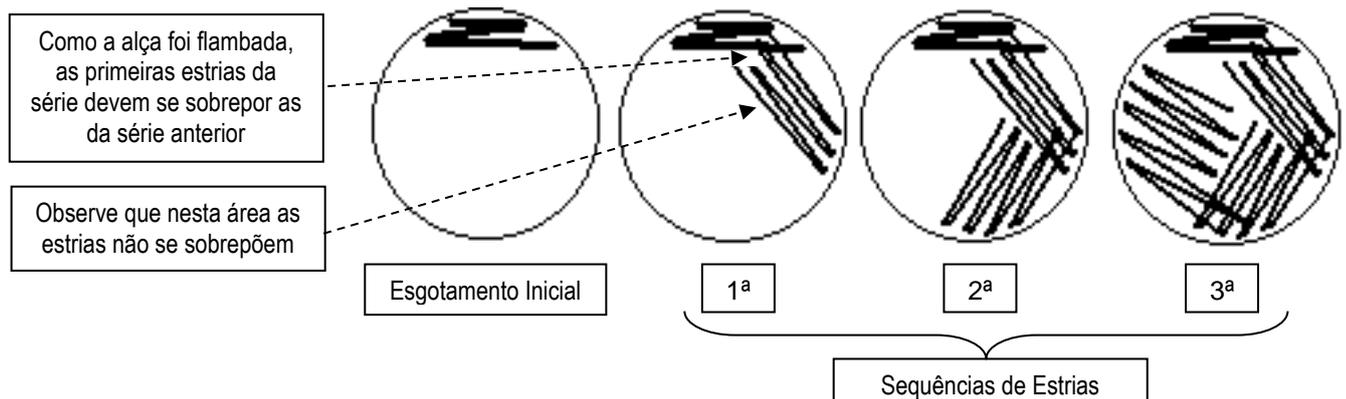
- ⇒ Bactéria **móvel**: crescimento por todo meio de cultura.
- ⇒ Bactéria **imóvel**: crescimento somente no local da picada.



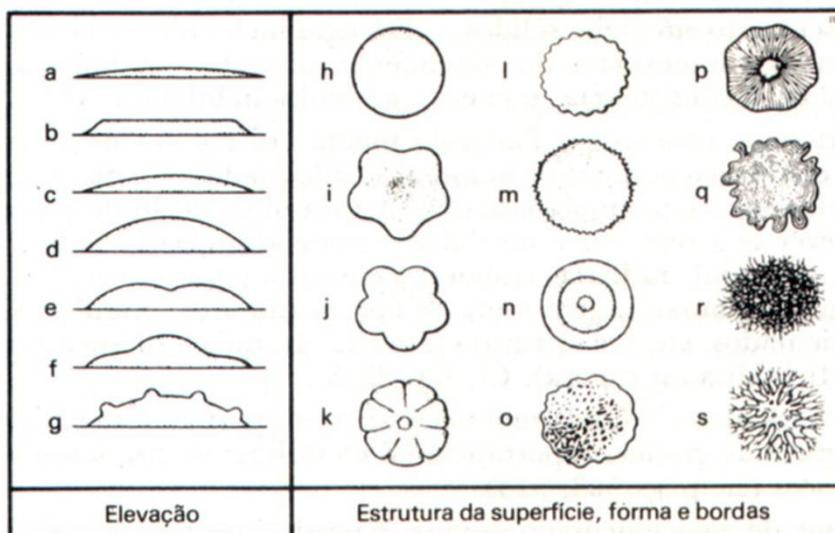
3- Técnica em Semeadura em Esgotamento:

Objetivo - Obter colônias isoladas, o que permite distinguir os diferentes micro-organismos em um material ou cultura polimicrobiana através da sua morfologia colonial.

Procedimento - Semear o material ou a cultura microbiana com auxílio de uma alça de níquel cromo, fazendo seqüências de estrias na superfície do meio de cultura da placa de Petri, como apresentado na figura ao lado. Inicie transferindo o material para o meio (“Esgotamento” Inicial). Fazer seqüências de estrias de modo a obter o esgotamento do inoculo da alça (estrias do bordo para o centro da placa) e conseqüentemente permitir que os micro-organismos se desenvolvam formando colônias isoladas. A flambagem da alça entre cada seqüência de estrias aumenta a probabilidade de obtenção de colônias isoladas.



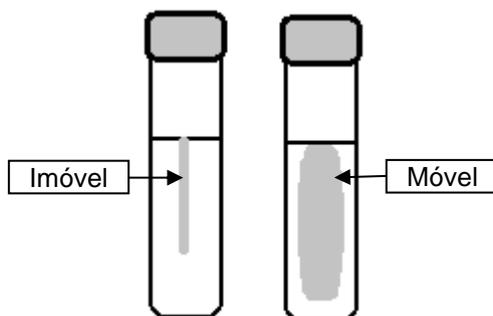
DESCRIÇÃO DA MORFOLOGIA COLONIAL



Recomendações Gerais para Descrição da Morfologia Colonial:

Forma	“Puntiforme”; Circular (h ; i ;...); Radiada (k), Rizóide; Irregular (q);
Tamanho (aproximado)	Média dos diâmetros da colônia em milímetros
Elevação	Plana (a); Convexa (d); Umbelicada (e); Centro saliente (f)
Bordos	Lisos (h); Ondulada (j); Crenados (m); Filamentosos (s)
Superfície	Lisa; Rugosa; Com Brilho; Opaca
Consistência	Butirosa; Mucóide; Friável;
Densidade	Opaca; Translúcida
Outras:	Produção de Pigmentos Difusíveis; Produção de Pigmentos Não Difusíveis; Pigmentos Fluorocrômicos; Produção de Odores;

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO TESTE DE MOTILIDADE

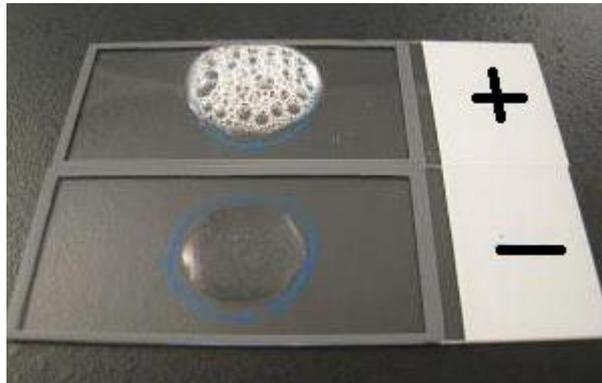


TESTE DA CATALASE

Objetivo – Detectar a presença da enzima catalase na bactéria e com base no resultado obtido auxiliar na identificação de gêneros e espécies bacterianas. Classicamente utilizado na diferenciação de estafilococos (**catalase positiva**) e estreptococos (**catalase negativa**).

Princípio – A enzima catalase determina a decomposição do reagente empregado, uma solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3 %, com a liberação de oxigênio molecular (O_2) que irá formar bolhas na solução.

Procedimento – tocar a colônia bacteriana com uma alça e depositar a massa de células na superfície de uma lâmina de vidro limpa (fazer um “traço de 5 mm). Pingar uma gota do Reagente de Catalase sobre o “traço” feito com a massa de células evitando contaminar o bico do frasco conta-gotas. Observar a formação (reação positiva) ou não (reação negativa) no reagente.



TESTE DO KOH

Objetivo – Auxilia na caracterização de bactérias Gram negativa que apresentam uma reação positiva no teste, enquanto que as Gram positiva determinam um resultado negativo.

Princípio – A ruptura dos envoltórios celulares das bactérias Gram negativa por ação da Solução de KOH a 3% determina o aumento da viscosidade do reagente empregado e a formação de filamentos quando a suspensão bacteriana é tocada com uma alça ou um palito. A elevada resistência conferida pela espessa camada de peptidoglicano de bactérias Gram positiva resulta em um teste negativo (não alteração da viscosidade do reagente, nem a formação de filamentos após o toque da suspensão com alça ou palito).

Procedimento – Pingar 2 a 3 gotas do Reagente do Teste de KOH uma lâmina de vidro limpa. Tocar uma ou mais colônias da bactéria alça de níquel-cromo ou um palito, e fazer uma suspensão “pesada” no reagente colocado na lâmina. Homogeneizar as bactérias na suspensão com movimentos elípticos. Observar se existe o aumento da viscosidade do reagente. Frequentemente afastar a alça da suspensão bacteriana e observar se existe a formação de filamentos da suspensão até a alça. O aumento da viscosidade e a formação de filamentos indica uma reação positiva.

