



**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**

**TÍTULO: CONSERVAÇÃO BACTERIANA EM NITROGÊNIO LÍQUIDO PARA COLEÇÃO DE BACTÉRIAS DA AMAZÔNIA**

**Código:** ILMD-SCOL-POP.005

**Revisão/Ano:** 00/2018

**Classificação SIGDA:**

**SUMÁRIO**

**01. OBJETIVO**

**02. CAMPO DE APLICAÇÃO**

**03. RESPONSABILIDADES**

**04. DEFINIÇÕES**

**05. REFÊRENCIAS NORMATIVAS E BIBLIOGRÁFICAS**

**06. SIGLAS**

**07. CONDIÇÕES DE BIOSSEGURANÇA**

**08. PROCEDIMENTOS**

**09. ALTERAÇÕES EM RELAÇÃO A REVISÃO ANTERIOR**

**10. ANEXOS**

**11. FOLHA DE APROVAÇÃO**

**01. OBJETIVO**

Com o objetivo de estabelecer critérios no procedimento para a conservação de bactéria através da técnica de nitrogênio líquido foi elaborado este POP.

**02. CAMPO DE APLICAÇÃO**

Esta instrução se aplica na área de microbiologia da Coleção de Bactérias da Amazônia, auxiliando e orientando os profissionais da coleção para a realização do procedimento da técnica de conservação de bactérias em nitrogênio líquido.

**03. RESPONSABILIDADES**

A execução da técnica é de responsabilidade dos usuários da Coleção de Bactérias da Amazônia.

**04. DEFINIÇÕES**

A criopreservação em nitrogênio líquido consiste em conservar o material biológico em baixas temperaturas, tendo como objetivo reduzir a taxa de metabolismo, através da pouca atividade das reações bioquímicas esse metabolismo biológico dos micro-organismos será reduzido.

Data de Aprovação

\_\_/\_\_/2018

Página: 1/4

## **05. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Ling, W. X. Liquid-nitrogen cryopreservation of three kinds of autotrophic bioleaching bactéria. Transactions of Noferrous Metals Society of China, v. 18, p. 1386-1391, 2008;

Trabulsi, B. L. & Alterthum, F. Microbiologia, 5 ed. Atheneu, 2009.

## **06. SIGLAS:**

ILMD – Instituto Leônidas e Maria Deane;

POP - Procedimento Operacional Padrão

TSB – Caldo Triptona de Soja

## **07. CONDIÇÕES DE BIOSSEGURANÇA**

Este ensaio deve ser realizado em cabine de segurança biológica, utilizando jaleco de mangas longas, luvas, máscara e pessoal devidamente treinado.

## **08. PROCEDIMENTOS**

### **8.1. Materiais, reagentes e equipamento**

#### 8.1.1. Materiais

- Alça de níquel cromo
- Cabo de Kolle
- Tubos de criopreservação 2,0ml
- Galão para nitrogênio líquido

#### 8.1.2. Reagentes

- Meio de cultura TSB
- Glicerol
- Nitrogênio líquido

#### 8.1.3. Equipamento

- Estufa bacteriológica
- Cabine de Segurança Biológica

### **8.2. Descrição da Técnica**

#### 8.2.1. Desinfecção do ambiente de trabalho

Antes de iniciar o procedimento realizar a desinfecção da cabine de segurança biológica com álcool 70% e esterilizar por 15 minutos com luz UV.

#### 8.2.2. Crescimento bacteriano

- A partir do crescimento bacteriano coleta-se de 2 a 3 colônias puras macroscopicamente iguais e transfere para 2,0 ml de caldo TSB em tubos de criopreservação;
- Os tubos com a cultura serão incubados em estufa bacteriológica por 18-24 horas a 35-37°C;
- Após o período de incubação, acrescenta-se 20% glicerol nas culturas bacterianas como crioprotetor;

#### 8.2.3. Criopreservação de Bactérias em nitrogênio líquido

- Primeiramente, os tubos serão transferidos para uma temperatura de -20°C por 30 a 50 minutos;
- Em seguida, os tubos congelados serão transferidos para galões de nitrogênio líquido a uma temperatura de 196°C.

### 09.ALTERAÇÕES EM RELAÇÃO A REVISÃO ANTERIOR

Item alterado	Descrição das alterações
-----	
-----	

### 10. ANEXOS

Não se aplica

## 11. FOLHA DE APROVAÇÃO

Elaboração
<p>_____</p> <p><b>Michele Silva de Jesus</b> <b>Tenologista em Saúde Pública</b> Data: __/__/2018</p>
Verificação
<p>_____</p> <p><b>Ormezinda Celeste Cristo Fernandes</b> <b>Pesquisadora em Saúde Pública</b> Data: __/__/2018</p> <p>_____</p> <p><b>Itapuan A. da Silva</b> <b>Coordenador da Qualidade</b> Data: __/__/2018</p>
Aprovação
<p>_____</p> <p><b>Felipe Gomes Naveca</b> <b>Vice-diretor de Pesquisa e Inovação</b> Data: __/__/2018</p>