



**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**

**TÍTULO: ISOLAMENTO BACTERIANO DE SOLO PARA COLEÇÃO DE BACTÉRIAS DA AMAZÔNIA**

**Código:** ILMD-SCOL-POP.002

**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**

Este POP estabelece critérios e procedimentos cuja finalidade é a aplicação da técnica para o isolamento bacteriano provenientes de solos.

**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 isolamento bacteriano de solos.

**03. RESPONSABILIDADES**

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

**04. DEFINIÇÕES**

O solo apresenta uma variedade de micro-organismos entre bactérias e fungos, a maioria pode ser isolada e cultivada em laboratório, e são capazes de formar colônias em meios de culturas simples ou específicos. A técnica de isolamento de micro-organismos provenientes do solo permite conhecer a diversidade bacteriana através da utilização das técnicas de diluição

Data de Aprovação

\_\_/\_\_/2018

Página: 1/4

sucessiva e semeadura por esgotamento. Sendo que a diluição sucessiva é utilizada para isolar e diminuir a concentração de micro-organismos nas amostras de solo e a técnica de semeadura por esgotamento consiste na obtenção de colônias puras e isoladas permitindo a diferenciação morfológica.

## **05. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters, v. 170, p. 265-270, 1999.

SILVA, T.F. & MELLONI, R. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas não simbióticas em solos da reserva biológica de Serra dos Toledos, Itajubá-MG.R. Bras. Ci. Solo, v. 35, p. 359-371, 2011.

ROQUE, M.R.A. & MELO, I.S. Isolamento e caracterização de bactérias degradadoras do herbicida diuron. Scientia Agricola, v.57, n.4, p.723-728, out./dez. 2000.

## **06. SIGLAS:**

ILMD – Instituto Leônidas e Maria Deane;

POP – Procedimento Operacional Padrão;

SGQ – Sistema de Gestão da Qualidade;

## **07. CONDIÇÕES DE BIOSSEGURANÇA**

Este ensaio deve ser realizado utilizando jaleco, luvas e óculos de proteção e pessoal devidamente treinados.

## **08. PROCEDIMENTOS**

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

#### 8.1.1. Materiais

- Alça de níquel cromo
- Cabo de Kolle
- Bico de Bunsen
- Erlenmeyer 250 ml
- Tubo ensaio

#### 8.1.2. Reagentes

- Água
- Solução salina 0,85%
- Meios de cultura seletivo, sólidos e líquidos

#### 8.1.3. Equipamento

- Estufa bacteriológica
- Balança analítica

- Agitador magnético

## **8.2 Descrições da Técnica**

8.2.1. Antes de iniciar o procedimento realizar a desinfecção da bancada com álcool 70%

8.2.2. Isolamento Bacteriano proveniente de amostras do solo

- Pesar 10g do solo em balança analítica;
- Transferir as 10g de amostra do solo em 90ml de solução salina a 0,85% em erlenmeyer de 250 ml estéril;
- Homogeneizar a amostra por 15 minutos em agitador magnético;
- Diluir de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ , transferindo 1ml da primeira diluição  $10^0$  para 9 ml de solução salina obtendo a diluição  $10^{-1}$ , e sucessivamente, transferir 1ml para outras diluições;
- A partir da diluição  $10^{-3}$  retirar uma alíquota de 100ul (0,1ml) e transferir para meio líquido Luria-Bertani (LB)
- Colocar os tubos de ensaio em estufa bacteriológica por 18 a 24 horas a 35- 37°C;
- Observar o crescimento bacteriano no meio líquido através da turvação
- Semear alíquotas do crescimento do meio líquido em meios específicos para o isolamento bacteriano.
- Incubar as placas em estufa bacteriológica por 18-24 horas a 35-37°C
- Observar as características macroscópicas das colônias formadas em cada meio de cultura específico utilizado para o isolamento.

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

| <b>Item alterado</b> | <b>Descrição das alterações</b> |
|----------------------|---------------------------------|
| -----                |                                 |
|                      |                                 |

## **10. ANEXOS**

Não se aplica

TÍTULO: ISOLAMENTO BACTERIANO DE SOLO PARA COLEÇÃO DE BACTÉRIAS DA AMAZÔNIA

Código: ILMD-SCOL-POP.002

Revisão/Ano: 00/2018

## 11. FOLHA DE APROVAÇÃO

### Elaboração

\_\_\_\_\_  
**Michele Silva de Jesus**  
Tecnologista em Saúde Pública  
Data: \_\_/\_\_/2018

### Verificação

\_\_\_\_\_  
**Ormezinda Celeste Cristo Fernandes**  
Pesquisadora em Saúde Pública  
Data: \_\_/\_\_/2018

\_\_\_\_\_  
**Itapuan A. da Silva**  
Coordenador da Qualidade  
Data: \_\_/\_\_/2018

### Aprovação

\_\_\_\_\_  
**Felipe Gomes Naveca**  
Vice-diretor de Pesquisa e Inovação  
Data: \_\_/\_\_/2018