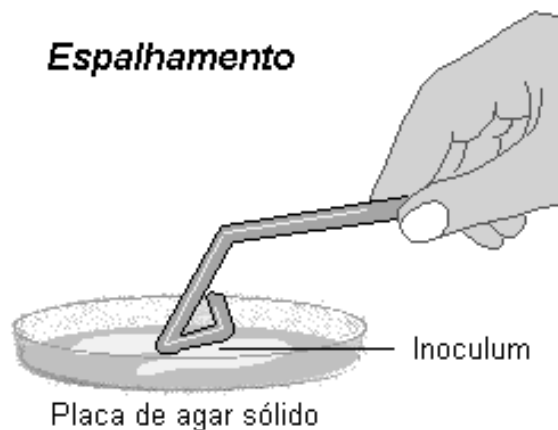


TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO DE CULTURA EM MEIO SÓLIDO

Por espalhamento

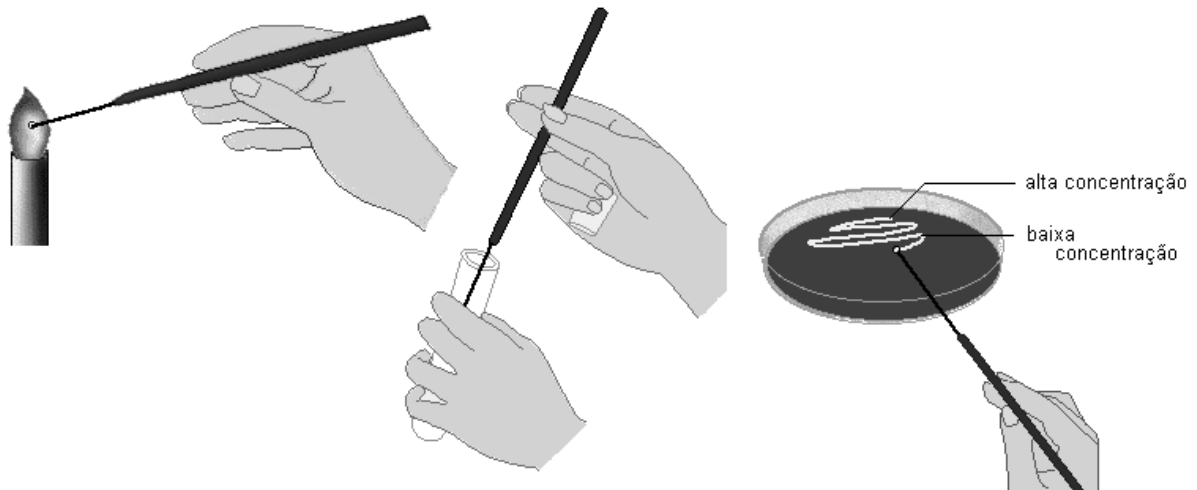
Se aplicarmos uma alíquota de cultura bacteriana líquida ou suspensão de bactérias sobre a superfície de um meio com agar numa caixa de Petri, e se a espalharmos uniformemente com uma vareta de vidro dobrada (semeador de vidro) ou com o auxílio de pequenas esferas de vidro esterilizadas, de tal maneira que as células bacterianas presentes fiquem uniformemente afastadas umas das outras, após incubação obteremos colónias individualizadas.



Para o sucesso no isolamento de colónias pela técnica do espalhamento é necessário que o número de bactérias viáveis presentes seja discreto e não muito elevado. Para uma placa de Petri de 10 cm de diâmetro é adequado utilizar um número de bactérias da ordem da centena. Se o número de bactérias total da suspensão a usar não é conhecido, deverão efectuar-se diluições prévias do inóculo.

Por Riscado

A técnica conhecida como riscado é das mais frequentemente empregues em microbiologia para o isolamento de colónias, dada a facilidade da sua execução.



Existem várias técnicas de riscado, todas elas dando excelentes resultados se executadas correctamente. O objectivo do riscado é o de produzir colónias bem separadas umas das outras a partir de uma suspensão de células concentrada. As células ficam muito juntas no início do riscado, dando colónias confluentes, mas à medida que o riscado continua cada vez menos células permanecem na ansa ocasionando a que se depositem cada vez mais afastadas umas das outras no meio de cultura, formando colónias cada vez mais separadas (Ver Figura). Uma boa placa de riscado resulta de vários movimentos contínuos ou descontínuos (com esterilização à chama e arrefecimento) da ansa ou sementeador ao longo da placa.

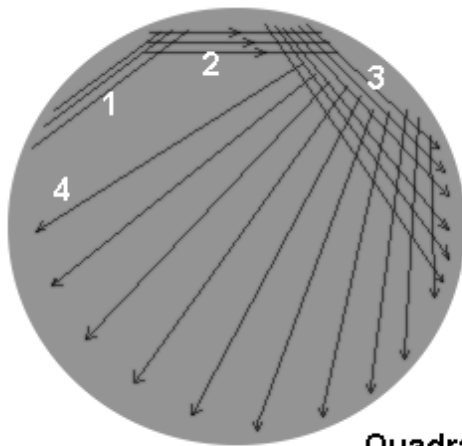
Antes de executar os seus riscados em placa atente na demonstração feita, dando especial atenção à esterilização da ansa entre cada série de riscos, bem como ao seu arrefecimento subsequente (para não inactivar as células a que vai tocar a seguir).

Procedimento geral

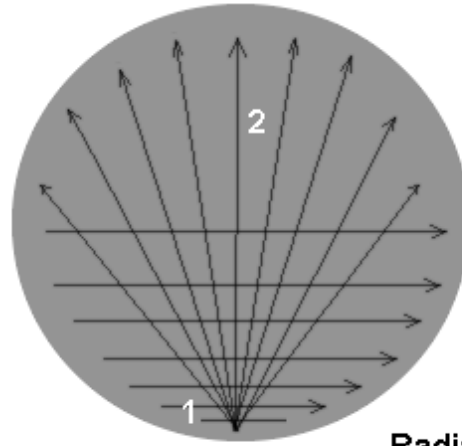
Utilize placas de Petri com LB/agar/amp. Com a ansa de inoculação, risque cuidadosamente uma cultura mista sobre as placas utilizando uma das técnicas ilustradas na figura. Preste atenção à força com que aplica a ansa na superfície do agar, de forma a não a rasgar.

Coloque as placas, em posição invertida, na estufa de incubação a 37°C. Não esquecer de identificar convenientemente as placas com o seu nome, data e conteúdo.

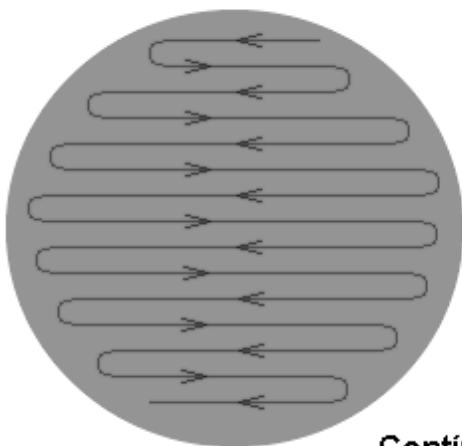
Após incubação, estude o crescimento bacteriano das nas placas. Observe as diferenças em termos de forma, tamanho e aparência das colónias formadas. Avalie se a técnica de riscado foi aplicada correctamente para o isolamento de colónias.



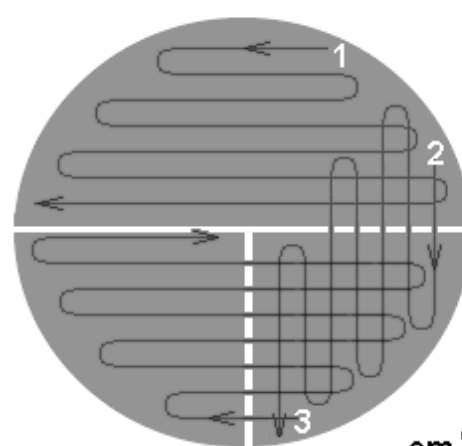
Quadrante



Radiante



Contínuo



em T