



PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

TÍTULO: CONSERVAÇÃO BACTERIANA A -20 °C PARA COLEÇÕES BIOLÓGICAS

Código: ILMD-SCOL-POP.003

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 bactérias a -20°C 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 a -20°C.

03. RESPONSABILIDADES

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

04. DEFINIÇÕES

A conservação a -20°C é uma metodologia de congelamento comum que consiste na utilização de freezers com temperaturas entre -4 e -20°C. Considerada uma conservação de médio prazo, diminui o metabolismo bacteriano e utiliza agentes crioprotetores como glicerol para

Data de Aprovação

__/__/2018

Página: 1/4

reduzir ou eliminar fatores destrutivos das estruturas celulares durante o processo de congelamento.

05. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SMITH,D.; RYAN,M.J.; DAY, J.G. The UK National Culture Collection (UKNCC) Biological Resource: Properties, Maintenance and Management. Capítulo 04 Preservation methodology, 2001;

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 10 ed, p.967, 2011.

06. SIGLAS:

ILMD – Instituto Leônidas e Maria Deane;

POP - Procedimento Operacional Padrão

TSB – Caldo Triptona de Soja

UV- Ultra violeta

07. CONDIÇÕES DE BIOSSEGURANÇA

Este ensaio deve ser realizado em cabine de segurança biológica, utilizando jaleco, 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

8.1.2. Reagentes

- Meio de cultura TSB
- Glicerol

8.1.3. Equipamento

- Estufa bacteriológica
- Cabine de Segurança Biológica
- Freezer a -20°C

8.2 Descrições 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. Conservação de Bactérias à -20°C

- A partir do crescimento de colônias bacterianas identificadas e puras é realizada a transferência de 2 a 3 colônias para o caldo TSB previamente esterilizado em tubos de criopreservação de 2,0ml;
- Colocar os tubos de criopreservação com a cultura em estufa bacteriológica a 37°C por 18-24 horas, dependendo do tempo de crescimento cada micro-organismo bacteriano;
- Após o crescimento bacteriano, observado pela turvação do meio de cultura, será acrescentado glicerol a 20%;
- Armazena a cultura conservada em freezer a -20°C

09.ALTERAÇÕES EM RELAÇÃO A REVISÃO ANTERIOR

Item alterado	Descrição das alterações

10. ANEXOS

Não se aplica

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