



PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

TÍTULO: TÉCNICA DE CONSERVAÇÃO- LIOFILIZAÇÃO PARA COLEÇÃO DE BACTÉRIAS DA AMAZÔNIA

Código: ILMD-SCOL-POP.004

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 através do método de liofilização 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 liofilização para conservação de bactérias.

03. RESPONSABILIDADES

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

04. DEFINIÇÕES

A conservação de micro-organismos bacterianos através da técnica de liofilização está baseada na desidratação rápida das culturas que se encontram, previamente congeladas. Esse processo é caracterizado pela remoção do vapor de água presente nas amostras que serão liofilizadas que sob condições de vácuo será submetido ao processo de sublimação.

Data de Aprovação

__/__/2018

Página: 1/4

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.

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

MORGAN, C. A.; HERMAN, N.; WHITE, P. A.; VESEY, G. Preservation of micro-organisms by drying; a review. Journal of Microbiological Methods v. 66, p. 183-193, 2006.

06. SIGLAS:

ILMD – Instituto Leônidas e Maria Deane;

POP - Procedimento Operacional Padrão

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

- Placa de petri
- Tubos para liofilização
- Pipeta de 1,0 ml

8.1.2. Reagentes

- Leite desnatado ou skim milk

8.1.3. Equipamento

- Liofilizador
- Bomba a vácuo
- 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. Conservação de Bactérias por liofilização

- A partir do crescimento de colônias bacterianas puras e identificadas transfere-se 1,0 ml de leite desnatado ou skim milk;
- Homogeneizar o leite com as colônias bacterianas presentes no meio de cultura, de modo que todas as colônias formem uma suspensão homogenia

- Transferir 1,0 ml da suspensão para tubos de liofilização, previamente esterilizados;
- Colocar os tubos com a suspensão bacteriana para congelamento por 24 horas;
- Após o congelamento, observar se todas as amostras estão corretamente congeladas;
- Com as amostras congeladas, colocar os tubos imediatamente no liofilizador sem que ocorra descongelamento das amostras;
- O tempo para liofilização dependerá do volume da amostra, para 1,0 ml de suspensão bacteriana liofilizar por 24 horas;
- Após o período de 24 horas, retirar os tubos do liofilizador e armazenar em temperatura ambiente ou em freezer comum.

09.ALTERAÇÕES EM RELAÇÃO A REVISÃO ANTERIOR

Item alterado	Descrição das alterações

Cópia Controlada

10. ANEXOS

Não se aplica

11. FOLHA DE APROVAÇÃO

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