

# POP

HUAB-UFRN/EBSERH

## PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

Versão: 1 | 2025



## 1. OBJETIVO(S)

Descrever as instruções básicas para a preparação dos meios de cultura utilizados no setor de microbiologia da Unidade de Análises Clínicas do HUAB.

## 2. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

- Usar Equipamento de Proteção Individual (EPIs) para o preparo de meios de cultura (máscaras, jaleco de manga longa e touca),
- Observar os riscos indicados nos rótulos dos frascos de meios de culturas e de reagentes químicos e fazer uso de EPIs específicos;
- Usar vidrarias limpas, secas e sem trincos ou defeitos;
- Utilizar vidraria em vidro neutro temperado, termo resistente com parede uniforme;
- Esterilizar a vidraria pelo processo de calor seco;
- Usar água destilada, deionizada, ou produzida por osmose reversa na preparação de meios de cultura e soluções;
- Hidratar os meios comerciais em pequena quantidade de água até que todo o meio fique úmido e somente depois acrescentar o restante da água;
- Dissolver os meios líquidos e soluções com agitação e leve aquecimento (não deixar ferver);
- Aquecer os meios contendo Ágar até ferver com constante agitação. A parede da vidraria deve estar lisa sem pontos de Ágar. Caso observe pontos, a fervura não foi suficiente para a total dissolução. Retornar ao fogo para finalizar o procedimento;
- Usar vidro termo resistente tipo Pyrex e aquecer sobre a tela de amianto ou similar e tripé, no bico de Bunsen ou em placa aquecedora, sempre que for necessário o aquecimento dos meios;
- Usar sempre luvas térmicas apropriadas para laboratório para manipular vidrarias quentes;
- Obedecer às recomendações do fabricante;
- Esterilizar, obrigatoriamente, os tubos, frascos, placas, pipetas e vidrarias ou materiais auxiliares quando distribuir o meio após a autoclavação;
- Autoclavar os meios com as tampas semiabertas, para que a esterilização seja por igual em todo o conteúdo dos tubos. Tampas fechadas não permitem a entrada do vapor.
- Normalmente, o tempo de esterilização em autoclave é de 15 minutos e a temperatura de 121°C.

Preparo dos meios de cultura**Ágar sangue**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Retirar da autoclave e resfriar até 50°C;
- Adicionar 50mL de sangue de carneiro para cada litro de meio base;
- Deixar esfriar à temperatura ambiente.
- Atentar para a validade (4 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

**Ágar chocolate**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Retirar da autoclave e resfriar até 50°C;
- Adicionar 50mL de sangue de carneiro para cada litro de meio base;
- Homogeneizar em fogo brando até achocolatar o meio;
- Resfriar o meio até 50°C e adicionar assepticamente o suplemento VX (10mL de suplemento/litro de meio);
- Distribuir assepticamente em placas de Petri;
- Deixar em temperatura ambiente até esfriar.
- Atentar para a validade (3 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

**Ágar CLED**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Distribuir 20 a 25mL em placas de Petri estéreis;
- Deixar esfriar em temperatura ambiente.
- Atentar para a validade (4 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

### Ágar MacConkey

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Deixar esfriar até 60°C e distribuir 25mL em cada placa estéril;
- Deixar solidificar à temperatura ambiente.
- Atentar para a validade (4 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

### Ágar manitol

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Deixar esfriar até 60°C e distribuir 25mL em cada placa estéril;
- Deixar solidificar à temperatura ambiente.
- Atentar para a validade (4 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

### Ágar Mueller-Hinton

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Acertar o pH (7,2-7,4);
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Retirar da autoclave e medir novamente o Ph;
- Distribuir 50 a 60mL em cada placa;
- Deixar resfriar à temperatura ambiente.
- Atentar para a validade (4 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

### Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI)

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Ajustar o pH para 7,3 ±0,2;
- Distribuir 5 mL em tubos com tampas de rosca;
- Esterilizar em autoclave (121°C por 15 minutos);
- Retirar os tubos da autoclave e incliná-los ainda quentes para que solidifiquem com a

superfície inclinada (ângulo de 45°);

- Deixar solidificar em temperatura ambiente.
- Atentar para a validade (6 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

### **Ágar Bile Esculina**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob constante agitação, até completa dissolução do ágar;
- Distribuir 3mL em tubos de 11 x 100mm com tampa de rosca;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Retirar da autoclave e inclinar os tubos com ângulo de 45° para formar uma superfície inclinada no ágar.
- Atentar para a validade (6 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

### **Ágar fenilalanina**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Distribuir 5mL em tubos com tampa de rosca de 11 x 100mm;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos com as tampas semirrosqueadas;
- Retirar da autoclave, rosquear as tampas e inclinar os tubos em ângulo de 45° para formar uma superfície no meio.
- Atentar para a validade (6 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

### **Ágar Indol Sulfeto Motilidade (SIM)**

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação, até fundir o meio;
- Distribuir aproximadamente 3,0mL em tubos com tampas de rosca;
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos;
- Retirar os tubos da autoclave (121°C por 15 minutos);
- Deixar solidificar em temperatura ambiente na posição vertical.
- Atentar para a validade (6 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

## Citrato de Simmons

- Pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante;
- Aquecer sob agitação constante até dissolver o ágar;
- Distribuir 5mL em tubos de 11 x 100mm com tampa de rosca;
- Autoclavar a 121°C por 15 minutos;
- Retirar da autoclave, inclinar os tubos com ângulo de 45° e deixar solidificar;
- Fechar bem a tampa do tubo.
- Atentar para a validade (6 meses, se conservado embalado de 2 a 8 °C).

## CONTROLE DE QUALIDADE

O teste de esterilidade é realizado colocando o meio de cultura sem ter sido inoculado previamente em estufa a 35 ±2°C por 24 horas. Não deve haver mudança de cor nem crescimento de qualquer colônia.

Para o controle de crescimento, sempre que possível usar cepas ATCC ou culturas comerciais com propriedades equivalentes comprovadas para avaliação de desempenho dos meios de cultura e de outras soluções preparadas no laboratório.

Após o teste, embalar os meios em sacolas, colocar etiquetas com a data de fabricação e validade e guardar na geladeira reservada para os meios de cultura.

## 3.REFERÊNCIAS

EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES: **POP.UACAP.030 PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA**. v.3. João Pessoa, 2025.

**4. HISTÓRICO DE REVISÃO**

<b>Versão</b>	<b>Data</b>	<b>Descrição da atualização</b>
1	19/08/2025	Versão inicial do documento.

**5. RESPONSÁVEIS PELO DOCUMENTO**

<b>Elaboração</b> Nahara de Medeiros Cabral Axiole - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS Nayany Mayara Lucena dos Santos - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS Jeane Alves Freire - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS	Data: 19/08/2025
<b>Análise</b> Nahara de Medeiros Cabral Axiole - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS	Data: 19/08/2025
<b>Validação</b> Wilton Nogueira de Abreu - STGQ/SUP Franciane Carla de Souza Bento - STGQ/SUP	Data: 28/10/2025
<b>Aprovação</b> Kellynton Diego Dantas de Souza - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS	Data: 28/10/2025

*Permitida a reprodução parcial ou total, desde que indicada a fonte e sem fins lucrativos. © Ano 2025, Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares. Todos os direitos reservados [www.ebserh.gov.br](http://www.ebserh.gov.br)*

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ANA BEZERRA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
Praça Tequinha Farias, nº 13 - Bairro Centro, Santa Cruz/RN, CEP 59200-000  
- <http://huab-ufrn.ebserh.gov.br>

Certidão - SEI

Processo nº 23527.007574/2025-31

Interessado: @interessados\_virgula\_espaco@

**CERTIDÃO DE ASSINATURAS**  
**POP PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA.POP.UDIDE.073 - versão 1**  
**RESPONSÁVEIS PELO DOCUMENTO**

<p><b>Elaboração</b></p> <p>Nahara de Medeiros Cabral Axiole - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS</p> <p>Nayany Mayara Lucena dos Santos - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS</p> <p>Jeane Alves Freire - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS</p>	<p>Data: 19/08/2025</p>
<p><b>Análise</b></p> <p>Nahara de Medeiros Cabral Axiole - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS</p>	<p>Data: 19/08/2025</p>
<p><b>Validação</b></p> <p>Wilton Nogueira de Abreu - STGQ/SUP</p> <p>Franciane Carla de Souza Bento - STGQ/SUP</p>	<p>Data:</p>
<p><b>Aprovação</b></p> <p>Kellynton Diego Dantas de Souza - UDIDE/STMIM/DCDT/GAS</p>	<p>Data:</p>



Documento assinado eletronicamente por **Nahara de Medeiros Cabral Axiole, Biomédico(a)**, em 29/10/2025, às 16:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, caput, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Kellynton Diego Dantas de Souza, Chefe de Unidade**, em 30/10/2025, às 15:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, caput, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jeane Alves Freire, Técnico(a) em Laboratório de Patologia Clínica**, em 03/11/2025, às 14:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, caput, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nayany Mayara Lucena Santos, Técnico(a) em Análises Clínicas**, em 04/11/2025, às 11:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, caput, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Wilton Nogueira de Abreu, Técnico(a) em Enfermagem**, em 06/11/2025, às 10:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, caput, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ebserh.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ebserh.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **54744564** e o código CRC **E56AA09D**.

---