



CÓPIA NÃO CONTROLADA



PE-2P&D-01590 Versão A

Padrão ATIVO

PREPARO DE MEIO DE CULTURA POSTGATE "E" MODIFICADO PARA BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO MESÓFILAS (M-BRS)

Aprovado por Juliana Vaz Bevilaqua/BRA/Petrobras (CENPES/PDIDMS/PPL/LABP) em 18 de jul de 2017 | Gerido por CENPES/PDIDMS/PPL/LABP

CADASTROTipo

PE - Padrão de Execução

Nível

Nível 2 - Área / Gerência Executiva

Sigla

P&D

Abrangência desse Padrão

CENPES - Pesquisa e Desenvolvimento

Aprovador

CENPES/PDIDMS/PPL/LABP

ANP

Não

Outros FiltrosInstalaçãoPalavras-chave

Laboratório; Meio de cultura

Escopo da Certificação/Sistema de GestãoRequisitoMacroprocesso

Gerir Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação

Processo

Realizar ensaios de biotecnologia

Responsável Padronização

RH/DO/CLTG

VALIDAÇÃO**Padrão entrou em validação em . Prazo para validação: dias (até)**

| Nome | Status | Data da Validação |
|------|--------|-------------------|
|------|--------|-------------------|

1. OBJETIVO

Este procedimento visa estabelecer uma metodologia para preparo de meio de cultura que será utilizado na detecção e quantificação de Bactérias Redutoras de Sulfato Mesófilas, podendo ser também utilizado na preservação do microrganismo.

2. ABRANGÊNCIA

Este padrão se aplica à Biotecnologia.

3. DESCRIÇÃO

3.1. Materiais e reagentes

3.1.1. Materiais

- . Bécheres
- . Bastão de Vidro
- . Balão volumétrico
- . Placa de agitação e aquecimento
- . Nitrogênio (N₂)
- . Frascos tipo antibiótico
- . Selo de alumínio
- . Tampa septo
- . Seladora manual ou elétrica
- . Mangueira de silicone
- . Pedra porosa para purga

3.1.2. Reagentes

KH₂PO₄ 0,5 g

NH₄Cl 1,0 g

Na_2SO_4 1,0 g

$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,0 g

$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,83 g

Ácido ascórbico 0,1 g

Extrato de levedura 1,0 g

Lactato de sódio (50% p/v) 7,0 mL

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g

Agar-agar 1,9 g

Resazurina (0,025% p/v) 4,0 mL

Tioglicolato de sódio 0,124 g(*)

Água dest. ou água do mar sintética** 1000 mL

pH (após autoclavação) 7,6

Solução 1: *Solução de Tioglicolato de sódio.*

Tioglicolato de sódio 1,24 g

Água destilada 100 mL

3.2. Procedimento de preparo

O agar-agar é cozido separadamente com uma pequena quantidade de água. Observa-se no ponto de solubilização do agar-agar uma alteração na turbidez. A solução torna-se translúcida. Iniciar a purga com N_2 , mantendo-a até o final da distribuição do meio. Aguardar o resfriamento para acrescentar os outros componentes. O $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e a Resazurina devem ser adicionados por último. Distribuir o meio em frascos tipo antibiótico, e então, tampá-los e selá-los. Proceder à esterilização em autoclave, por 15 minutos a $121\text{ }^\circ\text{C}$ ($1,1\text{ Kg/cm}^2$).

(*) Preparar uma solução concentrada de tioglicolato de sódio (solução 1) esterilizar em autoclave por 15 min., à 121 °C (1,1 Kg/cm²). Adicionar, usando seringa estéril, alíquotas de 0,1 mL de solução concentrada de tioglicolato de sódio para cada 9 mL de meio Postgate E modificado. Esta solução deve ser adicionada após o resfriamento do meio.

(**) Para amostras que possuam salinidade baixa, inferior a 8 g de NaCl/L, os meios de cultura não necessitarão da adição de NaCl. Os meios de cultura para incubação de amostras de salinidade, superior a 8 g de NaCl/L e inferior a 35 g de NaCl/L, deverão ser preparados com água destilada e cloreto de sódio (NaCl) suficiente para o ajuste da salinidade. Já, amostras de salinidade igual ou superior a 35 g de NaCl/L deverão ter seus meios de cultura preparados com água do mar sintética ajustada para sua própria salinidade.

Estabilidade e Estocagem:

O meio é estocado em condições anaeróbias, à temperatura média de 22 °C, por longo período. Caso apresente leve coloração alaranjada ou enegrecida, deverá ser descartado.

3.3. Considerações relativas ao meio ambiente

Todos os resíduos gerados nesta atividade devem ser tratados de acordo com o PE-2P&D-01494 (Descontaminação e lavagem de materiais).

3.4. Considerações relativas à saúde e segurança

A autoclave deve ser monitorada com atenção (observação da queda e do aumento da pressão e da temperatura), visto trabalhar sob alta temperatura e pressão. Em caso de sobrepressão, o equipamento deve ser desligado e o plano de manutenção preventiva acionado.

O operador não deve se ausentar do laboratório enquanto a operação não estiver concluída (prática recomendada).

O manuseio da autoclave e do material esterilizado pela mesma ainda quente, deve ser feito com luvas apropriadas.

É obrigatório o uso de óculos de segurança e luvas apropriadas para material quente no momento da abertura do autoclave, assim como na retirada e transporte do material.

Se o material autoclavado for retirado do equipamento ainda quente, o mesmo deve ser colocado sobre a bancada e a área sinalizada - CUIDADO: SUPERFÍCIE QUENTE.

É obrigatório o uso do jaleco e sapato de segurança durante a realização de todas as atividades em laboratório.

O manômetro do autoclave é um equipamento crítico de SMS e por isso é calibrado periodicamente. O certificado deve ser arquivado no laboratório e no sistema SAP. Antes de ligar o autoclave devemos observar se o nível de água está correto, caso não esteja completá-lo.

Observar os cuidados relativos a esterilização do meio na autoclave, orientando-se pelo PE-2P&D-01504 (Esterilização por calor úmido em autoclave).

4. REGISTROS

Não aplicável.

5. DEFINIÇÕES

5.1. Definição

Autoridade - Atribuição de aprovar ou decidir

Responsabilidade - Atribuição de executar ou providenciar a execução

POSTGATE "E" - Meio de cultura específico

5.2. Siglas

M-BRS - Bactérias Redutoras de Sulfato Mesófilas

PE - Padrão de Execução

As abreviaturas referentes às unidades organizacionais do CENPES encontram-se descritas no SINPEP/Administração do SINPEP/Órgãos.

6. REFERÊNCIAS

Relatório Técnico SUPESQ/SEBIO 14/98 - Técnicas microbiológicas aplicadas ao diagnóstico de processo corrosivo influenciado por microrganismos

7. ANEXOS

Não aplicável.

HISTÓRICO

| Data | Ação |
|------------------------|--|
| 18/07/2017 07:18:12 | Leonardo Suhett de Souza/BRA/Petrobras - Criou o documento |
| 18/07/2017 07:28:14 | Leonardo Suhett de Souza/BRA/Petrobras - Enviou para aprovação. |
| 18/07/2017 10:49:47 | Juliana Vaz Bevilaqua/BRA/Petrobras - Aprovou o documento e ele se tornou "Ativo". |
| 26/12/2017 13:05:07 | Manoel Milla Dominguez/BRA/Petrobras - Alterou Macroprocesso/Processo |

SUMÁRIO DE REVISÕES

| Revisão | Data | Descrição |
|---------|------------|--|
| A | 18/07/2017 | [08/10/2020 10:04:51] - O usuário SINPEP, Paulo Ricardo Meirelles de Freitas, executou a ação "Substituir Gestor e/ou Aprovador" a qual alterou o Gestor do padrão de CENPES/PDISO/BIO para CENPES/PDIDMS/PPL/LABP. Solicitação(ões) de Revisão Aprovada: Sugestão: Padrão vencido com análise crítica expirada. Favor enviar para o responsável pelo padrão, que é a Vanessa Volaro – B99L ou outro técnico atuante no padrão atualmente. |
| 0 | 27/03/2017 | [27/03/2017 21:15:54] - Criado a partir da migração do Padrão PE-4CE-00097-D na base SINPEP CENPES. |

ANALISE CRITICA

Data limite para análise

6 de jan de 2023

Análise crítica

O padrão não necessita de alteração.

Responsável análise

LEONARDO SUHETT DE SOUZA

Data da análise crítica

06/04/2021

LISTA DE DISTRIBUIÇÃO

CENPES/PDIDMS/PPL/LABP

*****ÚLTIMA FOLHA DO PADRÃO*****