

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

MARIANA AMARAL AZEVEDO

Aulas práticas de Microbiologia online para alunos de
graduação em Ciências Biológicas: elaboração de materiais
didáticos

SOROCABA – SP

2021

MARIANA AMARAL AZEVEDO

AULAS PRÁTICAS DE MICROBIOLOGIA ONLINE PARA ALUNOS DE
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: ELABORAÇÃO DE
MATERIAIS DIDÁTICOS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências
Humanas e Biológicas da Universidade
Federal de São Carlos *campus* Sorocaba,
para obtenção do título de Licenciatura
em Ciências Biológicas.

Orientação: Prof.^a Dr.^a Iolanda Cristina
Silveira Duarte

Sorocaba – SP

2021

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARIANA AMARAL AZEVEDO

*Aulas práticas de microbiologia online para alunos de
graduação em ciências biológicas: elaboração de materiais
didáticos*

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para
obtenção do grau de licenciado no curso de ciências Biológicas – Licenciatura
Plena, da Universidade Federal de São Carlos Campus de Sorocaba.**


Sorocaba, 18 de novembro de 2021.



Orientadora: _____
Prof.^a Dr.^a Iolanda Cristina Silveira Duarte



Examinador: _____
Prof. Dr. Hylío Laganá Fernandes



Examinadora: _____
Dr.^a Maria dos Remédios Araújo Vieira Neta

RESUMO

Devido as restrições impostas como medida de contenção da disseminação do vírus causador da COVID-19, as aulas presenciais foram suspensas e a modalidade de ensino remoto foi utilizada. Assim a disciplina Microbiologia dos Procariontes da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) ofertada aos cursos de graduação em Ciências Biológicas foi adaptada para ser ministrada de forma remota. No entanto, 50% da carga horária dessa disciplina corresponde a aulas práticas em laboratório didático. Dessa forma, o objetivo desse trabalho de conclusão de curso foi adaptar a apostila de roteiros de aulas práticas para o ensino remoto, bem como a elaboração de videoaulas com as referidas práticas. O conteúdo e roteiro dos vídeos foi baseado nos livros didáticos de Microbiologia, totalizando a produção de cinco vídeos das temáticas: coloração de Gram, antibiograma, técnicas tradicionais em microbiologia e assepsia. Essa disciplina foi ministrada para 45 alunos dos cursos de Ciências Biológicas (licenciatura e bacharelado) e estes foram contemplados com o material produzido. No final do período de oferta foi enviado aos alunos um questionário para a avaliação das aulas remotas, incluindo a qualidade da apostila e o material audiovisual. Ao todo, 23 alunos responderam ao questionário, sendo que destes, 100% afirmaram que a qualidade dos vídeos era Boa ou Muito Boa, sendo que auxiliaram na fixação e aprendizado dos conteúdos reduzindo os impactos negativos da não oferta de aulas presenciais. A apostila e os vídeos produzidos estão sendo utilizados como ferramenta didática nas ofertas atuais. Ressalta-se que materiais didáticos audiovisuais são uma ferramenta importante para o ensino remoto. Esses materiais poderão ser adotados também como ferramenta de aprendizagem no ensino presencial.

Palavras-chave: ensino remoto, microrganismos, aprendizagem, vídeos didáticos

ABSTRACT

Limitations due to the restrictions imposed as a measure to contain the spread of the virus that causes COVID-19, face-to-face classes were suspended and remote teaching was used. Thus, the discipline of Microbiology of Prokaryotes at the Federal University of São Carlos (UFSCar) offered to undergraduate students in Biological Sciences were adapted to be taught online. However, 50% of the workload of this class corresponds to practical classes in a didactic laboratory. Thus, the objective of this project was to adapt the handout of practical lessons scripts for online teaching, as well as the preparation of video lessons with laboratory practices. The content and script of the videos were based on microbiology textbooks, totalling the production of five videos on the themes: Gram stain, antibiogram, traditional techniques in microbiology, and asepsis. This discipline was taught to 45 students from Biological Sciences courses (undergraduate and bachelor's degree) and these were awarded the material produced. At the end of the offer period, a questionnaire was sent to all students for the evaluation of the online classes, including the quality of the handout and audio-visual material. In the end, 23 students answered the questionnaire, and of these, 100% said that the quality of the videos was Good or Very Good, and they helped to adapt and adjust resources for the negative impacts of not offering in-person classes. The handout and videos available are being used as a teaching tool in current offers. It is noteworthy that audio-visual materials are an important tool for remote teaching. These materials are also adopted as a learning tool in face-to-face teaching.

Keywords: e-learning, microorganisms, apprenticeship, educational videos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. METODOLOGIA	9
2.1. DISCIPLINA-ALVO	9
2.2. ADAPTAÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS PARA O ENSINO REMOTO	10
2.3. DESCRIÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS E SUAS ADAPTAÇÕES	10
2.4. AVALIAÇÃO DOS VÍDEOS	13
2.5. QUESTIONÁRIO: AVALIAÇÃO DA DISCIPLINA	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1. CONTEÚDO CURRICULAR PRÁTICO ABORDADO	15
3.2. VIDEOAULAS	16
3.3. AUTO AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE APRENDIZAGEM	18
4. CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS	22
APÊNDICE A – APOSTILA DE MICROBIOLOGIA DOS PROCARIONTES	28

1. INTRODUÇÃO

A pandemia de COVID-19 causada pelo novo coronavírus, o SARS-Cov-2, se iniciou em 2020, quando os diversos países começaram a registrar casos de pessoas infectadas em territórios distantes ao do epicentro da doença em Wuhan, na China (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2020; WHO, 2020). Em março de 2020, começaram a ser tomadas medidas restritivas para interromper a propagação do vírus, o que forçou instituições e docentes a modificarem suas metodologias de ensino para se encaixarem em um modelo remoto (SMALLEY, 2020). A inesperada e rápida transição mostrou as dificuldades em se adaptar as aulas práticas (ALVAREZ, 2021) para uma versão remota. Muitas questões surgiram em como converter uma aula prática em uma aula remota sem que haja perda da aprendizagem ativa (MAYER, 2014; FREEMAN *et al.*, 2014), como abordar conteúdos essencialmente práticos, sem causar prejuízos no processo de aprendizagem.

No caso específico a Universidade Federal de São Carlos a administração anunciou que o ensino presencial seria suspenso por tempo indeterminado devido à pandemia da COVID-19, e o Ensino Não Presencial Emergencial (ENPE 1 e 2) foram sustentados pelas resoluções do Conselho de Graduação (CoG) nº 329, 330 e 342 de julho e dezembro de 2020, a regulamentação de mais dois períodos letivos remotos foram feitas pelo CoG nº 371 (PROGRAD, 2021).

Os docentes enfrentaram inúmeros problemas durante a transição educacional. Dentre eles se destacam as desigualdades expostas pelo ensino remoto ocasionando a exclusão digital, tanto de educandos sem acesso à internet ou sem os recursos tecnológicos para acompanhar as aulas; a dificuldade em manter o foco no ambiente virtual; transição de experiências práticas para o aprendizado remoto e a inexperiência com o ensino e metodologias de aprendizado remoto (DB, 2020; SHIM e LEE, 2020; SENN e WESSNER, 2021) tanto da maioria dos docentes e discentes.

Consequentemente, as primeiras publicações demonstraram a insatisfação dos estudantes com a mudança do presencial para o remoto (SENN e WESSNER, 2021). Patch (2020) investigou o impacto da pandemia no progresso acadêmico e chegou ao resultado que apenas 15% dos estudantes de graduação e pós-graduação consideravam aulas remotas tão eficazes quanto as presenciais (TOP HAT, 2020). Já o interesse, durante a pandemia, 78% dos estudantes do ensino superior consideraram as aulas remotas desinteressantes e 75% afirmaram que perderam as interações face a face, em contrapartida os níveis de estresse e ansiedade

tiveram aumentos relativos devido à pandemia. Com relação à satisfação para com o curso antes da pandemia 51% se sentiam muito satisfeitos, na pandemia, apenas 19% mantiveram a opinião (MEANS e NEISLER, 2020; WANG *et al.*, 2020).

Um outro problema que pode ser destacado aqui é a possível falta de material didático disponível para os alunos. Conforme o educando ascende em seus estudos os materiais e exercícios disponíveis são menos acessíveis, segundo a US Government Accountability Office (GAO) (2013) entre 2002 e 2013 os preços de livros escolares aumentaram 82% (SENACK e DONOGHUE, 2016). Além disso, muitos materiais são para o ensino presencial (BROGUN *et al.*, 2021) e poucos recursos para o ensino remoto. Para minimizar este problema, em 2021, a UFSCar adquiriu a Biblioteca Virtual Pearson, acervo digital composto por mais de 9 mil títulos com temáticas abrangendo a maioria das áreas do conhecimento, especificamente para a área de microbiologia são 35 livros dentre eles destaca-se aqui: Microbiologia de Brock - 10ª edição (MADIGAN *et al.*, 2016) e Coleção Biotecnologia Industrial vol. 1, 2, 3 e 4 (SCHIMIDELL *et al.*, 2001) (SIBI, 2021).

Nos cursos de graduação em Ciências Biológicas, disciplinas como biologia celular, bioquímica, botânica, microbiologia, genética molecular e anatomia são exemplos em que as atividades laboratoriais complementam o conteúdo teórico e permitem o desenvolvimento significativo do aprendizado, aprofundando os conteúdos, que seriam superficiais apenas com a teoria (GOBAW e ATAGANA, 2016; DYRBERG; TREUSCH; WIEGAND, 2017; BLUMER e BECK, 2018; MUTCH-JONES *et al.*, 2020). As aulas práticas presenciais são fundamentais para a exploração dos recursos visuais, facilitando a compreensão dos conteúdos, no entanto, vídeos demonstrativos dessas práticas podem ser uma alternativa que possibilite a compreensão e aprendizado do educando durante o ensino remoto (LEHMAN, 1985; MORRIS e LAMBE, 2017; CRESSWELL *et al.*, 2019; FRANCHI, 2020).

Os avanços tecnológicos já existentes possibilitaram a utilização de ferramentas multimídia, ou seja, que utilizam mais de um tipo de mídia, seja vídeos, textos, sons e animações que auxiliam na compreensão e aprendizado do educando (GUAN; SONG; LI, 2018). Mídias audiovisuais auxiliam na visualização, compreensão e expressão do conteúdo (ALEMDAG e CAGILTAY, 2018). O uso de vídeos é considerado pelos alunos uma ferramenta de estudo útil, que permite a construção do conhecimento de conceitos com alta dificuldade de compreensão, revisão, atualização com relação ao conteúdo sem o prejuízo das atividades extracurriculares (SAVERY e DUFFY, 1995; COONER, 2010; VAJOCZKI *et al.*, 2011).

Assim, para um aprendizado ativo em microbiologia, que transcenda a concepção de ensino tradicional, tecnicista e expositivo, os conteúdos necessitam de uma apresentação concisa e contextualizada, então, o uso de diferentes ferramentas como vídeos, textos e resolução de questões possibilitam a integração e associação dos processos da matéria (GALEMBECK *et al.*, 2004). Os vídeos didáticos facilitam as descrições experimentais e características microscópicas, que são difíceis de se compor sem os devidos auxílios (VILAS BÔAS; NASCIMENTO JUNIOR; MOREIRA, 2018).

Além disso, partindo de um olhar comportamental, os vídeos estão associados ao entretenimento, dessa forma, assistir um vídeo durante a aula gera uma resposta positiva do educando, demonstrando que o educador deve fazer uso dessas mídias como ferramenta de ensino (PINHO e LEPIENSKI, 2013). Nesse sentido, Anggraini *et al.* (2018) relataram o aumento da utilização de vídeos nos cursos do ensino superior. Exemplos de utilização de vídeos em substituição ou complementação de experimentos em aulas práticas pode-se citar Weber *et al.* (2016) que constataram que o uso de vídeos para ensinar a desinfecção correta das mãos antes de uma cirurgia foi mais eficaz do que as instruções verbalizadas ou escritas.

Partindo dessa problemática de como ministrar aulas práticas de forma remota durante a oferta da disciplina Biologia dos Microrganismos, este trabalho teve por objetivo adaptar, junto a docente responsável uma apostila de aula prática ilustrada, com experimentos detalhados e links para os vídeos das práticas.

2. METODOLOGIA

2.1. DISCIPLINA-ALVO

A disciplina Biologia dos Microrganismos Procariontes (60 horas, sendo 30h aulas teóricas e 30h aulas práticas), que é ministrada em perfil ímpar para os cursos de graduação: Licenciatura em Ciências Biológicas e Bacharelado em Ciências Biológicas não foi ofertada, devido à dificuldade da docente para com os recursos tecnológicos exigidos para o ensino remoto.

Durante o ENPE 2, a disciplina Biologia de Microrganismos Procariontes foi ofertada em 16 semanas (março até junho de 2021), com um total de 45 alunos matriculados de ambos os cursos de graduação. A disciplina foi ministrada com encontros síncronos pela plataforma Google Meet, com auxílio de discentes monitores.

2.2. ADAPTAÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS PARA O ENSINO REMOTO

Uma apostila de roteiros de aulas práticas foi adaptada para o ensino remoto neste trabalho. Utilizando a plataforma CANVA e Office 365 foram adicionados textos introdutórios, ilustrações e fluxogramas detalhados para cada tema de aula.

Este trabalho visou uma prática integradora que promovesse eficácia do ensino-aprendizagem durante o ensino remoto. Assim foram elaborados e gravados 6 vídeos, em que o conteúdo dos vídeos e roteiro foram baseados nos livros de Tortora *et al.* (2012), Vieira e Fernandes (2012), Madigan *et al.* (2016) e Vermelho *et al.* (2019). Os vídeos destacaram as técnicas de assepsia, técnicas usuais em microbiologia, coloração de Gram e antibiograma.

Os vídeos foram gravados em fevereiro de 2021 no Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMA) e no Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMA), foi utilizado tripé, celular, foco de luz e software Wondershare Filmora X para a gravação. No intuito de promover o envolvimento dos educandos no processo de aprendizagem e facilitar a compreensão do conteúdo tomou-se o cuidado para que os vídeos fossem de curta duração e anexados a apostila.

2.3. DESCRIÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS E SUAS ADAPTAÇÕES

Um total de 5 aulas práticas foram gravadas nas temáticas de técnicas de: Assepsia, Esterilização e Preparo de Material; Presença de Microrganismos no Ambiente; Inibição por Agentes Desinfetantes; Quantificação de Microrganismos e Análise de Coliformes em Alimentos. Para ilustrar os experimentos, todos os resultados tiveram as imagens das práticas dos anos anteriores.

A primeira aula foi sobre técnicas de assepsia, esterilização e preparo dos materiais. O vídeo teve início com a explicação sobre o preparo de meio de cultura, mais especificamente meios genéricos como o Ágar Triptona de Soja (TSA), utilizado para crescimento de bactérias e Ágar Sabouraud, utilizado no cultivo de fungos (VERMELHO *et al.*, 2019). Em seguida, foi mostrado como preparar os materiais para serem colocados na autoclave para esterilização, no qual a fita para autoclave foi destacada na aula como indicador de cor para verificação da qualidade do processo de esterilização. Os materiais foram colocados na autoclave e explicada as instruções para utilização do equipamento. Depois disso, foi mostrada a utilização da cabine de fluxo laminar, que permite a recirculação do ar, criando áreas estéreis e impedindo a contaminação externa (MADIGAN *et al.*, 2016), para despejo de meio de cultura e posterior solidificação. O descarte dos materiais, utilizando a autoclave, também foi demonstrado.

O segundo vídeo discorre sobre a presença de microrganismos no ambiente. Foi apresentado como inocular uma amostra nas placas de Petri, no caso dos microrganismos da mão foi passado o dedo indicador no TSA e, posteriormente, as placas foram armazenadas em estufa. Em seguida, mostramos que o isolamento, ou seja, a obtenção de uma cultura pura a partir de uma cultura mista – neste caso, os microrganismos da mão – pode ser realizado pela técnica de estria de esgotamento, em que com o auxílio de uma alça de inoculação parte do inóculo é retirada da cultura mista e é esgotada por meio de estrias não sobrepostas na placa. Como as colônias são claras e difíceis de serem visualizadas, utilizamos como demonstração tinta guache (Fig. 1A) para ensinar como fazer a estria. Então, foi apresentado o passo-a-passo do preparo do esfregaço em lâmina e coloração de Gram e, finalmente, como observar a lâmina em microscópio, desde ligá-lo até mudar as lentes e colocar óleo de imersão.

O terceiro vídeo destacamos a inibição de crescimento dos microrganismos por agentes desinfetantes, como demonstrador utilizamos neste vídeo uma água turvada com guache (Fig. 1B) para melhor visualização da sementeira. Depois com a pinça foram colocados os discos de papel filtro embebidos na solução desinfetante a serem avaliados na placa, previamente identificada.

Figura 1 – Utilização de Tinta Guache nos Experimentos para ilustração: (A) Estria de Esgotamento e (B) Diluição Seriada

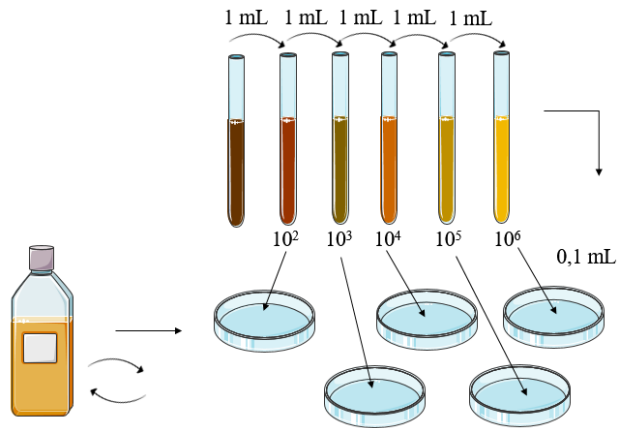


Fonte: Autoria própria (2021)

A quarta aula prática diz respeito à quantificação de microrganismos. Para fechar os tubos de ensaio foi mostrado como fazer tampões de algodão que são fundamentais para a rotina de um laboratório de microbiologia, e como é feita a diluição seriada até 10^{-4} , utilizamos novamente a tinta guache para melhor visualização (Fig. 1B). As amostras da diluição seriada foram espalhadas em placa com alça Drigalski e as colônias contadas seguindo o método de

semeadura por espalhamento. A semeadura em profundidade também foi destacada, em que o meio é colocado posteriormente à amostra (Fig. 2).

Figura 2 – Esquema representativo da semeadura em profundidade presente na apostila



Fonte: Autorial Própria, 2021

A quinta aula prática foi sobre a presença de bactérias do grupo dos coliformes em alimentos, em que demonstramos o preparo da amostra e sua transferência para tubos de ensaio. Considera-se positivo quando os tubos apresentam turbidez com presença de bolhas de gás aprisionadas nos tubinhos de Durham invertidos (Fig. 3A). Após incubação foi identificado se houve formação de bolhas e comparadas com a tabela de Número Mais Provável (NMP) da apostila. Depois, um teste com Ágar MacConkey foi feito, em que coliformes apresentam mudança no meio para rosa (Fig. 3B e 3C), sendo um teste comprobatório.

Figura 3 – Capturas do Quinto Vídeo Prático (A) Presença de Gás em tubo Durham (B) Resultado do Teste em Ágar MacConkey e (C) Explicação sobre o Ágar MacConkey



Fonte: A e B Autoria própria, 2021; C Adaptado, 2021 (MADIGAN *et al.*, 2016).

2.4. AVALIAÇÃO DOS VÍDEOS

Os vídeos foram gravados, editados e elaborados de forma empírica, tendo como base a experiência e roteiros já existentes. A posteriori, foram realizadas as análises dos vídeos de acordo com a Teoria Cognitivista da Aprendizagem Multimídia (TCAM) em que visa classificar os vídeos em 2 critérios: satisfatório ou insatisfatório para a aprendizagem (MAYER, 2001). Os princípios avaliativos são utilizados para compreender quanto os conteúdos multimídias promovem a aprendizagem e contribuem para o processo cognitivo do aluno (ARAÚJO, SOUZA e LINS, 2015).

A Multimídia tem como base o aprendizado otimizado quando utilizado palavras e imagens e não só palavras. A Contiguidade Espacial é baseada no conceito de que os estudantes têm um melhor aprendizado quando as palavras e imagens estão mais próximas, ou seja, na mesma tela, permitindo que o foco do aluno não seja dispersado. A Contiguidade Temporal é

o princípio de que o aprendizado é melhor quando imagens e textos são apresentados simultaneamente. Caso a animação e os textos sejam apresentados separadamente a probabilidade de construir conexões entre o visual e o verbal, que favoreçam na construção do conhecimento, é muito menor (MAYER, 2001).

. Com relação à Coerência, o aprendizado é melhor quando palavras, imagens ou sons irrelevantes são excluídos. A Sinalização é o princípio que a aprendizagem é melhor quando partes importantes são destacadas e quando o recurso multimídia possui uma estrutura organizada com os elementos mais relevantes. A Modalidade sugere que quando se utiliza animação, narração e texto o aprendizado é prejudicado. A Redundância sugere evitar o acúmulo de informações, evitando a redundância e a dispersão do aluno. A Personalização quando o estilo da conversação não é no estilo formal. A Voz humana é mais suscetível a melhorar o aprendizado. A Imagem deve conter o orador no vídeo (MAYER, 1999).

2.5. QUESTIONÁRIO: AVALIAÇÃO DA DISCIPLINA

Com o intuito de avaliar a efetividade dos materiais elaborados, dados foram coletados por meio de questionário semiestruturado, para avaliação da disciplina. Segundo Minayo (2004) questionários semiestruturados possibilitam ao entrevistado discorrer sobre o tema combinando perguntas fechadas e abertas, em que o entrevistado poderá discorrer sobre o tema proposto.

Esse questionário foi enviado na última semana de aula, por meio do Google Forms sem que houvesse a obrigatoriedade de ser respondido, sem identificação, sendo assim, uma autoavaliação da disciplina. Dos 45 alunos cursando a disciplina 23 responderam ao questionário (Fig. 4).

Figura 4 – Questionário Autoavaliação da Disciplina

AVALIAÇÃO DA DISCIPLINA

1. Em relação as aulas você prefere:
 a) Síncrona b) Assíncrona c) Outro: _____

2. Caso a disciplina fosse ofertada de forma assíncrona, você acha que encontros online para tirar dúvidas é:
 a) Necessário b) Desnecessário

3. Os questionários enviados foram úteis para o aprendizado?
 a) Sim b) Não c) Parcialmente d) Outro: _____

4. Você leu o roteiro de práticas da apostila?
 a) Sim b) Não c) Outro: _____

5. Você assistiu aos vídeos de práticas da apostila de aulas práticas?
 a) Sim b) Não

6. Você assistiu os vídeos do YouTube anexados no Google Classroom?
 a) Sim b) Não c) Outro: _____

7. Em relação aos vídeos que estão nas apostilas, você achou:
 a) Bom b) Muito Bom c) Ruim d) Regular e) Outro: _____

8. Você se sente preparado para realizar experimentos em um laboratório de microbiologia?
 a) Sim b) Não c) Parcialmente

9. Você teve dificuldades na realização do trabalho final?
 a) Sim b) Não

10. Você recomendaria a inscrição nesta disciplina de forma online?
 a) Sim b) Não c) Outro: _____

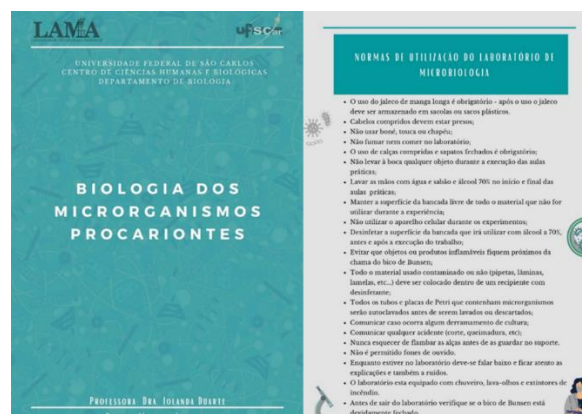
Fonte: Autoria Própria, 2021

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CONTEÚDO CURRICULAR PRÁTICO ABORDADO

A apostila adaptada possui 27 páginas (apêndice A), os Textos introdutórios e ilustrações foram inseridos em cada aula prática abordada. A representação prática foi feita pelos vídeos com adição de legendas para facilitar a compreensão (Figura 5).

Figura 5 – Apostila e Normas do Laboratório



Fonte: Autoria Própria, 2021

Como os alunos não tiveram a oportunidade de conhecerem presencialmente os laboratórios, um vídeo de 2 minutos e 41 segundos intitulado [Laboratório de Microbiologia Aplicada \(LMA\) e Laboratório de Microbiologia Ambiental \(LAMA\)](#) (Figura 6) foi gravado e editado para que os mesmos tivessem, a possibilidade de conhecer remotamente as instalações

Figura 6 – Algumas Imagens do Vídeo - Apresentação dos Laboratórios



Fonte: Autoria Própria, 2021

3.2. VIDEOAULAS

Os vídeos das práticas consistiram em uma demonstração passo a passo da realização do experimento. Alguns cortes dos vídeos estão incluídos na Figura 4.

Ao todo foram gravadas cinco videoaulas que estão no hiperlink de cada prática na legenda da Figura 7.

Analisando as vídeos-aulas produzidas segundo Mayer e Fiorella (2014) e Silva (2015) sobre o princípio da coerência, os termos desconhecidos e complexos foram explicados e simplificados objetivando a aproximação do conhecimento do indivíduo, sendo assim, satisfatório. Contudo, por não haver narração e inserida música de fundo, ou seja, um material estranho sendo, assim, considerado insatisfatório para a aprendizagem do sujeito.

Quanto ao princípio da sinalização nossos vídeos foram satisfatórios, já que utilizamos fotos para destacar estruturas ou objetos que estão sendo apontados durante o vídeo como na Fig. 7B, em que o Erlenmeyer com tampão e papel pardo englobando sua abertura é destacado durante o vídeo.

O princípio da redundância sugere que a animação acompanhada da narração proporciona um melhor aprendizado do que o agrupamento: animação, narração e texto (MAYER e FIORELLA, 2014). Dessa forma, nossos vídeos foram considerados satisfatórios pois utilizamos mídia visual e o texto, como mostrado na Fig. 7.

O princípio da contiguidade temporal destaca a otimização do aprendizado quando palavras e imagens são apresentadas ao mesmo tempo no vídeo (MAYER e FIORELLA, 2014; SILVA, 2015). A Fig. 7 I e J são exemplos disso, enquanto é feita a prática, a legenda acompanha-a até a finalização da mesma, como não há interrupção entre imagem e texto o entendimento do educando é facilitando, sendo assim considerados satisfatórios quanto a esse princípio.

O princípio da modalidade considera a compreensão facilitada do educando, quando há animação e narração ao invés de animação e texto, já que o texto pode prejudicar o acompanhamento do conteúdo (MAYER e FIORELLA, 2014). Assim, o vídeo foi considerado insatisfatório quanto a esse princípio, pois optamos por legenda e não narração.

O princípio da voz disserta sobre um melhor aprendizado quando a narração é feita por uma voz humana (MAYER e FIORELLA, 2014). Como nossos vídeos foram feitos sem narração foi caracterizado como insatisfatório quanto a esse princípio

O princípio da imagem é sobre uma pessoa na tela o que contribuiria para a narração (MAYER e FIORELLA, 2014). Nossos vídeos foram satisfatórios, já que sempre houve presença dos envolvidos na tela, como mostrado na Fig. 7.

Figura 7 – Capturas das Aulas Práticas Gravadas. A e B. [Aula Prática 1](#) – Técnicas de Assepsia, Esterilização e Preparo de Material; C e D. [Aula Prática 2](#) – Presença de Microrganismos no Ambiente; E e F. [Aula Prática 3](#) – Inibição por Agentes Desinfetantes; G e H. [Aula Prática 4](#) – Quantificação de Microrganismos; I e J. [Aula Prática 5](#) – Análise de Coliformes em Alimentos



Fonte: Autoria Própria, 2021

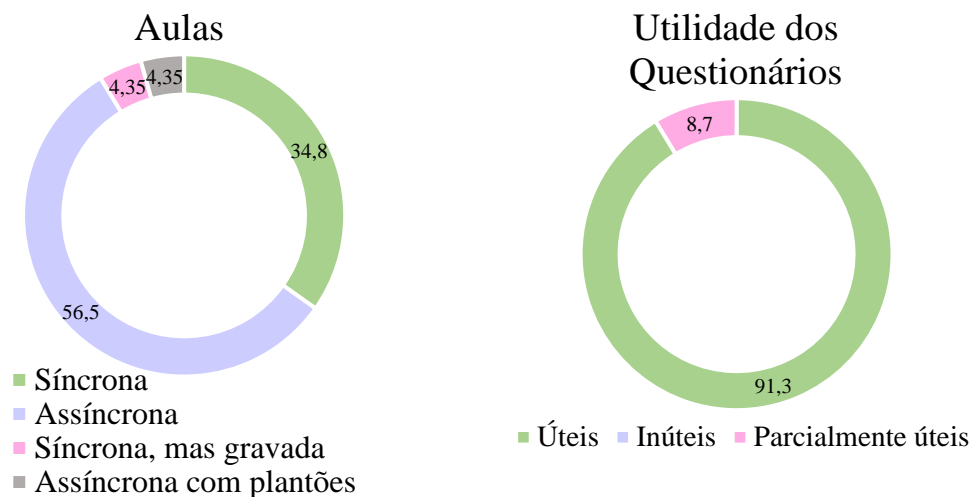
Vídeos instrucionais podem melhorar a performance dos alunos de graduação durante experimentos laboratoriais, como observado por Mutch-Jones *et al.* (2020). Os autores observaram dois grupos de alunos: 1) que assistiram aos vídeos e 2) que não assistiram aos vídeos. Assim, o grupo de alunos que tinham assistido aos vídeos relataram maior confiança e compreensão dos conceitos das técnicas do laboratório em comparação com os que não assistiram. Dessa forma, os vídeos podem ser recursos eficazes para o aprimoramento das aulas práticas na graduação funcionando como um suporte positivo para os alunos na realização de aulas laboratoriais.

3.3. AUTO AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE APRENDIZAGEM

As respostas do questionário mostraram que, mais de 50% dos alunos, que responderam, preferem aulas assíncronas (Fig. 8A) e que 95,5% acham necessários plantões de dúvidas caso

os encontros sejam assíncronos. Os conteúdos das aulas práticas foram avaliados por meio de questionários enviados pelo Google Forms e 91,7% acharam esses úteis para o processo de aprendizagem (Fig. 8B).

Figura 8 – Auto avaliação dos estudantes (A) Preferência das Aulas (B) Utilidade dos Questionários

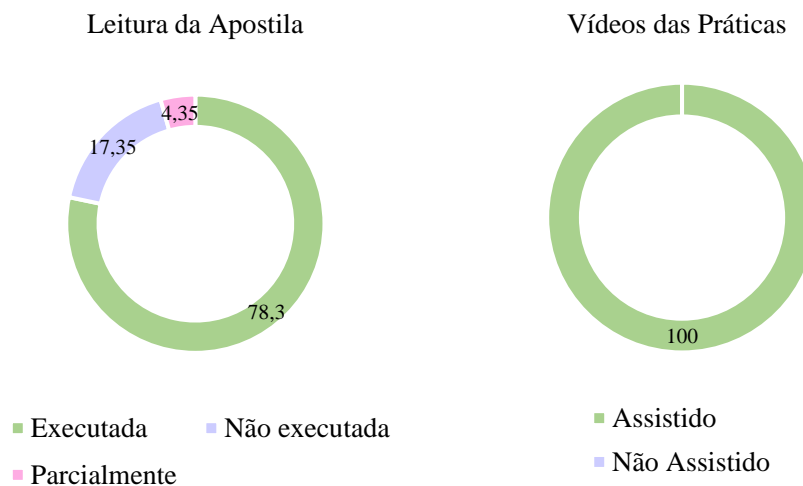


Fonte: Autoria Própria, 2021

A Figura 9 mostra os resultados das perguntas relacionadas às aulas práticas. Por volta de 78% leram a apostila (Fig. 9A) e 100% viram os vídeos confeccionados para as aulas práticas.

A produção dos vídeos utilizando a câmera do celular demonstrou-se uma estratégia envolvente e inovadora ao currículo da disciplina. Isso demonstra que as ferramentas midiáticas devem ser exploradas no processo de ensino-aprendizagem durante o ensino superior em matérias práticas (VARGAS, ROCHA e FREIRE, 2007; VASCONCELOS, GARCIA, NEVES *et al.*, 2013).

Figura 9 – Auto avaliação dos estudantes (A) Sobre a Leitura da Apostila (B) Sobre Assistir os Vídeos das Prática



Fonte: Autoria Própria, 2021

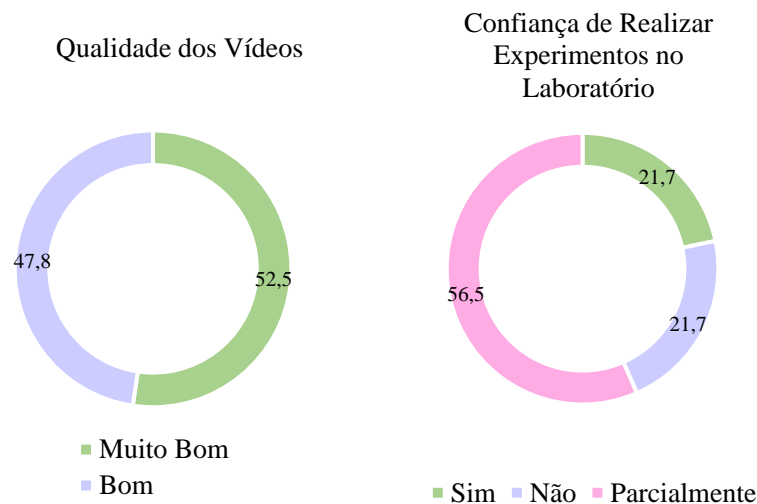
Os estudantes que responderam ao questionário acharam a qualidade dos vídeos boa ou muito boa (Fig. 10A). Além disso, 78% dos alunos disseram ter confiança total ou parcial para realizar os experimentos apenas com os vídeos instrucionais (Fig. 10B).

Vídeos complementares retirados do YouTube foram inseridos no Google sala de aula e por meio desse questionário, 73,9% dos alunos disseram ter assistido aos vídeos, completamente, 17,4% parcialmente e 8,7% não assistiram. Destaca-se aqui que nenhuma atividade avaliativa foi proposta baseada nesses vídeos.

De acordo com Canto e Barreto (2011) os vídeos que são aprovados pelos estudantes são instrumentos de grande valor pedagógico para os docentes, desde que sua aplicação seja direcionada por estratégias didáticas compatíveis com a especificidade de cada turma e com os objetivos pedagógicos que se pretende atingir.

É necessário destacar que a eficácia do ensino remoto é influenciada, também, pelas características de cada indivíduo, já que o estilo de aprendizagem, motivação, satisfação e envolvimento pode ocasionar divergência nos resultados (HUANG *et al.*, 2015). Sobre o desempenho da aprendizagem com recurso multimídias Wang, Fang e Gu (2020) destacaram que uma versão interativa, utilizando ferramentas de vídeo e texto são mais eficientes do que as ferramentas usadas individualmente.

Figura 10 – Auto avaliação dos estudantes (A) Sobre a Qualidade dos Vídeos (B) Sobre a Confiança de Realizar Experimentos no Laboratório Após Assistir apenas aos Vídeos das Práticas



Fonte: Aatoria Própria, 2021

O trabalho final teve como objetivo aplicar os conceitos aprendidos durante a aula na realidade. Os estudantes deveriam achar um produto inovador de valor agregado produzido microrganismos e dar destaque às suas propriedades, 78,3% não tiveram dificuldades.

As atividades práticas e o trabalho final tiveram o potencial de despertar o interesse dos alunos para aprofundamento no tema da microbiologia. Segundo Scandorieiro *et al.* (2018) atividades que instigam a pesquisa, na Microbiologia, contribuem para a formação de profissionais mais conscientes quanto ao papel dos microrganismos não apenas no desenvolvimento de doenças, mas também na saúde, na produção de alimentos, medicamentos e vacinas, e na preservação do meio ambiente.

Perguntamos se os alunos recomendariam a disciplina na forma remota e 69,6% disseram que sim, contudo, 21,7% responderam que recomendariam, mas apenas pela urgência do ENPE e que gostariam de fazê-la no presencial e 8,7% não recomendariam, pois acham melhor esperar pelo presencial. É necessário destacar que essa pergunta do questionário não pode ser interpretada de forma clara, pois não conseguimos inferir se os alunos respondentes já puderam ter tido aulas práticas no ensino presencial, portanto, não poderiam comparar o modelo remoto e presencial do ensino superior.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com a realização dos vídeos foram enriquecedores, tanto na construção e desenvolvimento das práticas, assim, as ferramentas midiáticas devem ser exploradas no processo de ensino-aprendizagem durante o ensino superior em matérias práticas. Os materiais não devem ficar restritos ao contexto da pandemia, com o retorno das aulas presenciais podem ser utilizados para complementar as práticas.

A teoria cognitiva da aprendizagem multimídia (TCAM) pode ser utilizada pelos docentes para elaborar materiais multimídias otimizando a aprendizagem. Embora os vídeos possuam alguns desvios das premissas, eles destacaram as concepções científicas e evitaram maior prejuízo da aprendizagem prática durante o ENPE.

Quanto aos princípios da Coerência, Sinalização, Redundância, Contiguidade Temporal e Imagem, nossos vídeos foram considerados satisfatórios. Enquanto para os princípios de Voz e Modalidade foram considerados insatisfatórios. Assim, os vídeos cumpriram os objetivos de suprir parcialmente as aulas práticas de microbiologia no ensino superior, facilitando a compreensão das técnicas laboratoriais básicas.

Uma sugestão para futuras produções de materiais didáticos multimídias seria a utilização da narração ao invés da legenda. Segundo a TCAM a narração otimiza o aprendizado e proporciona uma aproximação maior com o estudante.

REFERÊNCIAS

- ALEMDAG, E.; CAGILTAY, K. A systematic review of eye tracking research on multimedia learning **Comput. Educ.**, v.125, p. 413-428, 2018.
- ALVAREZ, K. S. Using Virtual Simulations in Online Laboratory Instruction and Active Learning Exercises as a Response to Instructional Challenges during COVID-19. **J Microbiol Biol Educ.** v.22, n.1, 2021.
- ANGGRAINI, A. *et al.* Analyzing MOOC features for enhancing students learning satisfaction **Journal of Telecommunication, Electronic and Computer Engineering**, v.10, n.1-4, p. 67-71, 2018.
- ARAÚJO, C.; SOUZA, E. H.; LINS, A. F. **Aprendizagem multimídia: explorando a teoria de richard mayer.** Anais II CONEDU... Campina Grande: Realize Editora, 2015. Disponível em: <<https://www.editorarealize.com.br/index.php/artigo/visualizar/15474>>.

BLUMER, L. S.; BECK, C. W. Laboratory courses with guided-inquiry modules improve scientific reasoning and experimental design skills for the least-prepared undergraduate students. **CBE Life Sci Educ.** v.18, n.1, 2018.

BROGUN, D. Y.; FAUCETTE, A. N.; POLIZZOTTO, K.; TAMARI, F. Development of an Online General Biology Open Educational Resource (OER) Laboratory Manual **J Microbiol Biol Educ** v.22, n.2, e00133-21, 2021.

CANTO, F. B. do; BARRETO, C. M. B. O Vídeo Como Ferramenta Didático-Pedagógica Sensibilizadora para o Aprendizado de Imunologia. **Revist Aleph**, v.15, 2011.

COONER, T. S. Creating opportunities for students in large cohorts to reflect in and on practice: lessons learnt from a formative evaluation of students' experience of a technology-enhanced blended learning design. **Brit J Educ Technol.** v.41, n.2, p.271–286, 2010.

CRESSWELL, S. L.; LOUGHLIN, W. A.; COSTER, M. J.; GREEN, D. M. Development and production of interactive videos for teaching chemical techniques during laboratory sessions. **J Chem Educ.** v.96, p.1033–1036, 2019.

DB. The coronavirus has pushed courses online. Professors are trying hard to keep up. **Chron High Educ**, 2020. Disponível em: <<https://www.chronicle.com/article/the-coronavirus-has-pushed-courses-online-professors-are-trying-hard-to-keep-up>>.

DYRBERG, N. R.; TREUSCH, A. H.; WIEGAND, C. Virtual laboratories in science education: students' motivation and experiences in two tertiary biology courses. **J Biol Educ.** v. 51, n.4, p.358–374, 2017.

FRANCHI, T. The impact of the COVID-19 pandemic on current anatomy education and future careers: a student's perspective. **Anat Sci Educ.** v.13, n.3, p.312–315, 2020.

FREEMAN, S. *et al.* Active learning increases student performance in science, engineering, and mathematics. **Proc Natl Acad Sci.** v.111, p.8410–8415, 2014.

GALEMBECK, E. *et al.* Manual do usuário: Biologia em multimeios, São Paulo: **Kitmais**, 2004.

GAO – Government Accountability Office, College Textbooks: Students Have Greater Access to Textbook Information. Washington, D.C. **GAO-13-368**, 2013.

GOBAW, G. F.; ATAGANA, H. I. Assessing laboratory skills performance in undergraduate biology students. **Acad J Interdiscip Stud.** v.5, n.3, p.113, 2016.

- GUAN, N.; SONG, J.; LI, D. On the advantages of computer multimedia-aided English teaching **Procedia Comput. Sci.**, v.131, p. 727-732, 2018.
- HUANG, E. *et al.* An objective assessment tool for basic surgical knot-tying skills **J. Surg. Educ.**, v.72, n.4, p.572-576, 2015.
- LEHMAN, J. D. Biology education with interactive videodiscs 1. Flexibly using commercially available videodisc. **American Biology Teacher**, p. 34-37, 1985.
- MADIGAN, M. T. *et al.* Microbiologia de Brock [recurso eletrônico], 14. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2016.
- MAYER, R. E. Multimedia learning. **Cambridge University Press**. Cambridge, 2001.
- MAYER, R. E. Research-based principles for the design of instructional messages: The case of multimedia explanations. **Document Design**, v.1, p.7 –19, 1999.
- MAYER, R. Incorporating motivation into multimedia learning. **Learning and instruction**. v.29, p. 7171–7173, 2014.
- MAYER, R.; FIORELLA, L. Principles for reducing extraneous processing in multimedia learning: Coherence, signaling, redundancy, spatial contiguity, and temporal contiguity principles, 2 ed., **Cambridge University Press**, p. 279-315, 2014.
- MEANS, B.; NEISLER, J. Suddenly online: a national survey of undergraduates during the COVID-19 pandemic. **Digital Promise**, 2020. Disponível em: <https://digitalpromise.org/wp-content/uploads/2020/07/ELE_CoBrand_DP_FINAL_3.pdf>.
- MINAYO, M. C. S. O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde. 8 ed. São Paulo: **Hucitec**, 2004.
- MORRIS, N. P.; LAMBE, J. Multimedia interactive eBooks in laboratory bioscience education. **Higher Educ Pedag.** v.2, n.1, p. 28–42, 2017.
- MUTCH-JONES, K.; SENGUPTA, N.; MINOR, V. C.; GOUDSOUZIAN, L. K. Professional science education videos improve student performance in non-major and intermediate biology laboratory courses. **Biochem Mol Biol Educ.** v.49, n.1, p.151–159, 2020.
- PATCH W. Impact of coronavirus on students' academic progress and college plans. **Niche**, 2020. Disponível em: <<https://www.niche.com/about/enrollment-insights/impact-of-coronavirus-on-students-academic-progress-and-college-plans#college>>.

PINHO, K. E. P.; LEPIENSKI, L. M. Recursos Didáticos no ensino de biologia e ciências [Online]. Disponível em: <<http://www.diadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/400-2.pdf?PHPSESSID=2009071511113042>>

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO (PROGRAD) **Ensino Não Presencial Emergencial**. 2021. Disponível em: <<http://www.prograd.ufscar.br/ensino-remoto/ensino-remoto>>.

SAVERY, J. R.; DUFFY, T. M. Problem based learning: an instructional model and its constructivist framework. **Educ Technol.** v.35, n.5, p.31–38, 1995.

SCANDORIEIRO, S. *et al.* Problematização e Práticas de Microbiologia para Ensino Médio de Escolas Públicas. **Experiências em Ensino de Ciências**, v.13, n.5, 2018.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. [S.l: s.n.], 2001.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Infecção humana pelo novo coronavírus (2019-nCoV). **Boletim Epidemiológico 2020**; v.02. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/fevereiro/07/BE-COE-Coronavirus-n020702.pdf>>.

SENACK, E.; DONOGHUE, R. Covering the cost: why we can no longer afford to ignore high textbook prices, **U.S. PIRG**, 2016. Disponível em: <<https://uspirg.org/sites/pirg/files/reports/National%20-%20COVERING%20THE%20COST.pdf>>.

SENN, S.; WESSNER, D. R. Maintaining Student Engagement during an Abrupt Instructional Transition: Lessons Learned from COVID-19. **J Microbiol Biol Educ.** v.22, n.1, e.22.1.47, 2021.

SHIM, T. E.; LEE, S. Y. College students' experience of emergency remote teaching due to COVID-19. **Child Youth Serv Rev.** v.119, p.105578, 2020.

SILVA, A. X. Análise imagética do conceito de célula em vídeos do “You Tube” e suas implicações para aprendizagem. Trabalho de Conclusão (Licenciatura em Ciências Biológicas), **Universidade Federal de Pernambuco**, Centro Acadêmico de Vitória, Vitória de Santo Antão, 2015.

SIBI – SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS UFSCAR **Biblioteca Virtual Pearson disponível à comunidade da UFSCar**, 2021. Disponível em: <

<https://www.sibi.ufscar.br/news/biblioteca-virtual-pearson-disponivel-a-comunidade-da-ufscar>>.

SMALLEY, A. Higher education response to coronavirus (COVID-19) **National Conference of State Legislatures**, 2020. Disponível em: <<https://www.ncsl.org/research/education/higher-education-responses-to-coronavirus-covid-19.aspx>>.

TOP HAT. **Adrift in a pandemic: survey of 3,089 students finds uncertainty about returning to college**, 2020. Disponível em: <<https://tophat.com/press-releases/adrift-in-a-pandemic-survey/>>.

TORTORA, G. J. *et al.* Microbiologia [recurso eletrônico], 10. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2012. U.S. Government Accountability Office. College Textbooks: students have greater access to textbook information, **GAO-13-368**, 2013. Disponível em: <<https://www.gao.gov/assets/gao-13-368.pdf>>.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS. **Apresentação do Campus Sorocaba**, 2021 Disponível em: <<https://www.sorocaba.ufscar.br/o-campus>>.

VAJOCZKI, S. *et al.* Student's approach to learning and their use of lecture capture. **J Educ Multimedia Hypermedia**. v.20, n.2, p.195–214, 2011.

VARGAS, A.; ROCHA, H. V.; FREIRE, F. M. P. Promídia: produção de vídeos digitais no contexto educacional. **Renote**, v. 5, n. 2, 2007. Disponível em: <<http://www.cinted.ufrgs.br/ciclo10/artigos/1bAriel.pdf>>.

VASCONCELOS, A. R. A. *et al.* Produção de um vídeo como recurso pedagógico. **EDEQ**, n. 33, 2013. Disponível em: <<https://www.publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/edeq/article/view/2827>>.

VERMELHO, A. B. *et al.* Práticas de Microbiologia. 2. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2019.

VIEIRA, D. A. P.; FERNANDES, N. A. Q. Microbiologia Aplicada. Inhumas: IFG; Santa Maria: **Universidade Federal de Santa Maria**, 2012.

VILAS BÔAS, R. C.; NASCIMENTO JUNIOR, A. F.; MOREIRA, M. de S. Utilização de recursos audiovisuais como estratégia de ensino de Microbiologia do solo nos ensinos fundamental II e médio. **Revista Práxis**, Volta Redonda, v. 10, n. 19, p. 79-90, 2018.

WANG, C.; FANG, T. GU, Y., Learning performance and behavioral patterns of online collaborative learning: Impact of cognitive load and affordances of different multimedia, **Computers & Education**, v.143, e.103683, 2020.

WANG, X.; HEGDE, S.; SON, C.; KELLER, B.; SMITH, A.; SASANGO HAR, F. Investigating Mental Health of US College Students During the COVID-19 Pandemic: Cross-Sectional Survey Study. **J Med Internet Res**. v.22, n.9, e22817, 2020.

WEBER, U. *et al.* Video-based instructions for surgical hand disinfection as a replacement for conventional tuition? A randomized, blind comparative study GMS. **J Med Educ.**, v.33, n.4, 2016.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. IHR procedures concerning public health emergencies of international concern (**PHEIC**). Disponível em: <<http://www.who.int/ihr/procedures/pheic/en/>>.

APÊNDICE A – APOSTILA DE MICROBIOLOGIA DOS PROCARIONTES

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

**BIOLOGIA DOS
MICROORGANISMOS
PROCARIOTES**

PROFESSORA: DRA. IOLANDA DUARTE

DESIGN: MARIANA AZEVEDO

AUTORAS



Prof^a. Dr^a. Iolanda Cristina Silveira Duarte/ UFSCar
Currículo Lattes

Mariana Amaral Azevedo
Currículo Lattes

Vídeo - Conhecendo o Laboratório de Pesquisa e
Didático



NORMAS DE UTILIZAÇÃO DO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

- O uso do jaleco de manga longa é obrigatório - após o uso o jaleco deve ser armazenado em sacolas ou sacos plásticos.
- Cabelos compridos devem estar presos;
- Não usar boné, touca ou chapéu;
- Não fumar nem comer no laboratório;
- O uso de calças compridas e sapatos fechados é obrigatório;
- Não levar à boca qualquer objeto durante a execução das aulas práticas;
- Lavar as mãos com água e sabão e álcool 70% no início e final das aulas práticas;
- Manter a superfície da bancada livre de todo o material que não for utilizar durante a experiência;
- Não utilizar o aparelho celular durante os experimentos;
- Desinfetar a superfície da bancada que irá utilizar com álcool a 70%, antes e após a execução do trabalho;
- Evitar que objetos ou produtos inflamáveis fiquem próximos da chama do bico de Bunsen;
- Todo o material usado contaminado ou não (pipetas, lâminas, lamelas, etc...) deve ser colocado dentro de um recipiente com desinfetante;
- Todos os tubos e placas de Petri que contenham microrganismos serão autoclavados antes de serem lavados ou descartados;
- Comunicar caso ocorra algum derramamento de cultura;
- Comunicar qualquer acidente (corte, queimadura, etc);
- Nunca esquecer de flambar as alças antes de as guardar no suporte.
- Não é permitido fones de ouvido.
- Enquanto estiver no laboratório deve-se falar baixo e ficar atento as explicações e também a ruídos.
- O laboratório esta equipado com chuveiro, lava-olhos e extintores de incêndio.
- Antes de sair do laboratório verifique se o bico de Bunsen está devidamente fechado



PRINCIPAIS MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NO LABORATÓRIO



Jaleco



Luvas



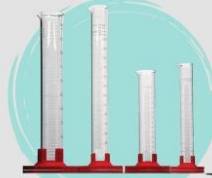
Microscópio



Balança Analítica



Pisseta



Proveta



Bico de Bunsen



Balão Volumétrico



Béquer



Erlenmeyer



Suporte



Almofariz e Pistilo



Tubo de Ensaio



Conta Gotas



Pipeta Pasteur



Kitassato



Bureta



Pipeta Graduada



Funil



Vidro de Relógio



Placa de Petri



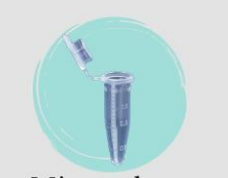
Bastão de Vidro



Dessecador



Pipeta Automática



Microtubo

PRINCIPAIS MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA



Alças de Inoculação
e Alça de Espalhamento



Frasco Reagente



Vórtex



Incubadora Shaker



Autoclave



Banho Maria



Estufa de Esterilização



Mufla



pHmetro



Banho de Ultrassom



Capela de Exaustão



Cabine de Fluxo Laminar



Centrífuga



Estufa de Incubação



Espectrofotômetro



Lâmina e
Laminula/Lamela

CONTROLE DO CRESCIMENTO MICROBIANO



O crescimento microbiano é inibido nas superfícies por meio de lavagem. Contudo, apenas a esterilização garante a eliminação e remoção de todos os microrganismos. A seguir são exemplificados alguns métodos para controle do crescimento.

Os microrganismos podem ser controlados limitando ou inibindo seu crescimento e os métodos para que isso ocorra incluem a descontaminação e a desinfecção. A descontaminação pode até mesmo ser a limpeza de utensílios para remoção de fragmentos de alimentos antes de sua utilização. Enquanto que, a desinfecção necessita de agentes desinfetantes, que matam e inibem crescimento microbiano, esta técnica é utilizada para organismos patógenos, em sua maioria.

O calor, a radiação e a filtração são capazes de destruir ou remover os microrganismos. A esterilização pelo calor é o método mais difundido, já que todos os microrganismos apresentam uma temperatura máxima de crescimento, acima desta, estruturas celulares são destruídas ou proteínas são desnaturadas. O tipo de calor também é importante: o calor úmido, em determinada temperatura promove a redução mais rápida dos organismos, que o calor seco.

Algumas bactérias são capazes de formar endósporos, que são desidratados e proteínas que possibilitam a resistência da estrutura ao calor. Não é possível assegurar que os endósporos foram mortos, apenas em temperatura de autoclave a 121°C por pelo menos 15 minutos.



AUTOCLAVE. PASTEURIZAÇÃO. RADIAÇÃO E FILTRAÇÃO

A autoclave utiliza vapor a uma pressão de 1 ATM, o que gera uma temperatura de 121°C. Nestes valores, o tempo necessário para promover uma esterilização de pequenas quantidades de material é de 15 minutos, mas se o objeto for volumoso, a transferência de calor a seu interior será lenta, devendo o tempo de aquecimento ser estendido.



A pasteurização utiliza um aquecimento controlado para reduzir os microrganismos presentes em líquidos que seriam destruídos se autoclavados, como o leite. O líquido passa através de um trocador de calor. Primeiro, há elevação para altas temperaturas durante um curto período de tempo, e, então, é rapidamente resfriado.

A pasteurização não mata todos os organismos, mas a carga microbiana e o número de microrganismos viáveis presentes em uma amostra. Nas temperaturas e tempos utilizados para a pasteurização de alimentos as bactérias patogênicas são mortas. No mais, pela redução da carga microbiana geral, o crescimento de organismos deteriorantes é retardado.

A radiação ultravioleta (UV) é absorvida pelo DNA e pode causar mutações ou outros efeitos, podendo ocasionar a morte do organismo exposto. Ela é amplamente utilizada para descontaminar e desinfetar a superfície de fluxos laminares e para desinfetar o ar circulante em hospitais e salas de preparação de alimentos. No entanto, a luz UV tem baixa capacidade de penetração, limitando a desinfecção de superfícies expostas ou ar.

Por fim, gases ou líquidos sensíveis ao calor devem ser esterilizados através de um filtro, um dispositivo contendo poros de dimensões muito pequenas que impedem a passagem de quaisquer células que possam estar presentes. Para esterilização, um filtro com poros de diâmetro médio de 0,2 µm é desejável; no entanto, mesmo poros tão pequenos não irão impedir a passagem da maioria dos vírus.



I - TÉCNICAS DE ASSEPSIA, ESTERILIZAÇÃO E PREPARO DE MATERIAL

Inoculação e Assepsia

A limpeza das mãos e bancada são fundamentais para os procedimentos de inoculação. Inocular é introduzir um microrganismo conhecido ou não a um meio de cultura.

Meio de cultura é um preparado que contém os nutrientes necessários para o crescimento dos microrganismos em laboratório.

Toda vez que for realizar uma inoculação ou retirada de amostras microbiológicas, esse procedimento deve ser realizado próximo a chama do bico de Bunsen (até um raio de 15 cm), bem como toda vidraria que será utilizada durante o procedimento. Outra opção para garantir uma inoculação sem contaminações é usar a cabine de fluxo laminar.

Esterilização

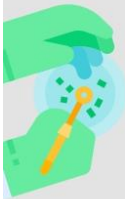
O material a ser usado em experimentos (vidrarias, espátulas, pinças e meios de cultura) são previamente esterilizados para garantir que não haja contaminação prévia das amostras.

A esterilização garante a morte dos microrganismos e esta pode ser realizada por meio de calor úmido (autoclave) e calor seco (estufa de esterilização).



Vídeo - Aula Prática 1

ISOLAMENTO



Dentre as técnicas conhecidas para o isolamento de microrganismos em cultura pura, as mais comumente utilizadas são a técnica de estria por esgotamento, diluição seriada e semeadura em meio de cultura em placa. Elas se baseiam no princípio de que uma célula microbiana isolada, ou um único esporo, quando depositados em meio de cultura sólido adequado, darão origem a um agrupamento visível chamado de colônia. A colônia é um conjunto de células idênticas que tem como origem uma única célula ou esporo.

A técnica das diluições e inoculação em placa tem uma dupla aplicação, podendo ser utilizada tanto para o isolamento como para a contagem de microrganismos. Já a técnica do esgotamento consiste em semear, com uma alça de inoculação, uma porção da suspensão de microrganismos, fazendo na superfície do meio uma sequência de estrias não sobrepostas, que vão das bordas para o centro em três setores distintos ou mais. Assim, a quantidade de material contida na alça será progressivamente menor. Então, ao final do procedimento, as células microbianas na alça vão ser depositadas separadamente. Após incubação por tempo e temperatura adequados, cada célula isolada dará origem a uma colônia isolada.

O sucesso do procedimento pode ser maior levando em conta os seguintes tópicos:

- Realizar o maior número de estrias possível
- Não perfurar ou rasgar o meio de ágar
- Não voltar com a alça sobre as estrias, sobrepondo-as
- Iniciar a semeadura com uma pequena quantidade de material na alça de inoculação.



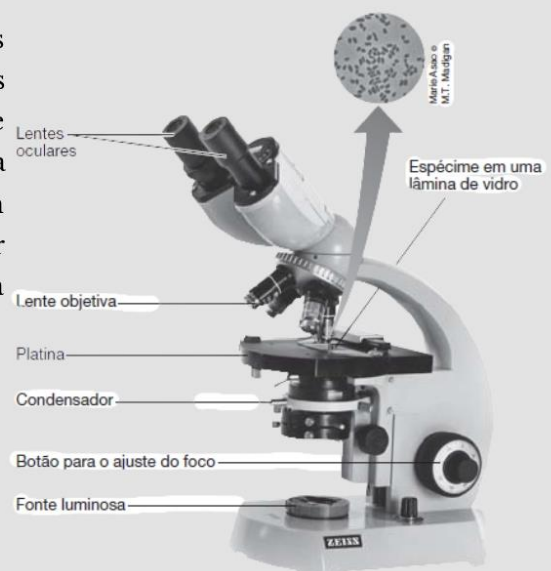
MICROSCOPIA



Para a observar os microrganismos, é necessário utilizar um microscópio, seja óptico ou eletrônico, eles possuem lentes que ampliam a imagem original. Em geral, microscópios ópticos são utilizados para a observação de células em ampliações relativamente baixas, e os microscópios eletrônicos são utilizados para a observação de células e estruturas em ampliações relativamente altas.

O microscópio óptico utiliza a luz visível para iluminar as estruturas celulares. No microscópio de campo claro, os espécimes são visualizados devido as singelas diferenças de contraste entre eles e o meio circundante. Ele possui duas lentes, a objetiva e a ocular, que funcionam em combinação para formar a imagem. A fonte luminosa é focalizada sobre o espécime por uma terceira lente, o condensador. As células bacterianas são normalmente de difícil visualização ao microscópio de campo claro devido à ausência de contraste em relação ao meio circundante. O aumento do contraste melhora a imagem final observada, por isso corar as células é uma forma rápida e simples de melhorar o contraste, embora existam outras formas de fazê-lo.

A realização de uma coloração simples deve ser iniciada a partir de preparações celulares secas. Uma lâmina de microscopia limpa contendo uma suspensão de células secas é recoberta com uma solução diluída de um corante por determinado tempo, sendo então, lavada várias vezes em água, e seca ao ar.



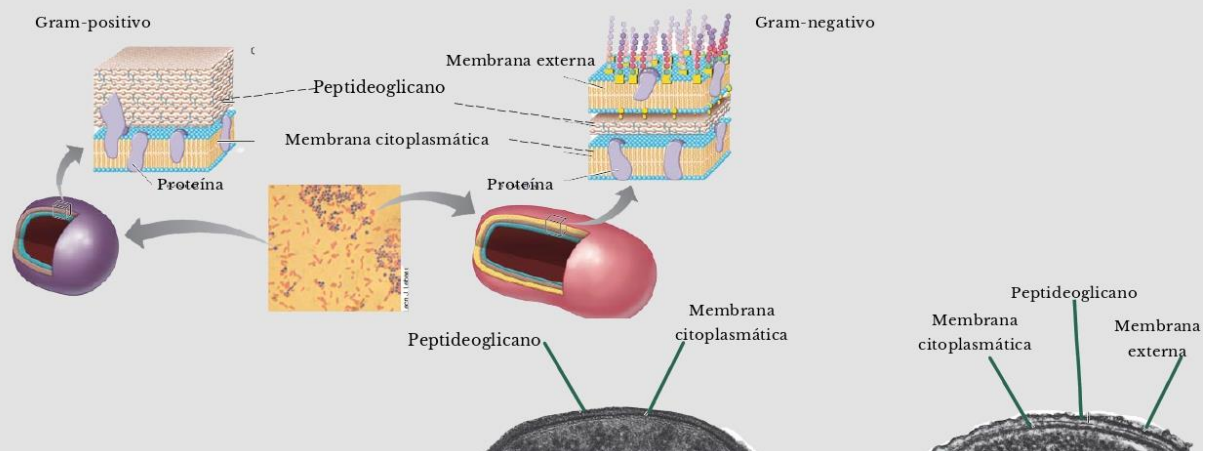
COLORAÇÃO DE GRAM

Corantes que conferem diferentes cores a diferentes tipos de células são denominados corantes diferenciais. Um importante procedimento de coloração diferencial, amplamente utilizado em microbiologia, é a coloração de Gram. As bactérias podem ser agrupadas de duas formas de acordo com sua reação à coloração de Gram, as gram-positivas e gram-negativas.

Após a coloração de Gram, as bactérias gram-positivas coram-se em roxo-violeta, enquanto as bactérias gram-negativas, em cor-de-rosa. Essa diferença de reação à coloração de Gram deve-se às diferenças na estrutura da parede celular das células gram-positivas e gram-negativas. Após a coloração com um corante básico, como o cristal violeta que confere às células uma coloração roxa, o tratamento com o etanol decora as células gram-negativas, mas não as gram-positivas. Após a coloração de contraste com um corante de cor diferente, normalmente a safranina, os dois tipos de células podem ser distinguidos microscopicamente por suas cores diferenciadas.

A coloração de Gram é o procedimento de coloração mais utilizado na microbiologia, sendo frequentemente utilizado para iniciar a caracterização de uma bactéria recentemente isolada.

O princípio da técnica está baseado na diferença de composição da parede de diferentes bactérias e na capacidade de essas paredes reterem os corantes utilizados. As bactérias gram-positivas possuem uma parede celular mais espessa, diferentemente da parede das bactérias gram-negativas.

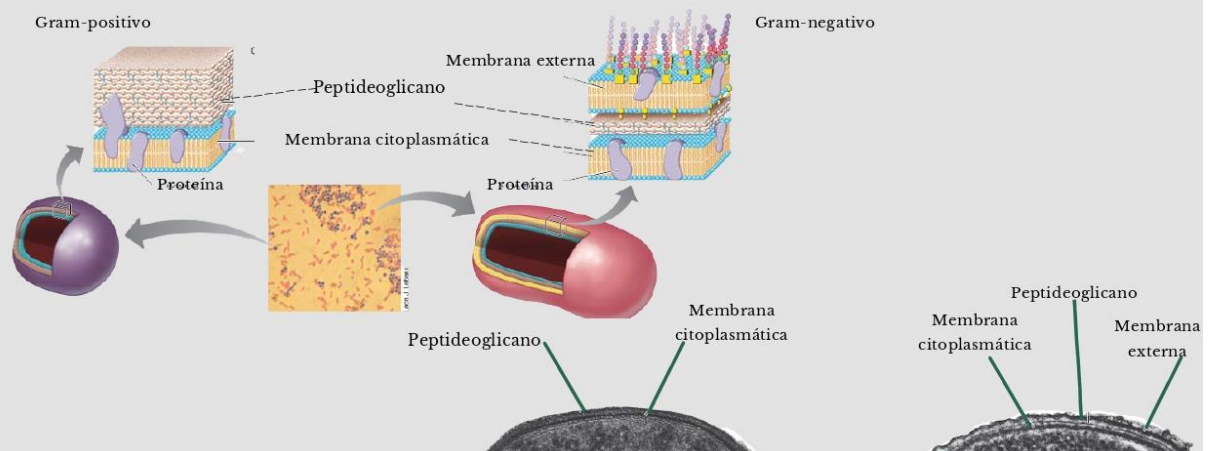


COLORAÇÃO DE GRAM

A princípio, os dois tipos de células se coram pelo cristal violeta associado ao iodo, então, o complexo formado pelo cristal violeta e pelo iodo se liga a componentes presentes na parede das bactérias positivas, que possuem em sua composição elementos, que ao se ligarem com o corante tornam-no de difícil remoção.

Então, ao utilizar o álcool o diferencial na composição da parede celular das bactérias será de extrema importância para definir os dois grupos de bactérias. O álcool terá duas funções: dissolver lipídios e desidratar as células.

O corante associado à parede das bactérias gram-positivas não consegue se difundir de volta para o meio externo durante a lavagem com o álcool – a célula permanece corada na cor roxa. No caso das gram-negativas, sabemos que a camada de parede é mais delgada e que sobre a parede encontramos outra membrana, a externa, de natureza lipídica. Ao utilizar o álcool, a membrana externa das bactérias gram-negativas é solubilizada e, como a camada de parede celular é mais fina, de composição diferente da parede das bactérias gram-positivas, o complexo cristal violeta/iodo é capaz de se difundir, deixando a célula descorada. Quando se aplica o contracorante safranina, as células gram-negativas adquirem a cor rosada do novo corante.





II - PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NO AMBIENTE

Vídeo - Aula Prática 2

Objetivo

Demonstrar a presença de microrganismos em diferentes materiais

Procedimento

Fazer a pesagem do meio ágar nutriente (heterotróficos totais). Dependendo da amostra poderá ser usado os seguintes meios: ágar Mac Conkey (gram negativos) ou ágar base Manitol (estafilococos).

Esses meios serão acondicionados em erlenmeyer para esterilização em autoclave.

Após a esterilização, verter o meio de cultura ainda quente em placas de Petri, previamente estéreis e aguardar a solidificação do meio. Cada aluno fará uma placa com a amostra escolhida. Exemplos de inoculação (alguns alunos receberam swab com meio de transporte – stuart) :

Placa 1 – usando um swab, passe-o pela mucosa da boca e depois pela superfície do ágar, tomar cuidado para não ferir o ágar.

Placa 2 – tocar a superfície do ágar em vários lugares com a ponta dos dedos.

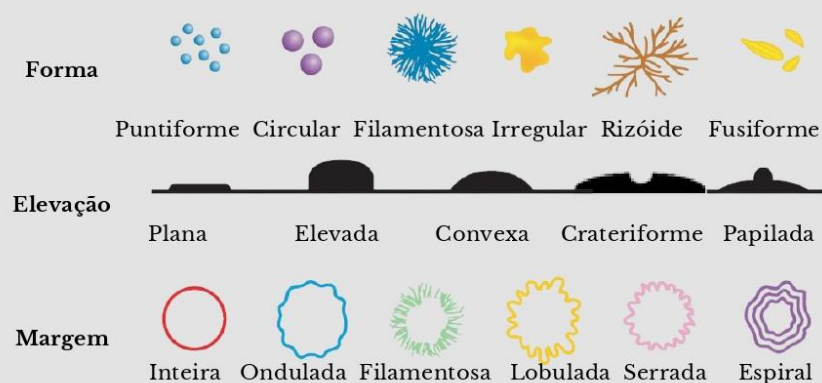
Placa 3 – usando um swab, passe-o nas axilas e depois pela superfície do ágar.

Placa 4 – esfregar o swab nos cabelos e depois passe-o pela superfície do ágar.

Incubar por 48 horas em estufa a 35 a 37°C.

Contar as colônias. Observar a morfologia (Figura 1) e coloração.

Figura 1 - Aspectos morfológicos de colônias



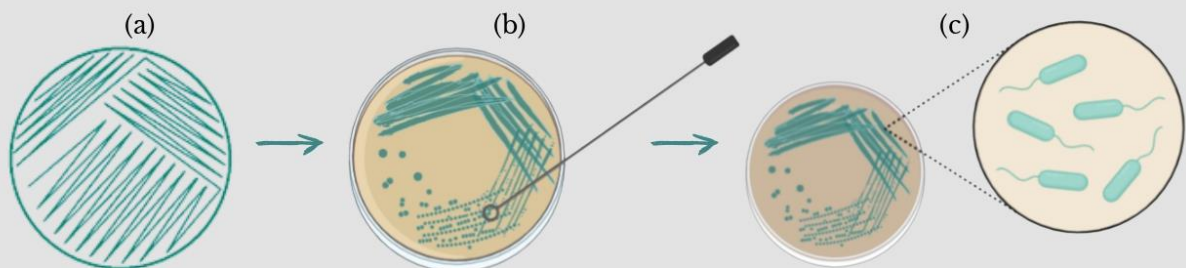
II - PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NO AMBIENTE



Escolher 01 colônia e isolar em uma nova placa de Petri por meio de estria de esgotamento (Figura 2a). Incubar por 48 horas nas mesmas condições anteriores e avaliar a estria.

Após o crescimento da cultura na placa, realizar o isolamento por estria (Figura 2b), fazer uma lâmina e observar no microscópio (Figura 2c) com o método de coloração de gram (Figura 3).

Figura 2 - Estrias de Esgotamento (a); Isolamento para fazer a lâmina (b);
Microorganismo visto em microscópio (c)



Coloração de bactérias pelo método Gram

Objetivo

- Praticar a coloração de bactérias pelo método de Gram
- Aprender a preparar esfregaço de bactérias
- Comparar a estrutura da parede celular das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas
- Permitir a observação da morfologia bacteriana e fornecer informações a respeito do comportamento do seu material celular diante dos corantes de Gram

Preparação do esfregaço bacteriano

- Limpar bem uma lâmina de vidro, (passar algodão embebido em álcool).
- Quando se tratar de uma cultura em meio líquido, com uma alça de inoculação, tomar uma pequena porção da cultura, observando as precauções de assepsia, e colocá-la sobre a lâmina espalhando-a para formar uma película bem fina.

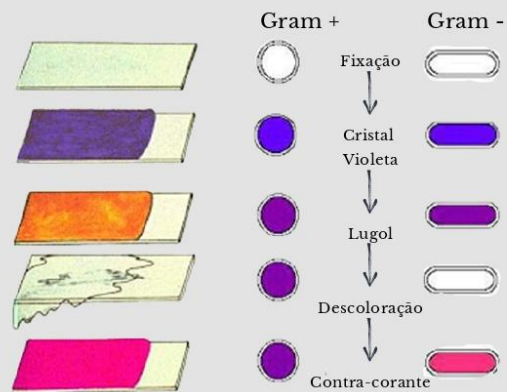


II - PRESENÇA DE MICRORGANISMOS NO AMBIENTE

- Quando for uma cultura em meio sólido, colocar uma gota de água destilada sobre a lâmina e com uma alça de inoculação, colher uma pequena quantidade de crescimento bacteriano da superfície do ágar e suspendê-la na gota de água destilada, espalhando suficientemente para obter um esfregaço fino. Este procedimento deve ser feito na zona de esterilidade (15 cm da chama do bico de Bunsen).
- Fixar o esfregaço, ao ar ou passando a lâmina três vezes sobre a chama do Bico de Bunsen
- Deixar a lâmina esfriar

Figura 3 - Etapas da Coloração de Gram

- Cobrir o esfregaço com cristal violeta (1 min); Enxaguar em água corrente
- Cobrir com lugol (1 min); Enxaguar em água corrente
- Descorar com álcool (30s); Enxaguar em água corrente
- Contra-corar com fucsina ou safranina (30s); Enxaguar em água corrente
- Deixar secar e observar ao microscópio usando a objetiva de imersão



CONTROLE QUÍMICO DO CRESCIMENTO MICROBIANO



Um agente antimicrobiano pode ser um produto químico natural ou sintético que mata ou inibe o crescimento de microrganismos. Agentes que matam organismos possuem o sufixo **-cidas**, como agentes bactericidas, fungicidas e viricidas, que matam bactérias, fungos e vírus, respectivamente. Agentes que apenas inibem o crescimento, possuem o sufixo **-státicos**, e incluem compostos bacteriostáticos, fungistáticos e viristáticos.

Agentes bacteriostáticos são inibidores de algum processo bioquímico, como a síntese proteica, mas a ligação é fraca, então, se o agente for removido, as células podem retomar o crescimento, muitos antibióticos se enquadram nesta categoria. Agentes bactericidas ligam-se fortemente a seus alvos celulares e matam a célula. No entanto, as células mortas não são lisadas e o número total de células, refletido pela turbidez da cultura, mantém-se constante, a água sanitária é um exemplo de agente bactericida. Agentes bacteriolíticos matam as células devido a lise e liberação do conteúdo citoplasmático, resultando na diminuição do número de células viáveis e de células total, o detergente seria um exemplo, que danifica a membrana citoplasmática.

A atividade antimicrobiana pode ser avaliada utilizando meio sólido. Agentes microbianos são adicionados a discos de papel de filtro, que são colocados sobre a superfície de um meio sólido, uniformemente inoculado. Durante a incubação, o agente difunde-se do disco para o ágar e uma zona de inibição é criada, cujo diâmetro é proporcional a quantidade de agente antimicrobiano adicionado ao disco. A técnica de difusão em disco é rotineiramente utilizada para testar patógenos isolados clinicamente quanto a sua suscetibilidade aos antibióticos.



III - INIBIÇÃO POR AGENTES DESINFETANTES

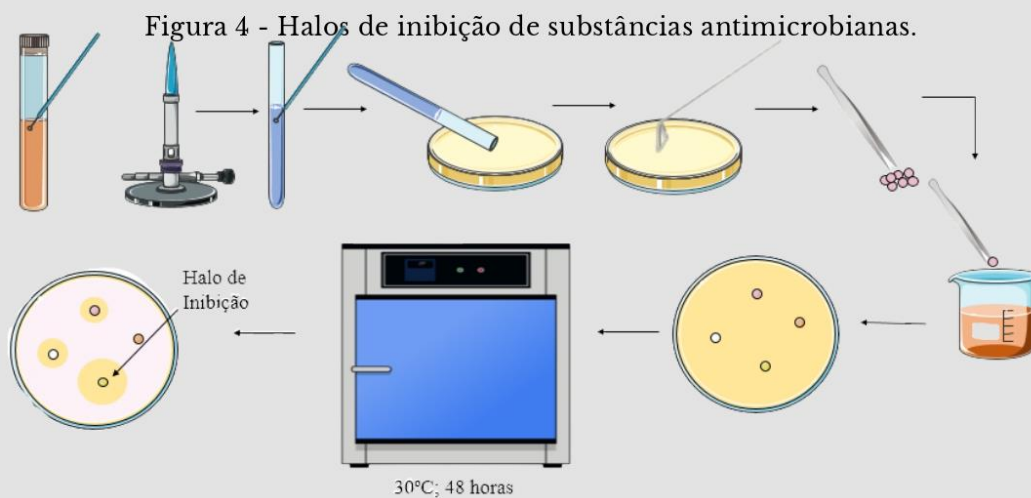
Vídeo - Aula Prática 3

Objetivo

- Determinar o efeito antimicrobiano de diferentes substâncias (Figura 4).

Procedimento

- Escolher uma bactéria já identificada previamente
 - Próximo ao fogo, com a alça, retirar uma colônia e transferir para um tubo de ensaio contendo 1mL de água destilada estéril.
1. Semear 1mL da cultura em placa de Petri contendo meio ágar Mueller Hinton solidificado.
 2. Realizar a sementeira de superfície com auxílio da alça de Drigalsky
 3. Esperar 5 min.
 4. Usar a pinça estéril para pegar os discos de papel filtro previamente esterilizados
 5. Pingar sobre os discos de papel filtros diferentes extratos vegetais aquosos
 6. Distribuir os discos equidistantes na placa de Petri anotando no verso desta.
 7. Incubar a 30°C durante 48 horas.
 8. Ler e registrar os resultados (verificar se há ou não halo de inibição de crescimento em torno de cada disco). Medir em centímetros o tamanho do diâmetro do halo.



CONTAGEM EM PLACAS



Uma célula viável é aquela capaz de se dividir, originando células-filhas. O método de contagem de células viáveis, também é denominado contagem em placa. O procedimento de contagem de células viáveis pressupõe que cada célula viável é capaz de crescer e dividir-se, originando uma colônia.

Há duas formas para realizar uma contagem em placa: o método de semeadura por espalhamento e o método e semeadura em profundidade. Em placas muito populosas, algumas células podem não formar colônias e algumas podem se fundir, levando a erros de contagem. Se o número for muito pequeno, a significância estatística da contagem será baixa. A prática, então, estabelece a contagem somente de placas que possuam entre 30 e 300 colônias.

Para isso, a amostra a ser contada deve quase sempre ser diluída. Tendo em vista que raramente pode-se prever o número aproximado de células viáveis, em geral, mais de uma diluição é necessária. Frequentemente, são empregadas várias diluições entre 10^{-1} e 10^{-6} , essas diluições seriadas são necessárias para obter-se a diluição adequada para plaquear um número contável de colônias.

A contagem de células viáveis pode estar sujeita a erros significativos por diversas razões, como inconsistências no plaqueamento, erros de pipetagem de amostras líquidas, homogeneização insuficiente da amostra, intolerância ao calor (caso a técnica de semeadura em profundidade seja usada), e muitos outros fatores.

Dessa forma, para que se obtenham contagens precisas, são necessários cuidado e consistência na preparação da amostra, o seu plaqueamento e utilização de réplicas de diluições. Além disso, se duas ou mais células estão agrupadas, elas crescerão formando uma colônia, apenas. Assim, se uma amostra contém muitas células agrupadas, uma contagem da viabilidade dessa amostra pode ser erroneamente baixa. Então, a quantificação dessas amostras é expressa como o número de unidades formadoras de colônias, podendo incluir uma ou mais células.



IV - QUANTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

Introdução

O crescimento é utilizado como referência à grandeza da população total. Pode ser determinada por numerosas técnicas, baseadas num dos seguintes tipos de medida:

- a) contagem celular (direta ou indireta);
- b) determinação da massa celular (diretamente, por pesagem, ou indiretamente, pela determinação de um componente da célula ou turbidimetria);
- c) avaliação da atividade celular (indiretamente pela relação entre o grau de atividade bioquímica da célula e o tamanho da população).

O método mais usado é a contagem das células viáveis, também chamada de contagem em placa. É um método indireto que se baseia no princípio de que cada célula viável, quando presente em meio sólido, pode se multiplicar e originar uma colônia. Para isso existem duas técnicas: contagem em superfície e a contagem em *pour plate*.

Vídeo - Aula Prática 4

Objetivo

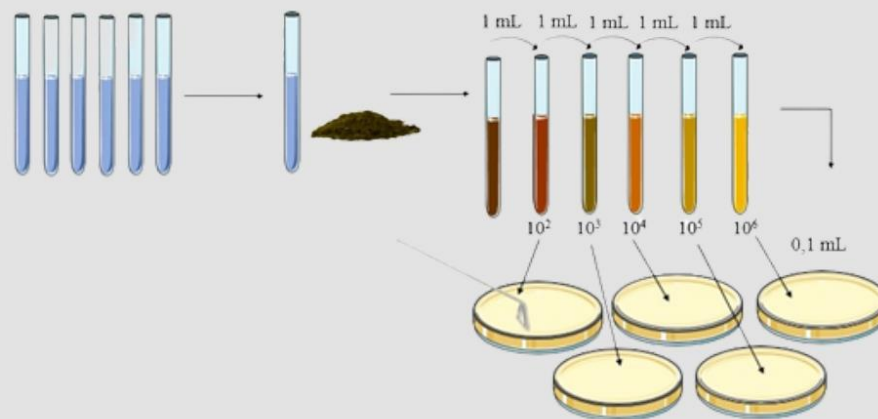
Realizar as técnicas de contagem de bactérias heterotróficas em amostras de solo

Procedimento

- a) Crescimento em superfície:
 - Preparar diluições decimais com 1g de solo para tubo contendo 9mL de solução fisiológica (NaCl 0,85%): diluição 10^0 ou 10^1 (concentração 1:10 ou 10^{-1})
 - Homogeneizar a suspensão.
 - Transferir, a partir da diluição anterior, 1mL para outro tubo contendo 9mL de solução fisiológica, homogeneizar a suspensão, e assim sucessivamente, de modo a obter as diluições: 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 .
 - Identificar as placas com nome, data e diluição.
 - Inocular as placas contendo *Plate count agar* (PCA), previamente identificadas com 0,1mL das respectivas diluições.

IV - QUANTIFICAÇÃO DE MICROORGANISMOS

- Espalhar rapidamente o líquido, com alça de Drigalski, até que este seja absorvido pelo meio.



- Colocar a alça em solução desinfetante.
- Incubar as placas na posição invertida à temperatura ambiente adequada durante no mínimo 24 horas.
- Escolher a diluição cujas placas apresentarem de 30 a 300 colônias.
- Proceder à contagem das colônias.
- Calcular o número de bactérias (UFC = unidades formadoras de colônia)/mL da cultura original, usando a seguinte fórmula:

$$UFC/mL = \text{média do número de colônias} \times \text{diluição} \times 10.$$

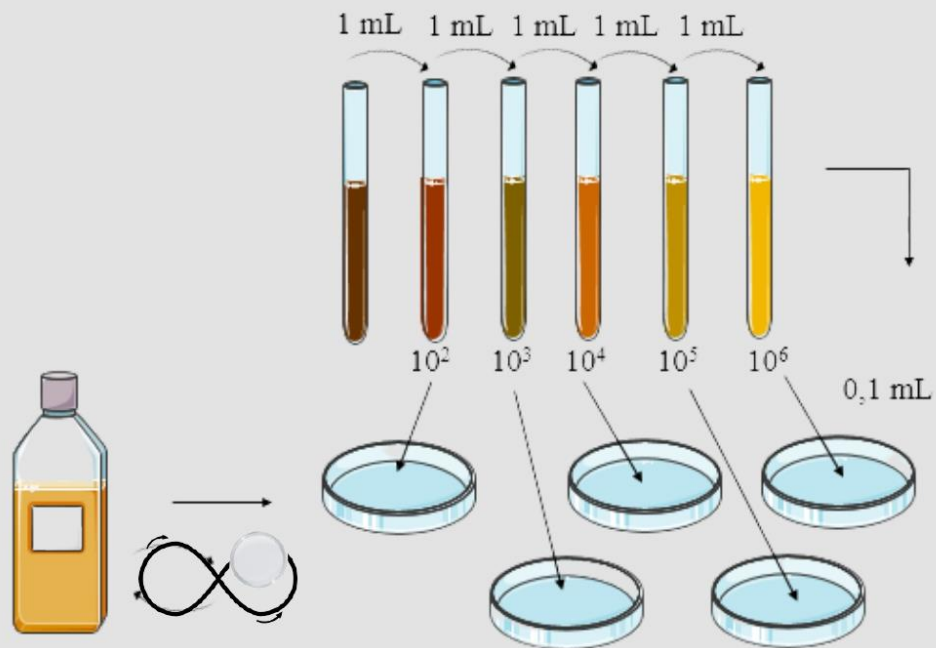
Multiplica-se por 10 pelo fato de ter sido usado apenas 0,1 mL/ placa.

b) Em pour plate (semeadura em profundidade)

- Utilizar as mesmas diluições anteriores.
- Inocular as placas com 0,1mL das respectivas diluições.
- Verter o meio de cultura a 50°C e misturar realizando movimentos de rotação no sentido horário e no sentido anti-horário durante alguns segundos.

IV - QUANTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

- Deixar solidificar.
- Incubar as placas na posição invertida à temperatura adequada durante no mínimo 24 horas.
- Escolher a diluição
- Proceder a contagem das colônias
- Calcular o número de bactérias (UFC) usando a seguinte fórmula:
$$\text{UFC/mL} = \text{média do número de colônias} \times \text{diluição}$$



MÉTODO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL



O método do número mais provável (NMP) é uma técnica estatística, baseada no princípio de que, quanto maior o número de bactérias em uma amostra, maior o número de diluições necessárias para reduzir a densidade bacteriana a zero. Volumes da amostra original, em geral 10 e 1 mL, ou volumes correspondentes às suas diluições decimais, são inoculados em séries de tubos contendo um meio de cultura líquido apropriado. Comumente são empregadas três séries, de três tubos cada, nas quais são inoculadas réplicas correspondentes de cada volume ou diluição da amostra original.

Após incubação pelo tempo apropriado, conta-se o número de tubos nos quais é observado crescimento ou uma reação diferencial típica, como a mudança da cor do indicador de pH ou a produção de gás, em cada um dos tubos de cada série, e, com o número obtido pela combinação de tubos positivos das séries, observa-se, em uma tabela estatística, o número mais provável de microrganismos na amostra analisada.

Este método é bastante útil para contagem de microrganismos que apresentam uma determinada característica metabólica. A produção de gás a partir da fermentação da lactose pode ser utilizada na contagem de coliformes termotolerantes e totais em água e alimentos. Sendo um método estatístico, os resultados obtidos garantem apenas 95% de probabilidade de que o número de microrganismos determinados na análise corresponda ao número real de microrganismos presentes na amostra.



V - ANÁLISE DE COLIFORMES EM ALIMENTOS

Introdução



Os coliformes são um grupo de Enterobactérias (habitam o trato digestivo) que em sua maioria não são patogênicas. Elas são utilizadas como indicadores de contaminação fecal, ou seja, sua ocorrência em determinada amostra (água ou alimento) é um indicativo de que aquela amostra teve contato com poluição fecal e pode, portanto, estar contaminada por patógenos que utilizam essa via de infecção (outras bactérias ou mesmo vermes). No entanto, existem coliformes em outros animais ou mesmo livres no ambiente e, portanto, a simples detecção desse grupo não é a melhor forma de se determinar a contaminação fecal de origem humana.

A confirmação de que esses coliformes são termotolerantes é uma indicação mais precisa da ocorrência de contaminação fecal de origem humana.

Vídeo - Aula Prática 5

Objetivo

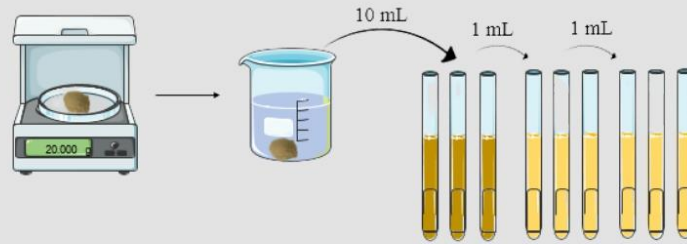
- Verificar a ocorrência de coliformes e coliformes termotolerantes em amostras de alimento fresco.

Procedimentos

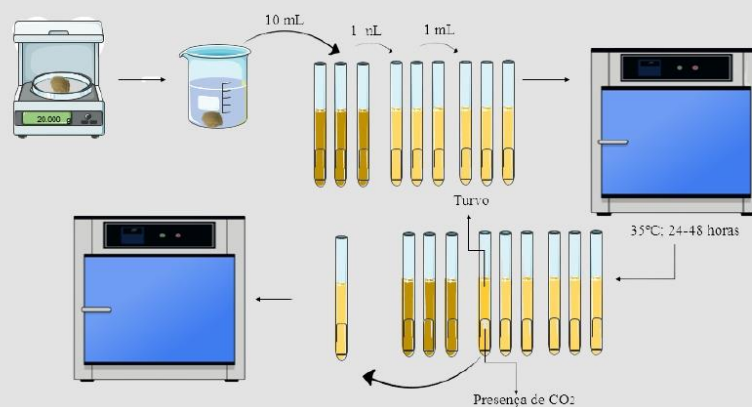
1. Pesar 20g do alimento a ser analisado. Se necessário, cortar sobre superfície estéril e com material estéril.
2. Transferir o alimento para o frasco contendo 180mL água peptonada 0,1%. Homogeneizar bem. Essa é a diluição 10^{-1} da amostra.
3. A partir dessa diluição, transferir 10mL para 3 tubos contendo caldo lauryl sulfato de sódio em concentração dupla. Homogeneizar delicadamente (sem inverter o tubo) para que não forme bolhas de ar no interior do tubinho Durham.
4. A partir da diluição 10^{-1} , transferir 1mL para 3 tubos contendo caldo lauryl sulfato de sódio em concentração simples. Homogeneizar delicadamente (sem inverter o tubo) para que não forme bolhas de ar no interior do tubinho Durham



V - ANÁLISE DE COLIFORMES EM ALIMENTOS



5. A partir da diluição 10^{-1} , transferir 0,1mL para 3 tubos contendo caldo lauryl sulfato de sódio em concentração simples. Homogeneizar delicadamente (sem inverter o tubo) para que não forme bolhas de ar no interior do tubinho Durham.
6. Incubar os tubos a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas;
7. Após a incubação, verificar se houve crescimento ou não em cada série de tubo. Considerar positivos os tubos que apresentarem turbidez e formação de bolhas de gás no interior dos tubos Durham. Pois a presença de bactérias do grupo coliforme é confirmada pela formação de gás no tubo de Durham.
8. Comparar a combinação de resultados com a tabela do número mais provável e obter o número provável de coliformes por grama de alimento.
9. Repicar os tubos que apresentarem crescimento em caldo EC, transferindo uma alçada do tubo crescido para o novo tubo com caldo EC e incubados a 45°C .
10. Verificar o NMP da mesma forma como feito para a leitura de coliformes totais.



V - ANÁLISE DE COLIFORMES EM ALIMENTOS

Número de tubos positivos em				Número de tubos positivos em			
10mL	1mL	0,1mL	NMP	10mL	1mL	0,1mL	NMP
0	0	0	<0,03	2	0	0	0,091
0	0	1	0,03	2	0	1	0,14
0	0	2	0,06	2	0	2	0,2
0	0	3	0,09	2	0	3	0,26
0	1	0	0,03	2	1	0	0,15
0	1	1	0,061	2	1	1	0,2
0	1	2	0,002	2	1	2	0,27
0	1	3	0,12	2	1	3	0,37
0	2	0	0,062	2	2	0	0,21
0	2	1	0,093	2	2	1	0,28
0	2	2	0,12	2	2	2	0,35
0	2	3	0,16	2	2	3	0,42
0	3	0	0,094	2	3	0	0,29
0	3	1	0,13	2	3	1	0,36
0	3	2	0,16	2	3	2	0,44
0	3	3	0,1	2	3	3	0,53
1	0	0	0,036	3	0	0	0,23
1	0	1	0,072	3	0	1	0,39
1	0	2	0,11	3	0	2	0,64
1	0	3	0,15	3	0	3	0,95
1	1	0	0,073	3	1	0	0,43
1	1	1	0,11	3	1	1	0,75
1	1	2	0,15	3	1	2	1,2
1	1	3	0,19	3	1	3	1,6
1	2	0	0,11	3	2	0	0,93
1	2	1	0,15	3	2	1	1,5
1	2	2	0,2	3	2	2	2,1
1	2	3	0,24	3	2	3	2,9
1	3	0	0,16	3	3	0	2,4
1	3	1	0,2	3	3	1	4,6
1	3	2	0,24	3	3	2	11
1	3	3	0,2	3	3	3	>24

VI - REFERÊNCIAS

- Microbiologia [recurso eletrônico] / Gerard J. Tortora ... [et al]. tradução: Aristóbolo Mendes da Silva ... [et al.] ; revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca. – 10. ed. – Porto Alegre : Artmed, 2012.
- Microbiologia Aplicada / Darlene Ana de Paula Veira, Nayara Cláudia de Assunção Queiroz Fernandes. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012
- Microbiologia de Brock [recurso eletrônico] / Michael T. Madigan ... [et al.] [tradução : Alice Freitas Versiani ... [et al.] ; – 14. ed. Porto Alegre : Artmed, 2016.
- Práticas de microbiologia / Alane Beatriz Vermelho ... [et al]. - 2. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.





LAMIA

Laboratorio de Microbiologia Ambiental
