

## ANTIBIÓTICOS NATURAIS: AS PROPRIEDADES ANTIBIÓTICAS DO ALHO

### Objectivo

Avaliar o efeito antibiótico de extracto aquoso de alho sobre *Bacillus* sp, através do método de difusão em meio sólido.

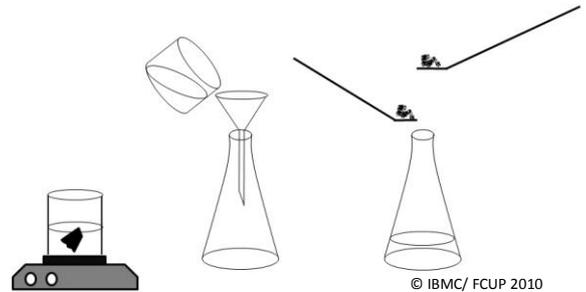
### Descrição

- 1- Preparação, esterilização e plaqueamento do meio cultura;
- 2- Preparação do inóculo bacteriano;
- 3- Preparação de extracto aquoso de alho;
- 4- Bioensaio;
- 5- Observação e discussão dos resultados.

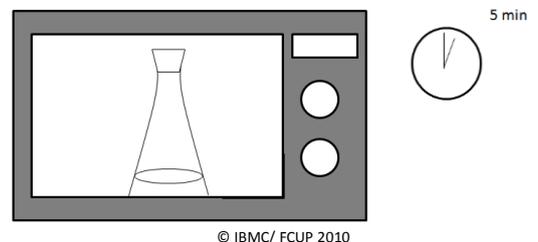
### Procedimento

#### 1. Preparação e esterilização do meio de cultura

Para preparar 250 mL de agar de carne: cozer 150 g de carne (vaca ou porco); desprezar a carne; depois de arrefecer, filtrar a solução através de gaze para um frasco de 1 L; adicionar 6 g de açúcar, 1.25 g de sal e 3.75 g de agar; misturar bem.

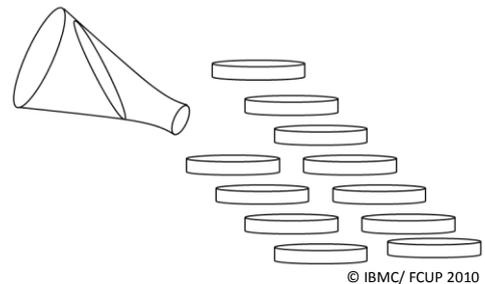


Esterilizar o meio de cultura utilizando o microondas (900 W) durante cinco minutos (para evitar sobreaquecimento, o aquecimento deve ser descontínuo: recomenda-se a utilização de ciclos de 1 minuto de aquecimento intercalados com períodos de 30 segundos de arrefecimento).



#### 2. Plaqueamento do meio de cultura

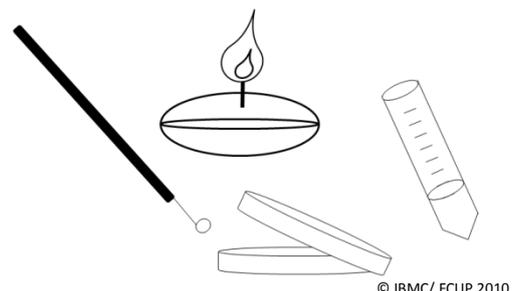
Numa bancada recentemente desinfectada, colocar o meio de cultura nas placas de Petri, quando este estiver aproximadamente a 45° C (evitando a solidificação do agar).



Aguardar que o meio solidifique e inverter as placas.

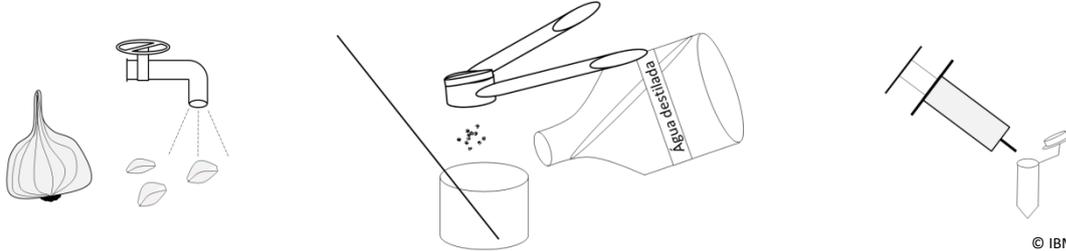
#### 3. Preparação do inóculo bacteriano

Preparar suspensões de *Bacillus* sp, transferindo uma pequena quantidade de células de uma cultura em placa para um tubo com 5 mL de água destilada esterilizada, e agitando cuidadosamente para homogeneizar o conteúdo.



#### 4. Preparação do extracto aquoso de alho

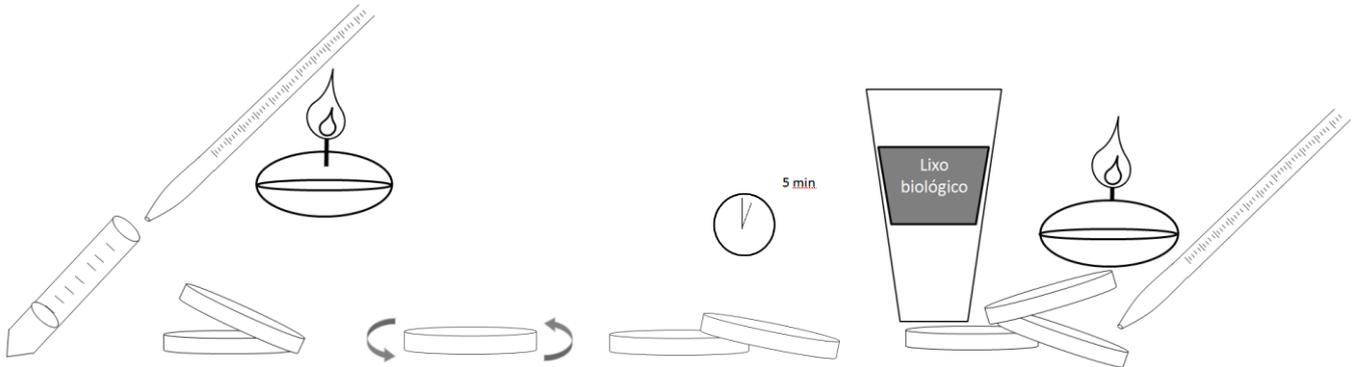
Descascar e lavar em água corrente três ou quatro dentes de alho de tamanho médio. Esmagar os dentes de alho até obter entre 3 a 5 g de alho triturado e adicionar a mesma proporção de água destilada esterilizada (1:1). Depois de misturar, filtrar a solução através de uma seringa contendo gaze para tubos esterilizados.



© IBMC/ FCUP 2010

#### 5. Preparação das placas

Transferir 1 mL de suspensão bacteriana para uma placa de meio; rodar cuidadosamente a placa fechada para distribuir a suspensão homogeneamente; deixar a placa inclinada durante cinco minutos e remover o excesso de suspensão com uma pipeta esterilizada.



© IBMC/ FCUP 2010

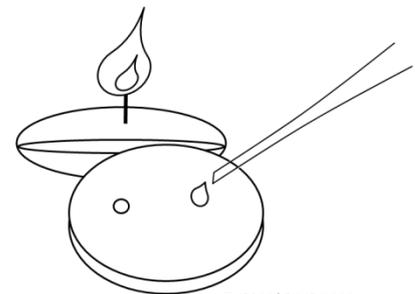
Deixar as placas repousar sem inverter durante cerca de cinco minutos.

Legendar as placas.

#### 6. Bioensaio

Com uma pipeta de Pasteur esterilizada, aplicar uma gota de água destilada esterilizada (aproximadamente 20  $\mu$ L) num dos lados de cada placa. Aplicar uma gota de extracto no outro lado.

Deixar as placas repousar sem inverter até a água e o extracto se d posição invertida durante 8 a 10 horas a 37° C.



© IBMC/ FCUP 2010

### BIOSSEGURANÇA

Os participantes na actividade deverão lavar bem as mãos antes e após a realização da actividade. Todos os procedimentos deverão ser realizados em superfícies previamente desinfetadas com etanol. No final da experiência todo o material que tiver estado em contacto com as culturas bacterianas deverá ser devidamente esterilizado antes de ser eliminado.