



UVV

CURSO DE BIOMEDICINA

Lucas Neri de Oliveira da Silva

Validação de meios de cultura seletivos utilizados para isolamento de *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, baseado no método ecométrico

**VILA VELHA
2024**



UVV

Lucas Neri de Oliveira da Silva

Validação de meios de cultura seletivos utilizados para isolamento de *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, baseado no método ecométrico

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Vila Velha, para atender aos pré-requisitos para graduação como bacharel em biomedicina. Orientação: Prof. João Damasceno L. Martins

**VILA VELHA
2024**



UVV

Validação de meios de cultura seletivos utilizados para isolamento de *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, baseado no método ecométrico

RESUMO

As enterobactérias representam um grupo diversificado de bactérias gram-negativas encontradas em variados ambientes. A seleção de meios de cultura seletivos desempenha um papel crucial na detecção desses microrganismos, permitindo a inibição do crescimento de outros organismos presentes na amostra e, assim, facilitando a identificação. No entanto, é fundamental validar a eficácia desses meios de cultura para assegurar a precisão e a confiabilidade dos resultados. Tradicionalmente, essa validação envolve testes como sensibilidade, especificidade e capacidade de recuperação. A partir destas considerações, o objetivo deste trabalho é realizar a validação dos meios de cultura seletivos para a bactéria *Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium* a partir do teste ecométrico. A bactéria *Escherichia coli* conseguiu crescer nos diferentes tipos de meios de cultura avaliados (ágar MacConkey, ágar XLD, ágar Hektoen e ágar *Salmonella/Shigella*). Os valores de ICA igual a 5, foram encontrados em todos os meios de cultura. O mesmo aconteceu para a bactéria *Salmonella typhimurium*, com o ICA atingindo os mesmos valores. Os resultados permitem concluir que os meios de cultura estão de acordo com a funcionalidade proposta para cada um dos microrganismos testados. O teste ecométrico se revelou eficaz em permitir validar os meios de cultura utilizados. O processo de validação dos meios de cultura utilizados na rotina de um laboratório de análises, deve fazer parte do programa da garantia da qualidade do laboratório.

Palavras-chave: Teste ecométrico. Bactérias entéricas. Controle de qualidade. Laboratório.



UVV

Validation of selective culture media used for isolation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, based on the Echometric method

ABSTRACT

Enterobacteria represent a diverse group of gram-negative bacteria found in a variety of environments. The selection of selective culture media plays a crucial role in the detection of these microorganisms, allowing the inhibition of the growth of other organisms present in the sample and, thus, facilitating identification. However, it is essential to validate the effectiveness of these culture media to ensure the accuracy and reliability of the results. Traditionally, this validation involves tests such as sensitivity, specificity and recoverability. Based on these considerations, the objective of this work is to validate selective culture media for the bacteria *Escherichia Coli* and *Salmonella Typhimurium* based on the echometric test. The bacterium *Escherichia coli* was able to grow in the different types of culture media evaluated (MacConkey agar, XLD agar, Hektoen agar and *Salmonella/Shigella* agar). ICA values equal to 5 were found in all culture media. The same happened for the bacterium *Salmonella typhimurium*, with the ICA reaching the same values. The results allow us to conclude that the culture media are in accordance with the proposed functionality for each of the microorganisms tested. The echometric test proved to be effective in allowing the culture media used to be validated. The process of validating culture media used in the routine of an analytical laboratory must be part of the laboratory's quality assurance program.

Key-words: Echometric test. Enteric bacteria. Quality control. Laboratory.



UVV

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. METODOLOGIA	7
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
4. CONCLUSÃO	16
5. REFERÊNCIAS.....	16



1. INTRODUÇÃO

A pesquisa microbiológica é fundamental para compreender as interações entre microrganismos e seu ambiente, podendo levar a avanços significativos na medicina, na agricultura, na indústria alimentícia, na biotecnologia e até mesmo na pesquisa genômica (DE AZEVEDO, 2008). No contexto específico das bactérias, a escolha de meios de cultura adequados é essencial para investigar suas características, comportamentos e potenciais patogênicos (KASVI, 2024; MSD MANUAL, 2022; GVS, 2024).

Nesse contexto, a escolha de meios de cultura específicos desempenha um papel crucial na detecção desses microrganismos, permitindo a inibição do crescimento de outros organismos presentes na amostra e, assim, facilitando a identificação. No entanto, é fundamental validar a eficácia desses meios de cultura para assegurar a precisão e a confiabilidade dos resultados. Tradicionalmente, essa validação envolve testes como sensibilidade, especificidade e capacidade de recuperação (PESSÔA *et al.* 1972; DE ABREU *et al.* 2005; GELLI *et al.* 2003).

A validação dos meios de cultura se apresenta como uma forma de controle de qualidade pelos laboratórios, verificando e revisando seu métodos analíticos e a eficiência dos meios de cultura (GELLI; RISTORI; BUZZO, 2003).

Microrganismos, como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella* e *Proteus*, são indicadores de contaminação fecal e patogenicidade, tornando-os cruciais para estudos ambientais e sanitários. As enterobactérias representam um grupo diversificado de bactérias gram-negativas encontradas em variados ambientes, como solo, trato gastrointestinal de humanos e animais, corpos d'água e plantas (SILVA, 2019; DE SOUZA, 2013).

No contexto das enterobactérias, que incluem diversos gêneros de bactérias gram-negativas, os testes ecométricos podem ser particularmente úteis. Estes testes são projetados para medir a resposta de organismos a diferentes condições ambientais, fornecendo dados valiosos para a análise da saúde de ecossistemas e a identificação de fatores que afetam a biodiversidade e a sustentabilidade (OLIVEIRA



et al. 2023).

O teste ecométrico se apresenta como uma ferramenta semiquantitativa que permite a validação de meios de cultura seletivos para diversos microrganismos e também, para as enterobactérias. Esse método se baseia na análise da atividade metabólica dos microrganismos na amostra, permitindo uma avaliação rápida e objetiva do desempenho do meio de cultura. O teste ecométrico oferece diversas vantagens em relação aos métodos tradicionais de validação, podendo destacar, sua capacidade de fornecer resultados em tempo real possibilitando uma avaliação rápida do desempenho do meio de cultura, reduzindo significativamente o tempo necessário para a validação e também, sua natureza objetiva minimiza o potencial de viés humano na interpretação dos resultados, aumentando assim a confiabilidade dos dados obtidos (GELLI *et al.* 2003; SILVA, 2021)

De acordo com MELO e AZEVEDO (1998), a utilização de testes ecométricos com enterobactérias permite uma compreensão mais aprofundada das dinâmicas microbianas em ambientes naturais e antropogênicos. A aplicação desses testes envolve a exposição dos microrganismos a diferentes condições ambientais, como variações de temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes, e a observação de suas respostas adaptativas e taxas de sobrevivência (UFRGS, 2023).

A partir destas considerações, o objetivo deste trabalho é realizar a validação de meios de cultura seletivos para *Escherichia Coli* e *Salmonella Typhimurium* a partir do teste ecométrico.

2. METODOLOGIA

A avaliação dos meios de cultura ocorreu entre os meses de agosto e setembro de 2024, sendo realizada nas dependências do Laboratório de Microbiologia da Universidade Vila Velha.

Quatro meios de cultura foram avaliados, todos à base de ágar ágar, que são: Ágar MacConkey, Ágar Salmonella – Shigella, Ágar Hektoen e Ágar XLD (Xilose Lisina Desoxicolato). Os meios de cultura foram preparados conforme recomendações do fabricante de cada marca.

Para esta avaliação utilizamos cepas padrão ATCC (American Type Culture Collection) que foram: *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. Estas cepas padrão foram cultivadas inicialmente em placas contendo ágar Nutriente - caldo BHI.

Para início do teste ecométrico, as bactérias teste foram mantidas em caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), por 18 horas à 30°C (MOSSEL *et al.*, 1983 APUD SAMPAIO, 2006). Destas foi feita diluição decimal seriada (diluições em série aplicadas no meio de cultura), em água peptonada 0,1% até 10^{-4} .

Essa metodologia utiliza o índice de crescimento absoluto (ICA) como uma métrica para avaliar a produtividade e a seletividade de meios de cultura. A interpretação dos resultados ocorre com base no ICA de cada meio testado, o qual é calculado de forma quantitativa por meio do crescimento observado em diferentes estrias de uma placa de petri. A partir de cada cepa teste e de cada diluição foram feitas estrias nas placas conforme a figura 1, abaixo.

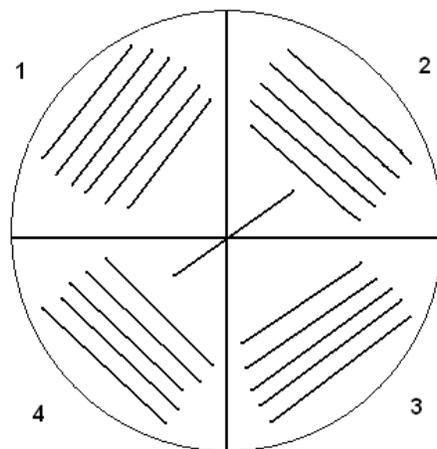


Figura 1. Modelo de estrias para o teste ecométrico.
Fonte: MAPA, 1992 APUD SAMPAIO, 2006.

Para a interpretação dos resultados pela análise visual, será calculado o índice de crescimento absoluto (ICA), comparando em qual diluição o ICA foi maior para o respectivo meio em teste, identificando qual e o limite detectável de microorganismos. O método foi realizado da seguinte forma: A placa de petri foi



dividida em 4 quadrantes, e cada quadrante foi feito 5 estria com uma alça de inoculação descartável estéril 1uL. Cada estria é dado o valor de 0,2 (precisão do método), o qual é multiplicado pelo número de estrias nas quais se observou crescimento, desconsiderando a estria central, valor dado caso ocorra crescimento, e 1,0. Após a inoculação, as placas foram mantidas na estufa com permanência de 24 Horas entre 36,5 °C e 37 °C. O ICA foi calculado pela soma dos valores obtidos. Para o ICA, foram considerados os seguintes critérios de avaliação: para a *produtividade*, todas as cepas desejadas em um meio de cultivo não seletivo devem ter $ICA \geq 3,5$; para a *seletividade*, as cepas não desejadas nos meios seletivos não devem ter $ICA \leq 2$. Para as cepas desejadas, o ICA deve ser ≥ 2 (SAMPAIO, 2006).

Formula da metodologia caso ocorra crescimento em todas as estrias:

$$ICA^{Qx} = 0,2 \times 5 = 1,0$$

$$ICA^T = 1,0 \times 4 + 1,0 = 5,0$$

Legenda da formula do metodo ecometrico:

ICA^{Qx} = Índice de Crescimento Absoluto das cinco estrias de um quadrante selecionado.

ICA^T = Índice de Crescimento Absoluto de toda a placa de petri analisada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A bactéria *Escherichia coli* conseguiu crescer nos diferentes tipos de meios de cultura avaliados (ágar MacConkey, ágar XLD, ágar Hektoen e ágar Salmonella/Shigella). Os valores de ICA igual a 5, foram encontrados em todos os meios de cultura para a diluição 10^0 , apresentando variações nas diluições seguintes, porém, apresentando valores abaixo de 2, apenas no ágar MacConkey (0,8 na diluição 10^{-4}) e ágar Salmonella-Shigella (0,6, diluição 10^{-4}), conforme observado nos quadros 1; 2; 3 e 4 da bactéria E. Coli, logo abaixo.



Quadro 1. Crescimento de *E. coli* em ágar MacConkey.

Escherichia Coli	Diluições da placa ágar MacConkey				
Quadrantes	0	-1	-2	-3	-4
1	1	1	1	1	0,8
2	1	1	1	1	0
3	1	1	1	1	0
4	1	1	1	1	0
5	1	1	1	0	0
Total	5	5	5	4	0,8

Quadro 2. Crescimento de *E. coli* em ágar Salmonella-Shigella.

Escherichia Coli	Diluições da placa ágar Salmonella Shigella				
Quadrantes	0	-1	-2	-3	-4
1	1	1	1	1	0,6
2	1	0,4	1	1	0
3	1	1	1	0,8	0
4	1	1	0,4	0,8	0
5	1	0	0	1	0
Total	5	3,4	3,4	4,6	0,6



Quadro 3. Crescimento de *E. coli* em ágar Hecktoen.

Escherichia Coli	Diluições da placa ágar Hektoen				
	0	-1	-2	-3	-4
1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	0,6
3	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1
Total	5	5	5	5	4,6

Quadro 4. Crescimento de *E. coli* em ágar XLD.

Escherichia Coli	Diluições da placa ágar XLD				
	0	-1	-2	-3	-4
1	1	1	1	1	0,8
2	1	1	1	1	0,2
3	1	1	1	1	0
4	1	1	1	0,8	0,4
5	1	1	1	1	1
Total	5	5	5	4,8	2

Embora o crescimento desta bactéria em meios de cultura muito tradicionais seja o esperado, é importante este tipo de avaliação quando se busca realizar o controle de qualidade destes meios, seja na condição de se adquirir novo lote, nova marca ou mesmo, eventualmente, no uso de alguns destes meios que excederam o seu



prazo de validade (SAMPAIO, 2006).

Enterobactérias como *E. coli*, conseguem facilmente crescer em vários meios de cultura seletivos utilizados para esta família (ANVISA, 2004). O ágar MacConkey é amplamente utilizado para pesquisa de *E. coli* a partir de diversas amostras, seja água, alimentos ou biológicas (DA SILVA *et al.*, 2001; NUNES; SILIANO, 2016; OSSUGUI *et al.*, 2022). Seu caráter seletivo diz respeito à presença de Sais biliares que tem como função atuar como um agente seletivo, inibindo o crescimento das bactérias gram-negativas e gram-positivas enquanto o Cristal violeta age como um agente seletivo que inibe principalmente as bactérias Gram-positivas, interferindo na síntese da parede celular. como ingredientes.

O padrão de crescimento de *E. coli* em ágar MacConkey é formar colônias de coloração rosa, indicando fermentação de Lactose (KONEMANN *et al.*, 2008). Este padrão de crescimento foi facilmente encontrado nesta pesquisa, atestando o princípio de uso deste meio de cultura.

O ágar Salmonella-Shigella (SS) tem indicação de uso para isolamento destes dois gêneros de Enterobactérias (*Salmonella* sp. e *Shigella* sp.) (ANVISA, 2004). Porém, é rotina o uso do ágar SS em várias publicações pesquisando, principalmente, a bactéria *Salmonella* sp. em alimentos e também, em amostras biológicas de origem humana e animal (PAIVA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2022; FASANELO *et al.*, 2024).

O caráter seletivo deste meio é dado pela presença de Sais biliares e Citrato de Sódio, que tem por meio desse ser um indicativo que a bactéria tem capacidade de fazer metabolismo ou não. sendo esse o motivo dos isolados fermentadores de lactose, apresentarem colônias com coloração rosada e os não fermentadores de lactose, terão cor clara com centro negro, indicando também, a produção de Sulfeto de Hidrogênio (H₂S), (BRASIL, 2011). Embora este meio tenha uma indicação de seletividade para os gêneros citados acima, a *E. coli* consegue crescer satisfatoriamente (NASCIMENTO *et al.*, 2000) e sendo esta, exemplo de bactéria fermentadora de lactose, terá apresentação de colônias na cor rosa, sem formação de H₂S (KONEMANN *et al.*, 2008), assim como a *E. coli* testada nesta avaliação.



Os meios de cultura ágar XLD e ágar Hektoen tem como indicações de seletividade as bactérias dos gêneros *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. porém, também permitindo em ambos o crescimento de *E. coli* (DA SILVA *et al.*, 2017). Estes dois meios estão entre os aprovados para pesquisa de *Salmonella* sp. em alimentos e permitem detectar a fermentação de açúcares (sacarose e lactose), produção de H₂S, descarboxilação da Lisina (apenas o ágar XLD) e utilizam como agentes inibidores os Sais biliares (BRASIL, 2011).

O fato da *E. coli*, apesar dos agentes inibidores, crescer nestes meios, se entende por estar adaptada ao ambiente entérico e por isso, os Sais biliares não terem a ação seletiva direcionada contra ela (KONEMANN *et al.*, 2008). Os ICAs para *E. coli* demonstram também está condição nos dois meios de cultura comentados, estando abaixo de 5 apenas na diluição 10⁻⁴ para o ágar Hektoen (quadro 3) e na diluição 10⁻³ e 10⁻⁴ para o ágar XLD (quadro 4).

A *E. coli* nestes meios de cultura, por fermentar a lactose e não produzir H₂S, deve apresentar colônias na cor salmão (ágar Hektoen) e na cor amarela (ágar XLD) (BRASIL, 2011). Este padrão de colônias foi facilmente reconhecido como resultados desta pesquisa em ambos os meios.

Já para a bactéria *Salmonella typhimurium*, observou-se um crescimento em todos os meios de cultura. Os valores de ICAs para o ágar MacConkey foi abaixo de 2 a partir da diluição 10⁻² (Quadro 5). Para o ágar SS, este mesmo valor foi abaixo de 2, somente na diluição 10⁻⁴ (Quadro 6). Em relação aos meios ágar Hektoen e ágar XLD o ICA abaixo de 2 foi observado, respectivamente, nas diluições 10⁻³ (Quadro 7) e 10⁻⁴ (Quadro 8), conforme observado nos quadros 5; 6; 7 e 8 da bactéria *Salmonella*, logo abaixo.



Quadro 5. Crescimento de *Salmonella typhimurium* em ágar MacConkey.

Salmonella	Diluições da placa ágar MacConkey				
	0	-1	-2	-3	-4
1	1	0,6	0,2	0	0,2
2	1	0,2	0,2	0	0
3	1	0,2	0	0	0
4	1	0,2	0,2	0	0
5	1	1	1	0	1
Total	5	2,2	1,6	0	1,2

Quadro 6. Crescimento de *Salmonella typhimurium* em ágar Salmonella-Shigella.

Salmonella	Diluições da placa ágar Salmonella Shigella				
	0	-1	-2	-3	-4
1	1	1	1	0,4	0,4
2	1	1	0,4	0	0,2
3	1	1	0,6	0,4	0
4	1	1	1	0,2	0
5	1	1	1	1	1
Total	5	5	4	2	1,6



Quadro 7. Crescimento de *Salmonella typhimurium* em ágar Hektoen.

Salmonella	Diluições da placa ágar Hektoen				
Quadrantes	0	-1	-2	-3	-4
1	1	1	1	0,2	0,2
2	1	1	1	0,2	0,2
3	1	1	0,6	0,2	0,2
4	1	1	0,6	0,2	0
5	1	1	1	0	0
Total	5	5	4,2	0,8	0,6

Quadro 8. Crescimento de *Salmonella typhimurium* em ágar XLD.

Salmonella	Diluições da placa ágar XLD				
Quadrantes	0	-1	-2	-3	-4
1	1	1	1	0,4	0
2	1	0,4	1	0,4	0
3	1	1	0,6	0	0
4	1	1	0,6	0,4	0
5	1	1	1	1	0
Total	5	4,4	4,2	2	0

Valores de ICA para meios de cultura seletivos abaixo de 2, são considerados ruins para cepas desejadas. Os resultados demonstram que os meios de cultura se mostraram eficientes para o crescimento das bactérias a que se destinam (SAMPAIO, 2006).

Os meios de cultura utilizados possuem indicações de seleção distintas, dependendo da bactéria, e apresentam perfis diferenciais variados, especialmente no que diz respeito ao comportamento na fermentação da lactose. No ágar



MacConkey, a *Salmonella* produz colônias na cor clara e com o centro escuro, em função da produção de sulfeto de hidrogenio - H₂S . No ágar SS, este mesmo perfil é reconhecido. Já para o ágar Hektoen, esta bactéria vai apresentar coloração esverdeada, pois não fermenta a lactose, porém, com o centro negro, devido a produção de H₂S, assim como em relação ao ágar XLD, a coloração da colônia será avermelhada, com produção de centro negro com produção de H₂S (KONEMANN et al., 2008; BRASIL, 2011). Nesta pesquisa, em todos estes meios de cultura, a *Salmonella* teve apresentação conforme o padrão esperado, indicando que os meios estavam de acordo com a funcionalidade proposta.

4. CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que os meios de cultura avaliados estão de acordo com a funcionalidade proposta para o isolamento e identificação de *Escherichia Coli* e *Salmonella Typhimurium*.

"O teste ecométrico se revelou eficaz na validação dos meios de cultura utilizados, evidenciando sua seletividade e especificidade. Além disso, destaca-se como benefício o baixo custo econômico do método e sua simplicidade."

O processo de validação é essencial para garantir a confiabilidade dos resultados em análises microbiológicas e deve fazer parte dos programas de garantia da qualidade em laboratórios.

5. REFERÊNCIAS

BOY, Luciana. **Análise microbiológica da água para consumo humano em diferentes localidades. 2013.** 49 f. Monografia (Especialização em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD9GXR66/1/monografia_luciana_boy_esp_micro.pdf. Acesso em: 20 maio 2024.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* / Ministério da Saúde.** Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.



UVV

DA SILVA, Z. N.; DA CUNHA, A. S.; LINS, M. C.; CARNEIRO, L. A. ALMEIDA, A. C. F.; QUEIROZ, M. L. P. Isolation and serological identification of enteropathogenic *Escherichia coli* in pasteurized milk in Brazil. **Rev Saúde Pública** 2001;35(4):375-9.

DA SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Água e Alimentos. 5ª Ed. São Paulo: Blucher. 2017.

DE AZEVEDO, João Luicio et al. Microbiologia ambiental. 2008.

DE ABREU, Simone Cristina; CABRAL, Mirela Moraes Waldemarin. Análises microbiológicas de placas de corte de madeira para identificação de bactérias pertencentes ao grupo das Enterobacteriaceae. **INVESTIGAÇÃO**, v. 5, n. 1-6, 2005.

DENTON, M. Enterobacteriaceae. **International journal of antimicrobial agents**, v. 29, p. S9-S22, 2007.

FASANELO, M.G.; BORGES, A. C. B.; GODOI, M. A. R.; NUNES, M. C. R.; SHENG, L. Y.; BADINI VIEIRA, T. Pesquisa de *Salmonella* sp. em frutas minimamente processadas comercializadas em Sinop – MT. **Scientific Electronic Archives**, [S. l.], v. 17, n. 1, 2023. DOI: 10.36560/17120241839. Disponível em: <https://sea.ufr.edu.br/index.php/SEA/article/view/1839>. Acesso em: 16 nov. 2024.

GELLI, D. S.; RISTORI, C. A.; BUZZO, A. A. Controle de qualidade em laboratório de microbiologia de alimentos e avaliação de desempenho de meios de cultura no isolamento de *Salmonella* spp. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 62(3): 159 - 164, 2003.

KONEMAN, E. W.; JANDA, W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G.; WINN Jr., W. **Diagnóstico Microbiológico**. Texto e atlas colorido. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LOPES, J. B. S. et al. Rastreamento de falhas de rolamentos usando a transformada wavelet e a análise de componentes independentes. **Controle & Automação**, São Carlos, v. 18, n. 3, p. 270-282, Set. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/JxgFXRK39fSJ4tXHGfK99yH/>. Acesso em: 26 maio 2024.

MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. Ecologia microbiana. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. 488 p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/13052>. Acesso em: 18 maio 2024.

Ministério da Saúde (Brasil). Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.



Disponível em:
https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_mod4.pdf.
Acesso em: 26 maio 2024.

NASCIMENTO, M. S.; BERCHIERI, J. A.; BARBOSA, M. D.; ZANCAN, F. T.; ALMEIDA, W. A. F. Comparação de Meios de Enriquecimento e de Plaqueamento Utilizados na Pesquisa de *Salmonella* em Carcaças de Frango e Fezes de Aves. **Braz. J. Poult. Sci.** 2 (1) • Abr 2000.

NUNES, K. O.; SILIANO, P. R. Identificação de Bactérias Presentes em Aparelhos Celulares. **Science in Health** jan-abr 2016; 7(1): 22-5.

OLIVEIRA, A. B.; SILVA, C. D.; SANTOS, F. E.; PEREIRA, G. H.; SOUZA, I. J. Validação de meios de cultura seletivos para enterobactérias utilizando o teste ecométrico. *Revista Brasileira de Microbiologia*, v. 45, n. 2, p. 123-130, 2023.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**. 2ª edição. São Paulo – SP: Editora Sarvier, 2004.

OSSUGUI, E. H.; PEREIRA, Y. L.; DA CUNHA, A. D.; LOPES, G. V.; DA SILVA, W. P. Isolamento de *Escherichia coli* em Fezes e em Diferentes Pontos da Linha de Abate Bovino em dois Matadouros Frigoríficos da Região Sul do Rio Grande do Sul. **8ª Semana Integrada UFPEL**, 2022. XXIV Encontro de Pós-Graduação.

PAIVA, J. B.; STERZO, E. V.; RIBEIRO, S. A.; PEREIRA, E. A.; JUNIOR, A. B. Isolamento de *Salmonella*: Comparação das Etapas de Pré-enriquecimento e Enriquecimento Direto de Amostras de Fezes Armazenadas por 24 e 96 Horas. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.73, n.3, p.263-269, jul./set., 2006.

PESSÔA, Gil Vital Alvares; SILVA, Eny Aparecida Matheus. Meios Rugai e Lisina-Motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, p. e37031-e37031, 1972.

SAMPAIO, T. Validação de Meios de Cultura Utilizados em Análises Microbiológicas de Alimentos. 2006. 10.13140/RG.2.1.2016.9126.

SILVA, José da. Enterobacteriaceae. Disponível em: <https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/5_aula_enterobacteriaceae.pdf>. Acesso em: 20 maio 2024.

SILVA, E. L. B.; SOUZA, J. T.; LUZ, K. S. S.; SANTOS, B. S.; VERAS, I. V. U. M.; SIILVA, J. B. A. Análise microbiológica de *Salmonella* sp. em carne bovina e de frango comercializadas em Mossoró-RN. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, e537111134003, 2022.

SILVA, Karla Tereza. Guia de identificação de enterobactérias. Brasília: CAPES, 2021. Disponível em: https://educapes.capes.gov.br/bitstream/capes/704405/2/Guia_Ident_Enterobactér



UVV

ias%202021%20Karla%20Tereza.pdf. Acesso em: 22 maio 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Testes ecométricos. Disponível em: https://www.ufrgs.br/aulaspraticasdempip/?page_id=70. Acesso em: 21 maio 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. Microbiologia aplicada à Engenharia Ambiental. Santa Maria, 2018. 1 documento PDF (263 p.). Disponível em:

https://www.ufsm.br/app/uploads/sites/413/2018/12/04_microbiologia_aplicada.pdf. Acesso em: 26 maio 2024.