



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



# **ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE BARRAS DE CEREAIS E CEREAIS MATINAIS, COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PELOTAS - RS**

**FERNANDA CORRÊA DA SILVA VASCONCELLOS**

**MONOGRAFIA DE CONCLUSÃO DE CURSO**



Universidade Federal de Pelotas  
Campus Universitário s/n°  
Caixa Postal 354, CEP 96010-900  
Pelotas – RS – Brasil

2006

FERNANDA CORRÊA DA SILVA VASCONCELLOS

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE BARRAS DE CEREAIS E  
CEREAIS MATINAIS, COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE  
PELOTAS - RS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dra. Gladis Aver Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas.

PELOTAS

Rio Grande do Sul – Brasil

Outubro de 2006

## Banca Examinadora

Profª. Dra. Gladis Aver Ribeiro

Profª. Msc. Adriane Maria Delgado Menezes

Msc. Helen Silveira Coimbra

Profª. Dra. Patrícia da Silva Nascente

*Dedico*

Aos meus pais e ao meu irmão.

## AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, pela minha vida e proteção;

Aos meus pais, Neister e Elizabeth, pelo apoio e incentivo, nos momentos complicados e de incerteza na minha vida;

Ao meu irmão Gabriel, pela amizade, companheirismo, e alegrias que me proporcionou incansavelmente;

A minha Dinda Martha por ser minha segunda mãe;

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Gladis Aver Ribeiro, pela paciência, amizade e incentivo à pesquisa;

Aos meus amigos e colegas de aula Alessandra, Dávia, João, Michele e Taciane pela amizade, incentivo e descontração em todos os momentos durante o caminho percorrido na graduação;

Aos colegas de laboratório Natália, Rafael e Patrícia, que me auxiliaram a dar os meus “primeiros passos” dentro do laboratório de Microbiologia;

As colegas de laboratório Simone, Rosana e Vanessa pela amizade e companheirismo;

A todos que me incentivaram direta ou indiretamente, para realização da graduação e finalmente deste trabalho.

*Só em Deus encontrarei glória e salvação.  
Ele é meu rochedo protetor, meu refúgio está Nele.*

*Sl 61-8*

## RESUMO

Os alimentos saudáveis e prontos estão com uma forte tendência de consumo, devido à necessidade de uma alimentação balanceada e de um bem-estar físico e emocional. Com isso, as barras de cereais e os cereais matinais surgiram com a finalidade de auxiliar na alimentação equilibrada fornecendo fibras, carboidratos e proteínas com baixo teor de calorias e gorduras. Portanto, para verificação microbiológica das barras de cereais e dos cereais matinais, foram analisadas 20 amostras de barras de cereais e dez de cereais matinais, no período de março a setembro de 2005, obtidos nos supermercados da cidade de Pelotas, a fim de analisar a presença dos microrganismos *Bacillus cereus*, Coliformes Termotolerantes e *Salmonella* spp. Para análise de *Bacillus cereus* foi utilizado o meio de cultura Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), sendo as colônias características estocadas em Ágar Nutriente para posteriores provas bioquímicas, para Coliformes Totais e Termotolerantes, os meios de cultura utilizados foram o Caldo Lactosado para o teste presuntivo, o Caldo Lactose Bile Verde Brilhante (CLBVB) para o teste confirmativo de Coliformes Totais e o Caldo EC para o teste confirmativo de Coliformes Termotolerantes e para análise de *Salmonella* spp. foram utilizados os caldos Rappaport, Tetracionato e Selenito e os Ágar HE e XLD para o isolamento de colônias, dos quais as típicas foram submetidas as provas bioquímicas. Todas as 20 amostras de barras de cereais estavam dentro dos padrões previstos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), ou seja, para *Bacillus cereus* o limite é de  $5 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>, para Coliformes Termotolerantes é de  $5 \times 10^3$  NMP.g<sup>-1</sup> e para *Salmonella* spp. é a ausência. Já para os cereais matinais, apenas uma amostra (10%) estava contaminada com *Bacillus cereus* ( $1,0 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>), no qual o limite é de  $5 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>. Com os resultados encontrados a partir das amostras analisadas do comércio de Pelotas, pode-se observar que estes alimentos não oferecem risco a saúde do consumidor.

Palavras-Chaves: barra de cereais; cereais matinais; *Bacillus cereus*; Coliformes Termotolerantes; *Salmonella* spp.

## ABSTRACT

The healthy and prepared foods they're with strong trend of consumption, just of necessity a balanced alimentations, physical and emotion welfare. With this, the cereals bars and breakfast cereals had appeared with the purpose of assisting in equilibrate alimentation supplying fibres, carbohydrates and proteins with low calories and fats. Therefore, for verification of the cereals bars and breakfast cereals had been analysed 20 samples of cereals bars and ten of breakfast cereals, between March a September 2005, obtained of supermarket of the Pelotas city, with objective to analyze the presence *Bacillus cereus*, Thermotolerant Coliform and *Salmonella* spp. microorganisms. For analyse of *Bacillus cereus* was used Agar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), where characteristics colonys thrust in Agar Nutriente for backsides biochemistry tests, for Thermotolerant and Total Coliforms was used Lactosado Broth for the presuntive test, Brilliant Green Lactose Bile Broth for confirmative test of Total Coliform and EC Broth for confirmative test of Thermotolerant Coliform and to analyse *Salmonella* spp. was used Rappaport, Tetracionato and Selenito Broths and HE and XLD Agar for colonys isolation, at the typical colonys went submitted the biochemistry tests. All the 20 samples of cereals bars was within expected standart of Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), or be, for *Bacillus cereus* this limit is this  $5 \times 10^2$  UFC.  $g^{-1}$ , for Thermotolerant Coliform is this  $5 \times 10$  NMP. $g^{-1}$  and for *Salmonella* spp. is this absence. Now for breakfast cereals, just one sample (10%) was contaminated with *Bacillus cereus* ( $1,0 \times 10^4$  UFC.  $g^{-1}$ ), in which the limit is this  $5 \times 10^3$  UFC.  $g^{-1}$ . Finally, these results demonstrated these foods don't offer to risk consumer's health.

Key – Words: Cereals bars; Breakfast cereals; *Bacillus cereus*; Thermotolerant Coliform; *Salmonella* spp.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes .....	21
Figura 2: Análise de <i>Bacillus cereus</i> .....	25
Figura 3: Detecção de <i>Salmonella</i> spp.....	28
Figura 4 – a: Provas bioquímicas realizadas para identificação de <i>Bacillus cereus</i> encontrado nas amostras positivas. ....	30
Figura 4 – b: Provas bioquímicas realizadas para identificação de <i>Bacillus cereus</i> encontrado nas amostras positivas. ....	31
Figura 5: Fluxograma do processo de fabricação de barras de cereais .....	36
Figura 6: Fluxograma do processo de fabricação de cereais matinais .....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reações bioquímicas características de *Escherichia coli* nos testes de IMViC.....20

Tabela 2: Reações bioquímicas características de *Bacillus cereus* .....24

Tabela 3: Contagem de *Bacillus cereus* nas amostras positivas .....29

# SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. OBJETIVO .....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	14
3.1 Qualidade e Segurança Alimentar .....	14
3.2 <i>Salmonella</i> spp.....	15
3.3 Coliformes Totais e Termotolerantes.....	16
3.4 <i>Escherichia coli</i> .....	16
3.5 <i>Bacillus cereus</i> .....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	18
4.1 Coleta e procedimento das análises.....	18
4.2 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes.....	18
4.3 Análise da presença de <i>Escherichia coli</i> .....	19
4.4 Contagem de <i>Bacillus cereus</i> .....	22
4.5 Detecção de <i>Salmonella</i> spp.....	26
5. RESULTADOS .....	29
6. DISCUSSÃO.....	32
7. CONCLUSÃO.....	35
8. REFERÊNCIAS.....	38
9. ANEXOS .....	41

# 1. INTRODUÇÃO

A preocupação do consumidor, com a qualidade dos alimentos e a conseqüente redução dos riscos à saúde vem aumentando ao longo dos anos. A segurança alimentar, que tem crescido em importância juntamente com os novos processos de industrialização e com as novas tendências do comportamento do consumidor, é entendida como a garantia do consumidor em adquirir um alimento que possua como característica intrínseca a sanidade, bem como atributos nutricionais e sensoriais desejáveis (BENEVIDES *et al.*, 2004). Entre as qualidades desejáveis que se devem relacionar com os alimentos está a isenção de microrganismos infecciosos. Pode não ser possível conseguir uma tolerância certa para todos os microrganismos com alguns procedimentos corretos de fabricação, a produção de alimentos com um número mais baixo possível de carga microbiana é o objetivo desejável (JAY, 1992).

Em um mundo faminto, a ingestão diária dos cereais pode ser a forma mais eficaz de obter nutrientes que cobrem as necessidades de energia e de crescimento, partindo de recursos alimentícios escassos e todos os povos da Terra têm uso destes produtos com mais propagação que de qualquer outro alimento (ICMSF, 1980).

A superfície externa dos grãos de cereais que se colhe, conserva alguns microrganismos adquiridos durante seu desenvolvimento, mas os microrganismos contaminantes procedem do solo, dos insetos e de outras fontes. Os grãos de cereais recém colhidos contém desde alguns mil a vários milhões de bactérias por grama e desde nenhum a várias centenas de mil de esporos de fungos (FRAZIER, *et al.*, 1993). Todos os cereais do campo estão expostos a uma grande variedade de microrganismos procedentes do pó, água, plantas enfermas, insetos, solo, fertilizantes e defecação de animais (ICMSF, 1980).

É de se esperar que a composição do trigo, do centeio, do milho e dos grãos de cereais estejam contaminados pelos microrganismos do solo, pelo ambiente dos locais onde se armazenam estes grãos e por outros microrganismos recolhidos

durante o tratamento destes produtos (JAY, 1992). Por isso, a melhor maneira de evitar o crescimento microbiano nos grãos é mantê-los secos (ICMSF, 1980).

Praticamente todo carboidrato ou substância derivada de carboidratos está sujeito à utilização como substrato para o crescimento microbiano, basicamente como fonte de energia. Por outro lado, a utilização, pelos microrganismos, dos produtos resultantes da hidrólise das proteínas, bem como de outras substâncias nitrogenadas não proteicas são os principais responsáveis pelas marcantes alterações dos alimentos em processos de deterioração. Ao lado dos microrganismos envolvidos em processos de deterioração, também existem inúmeras espécies patogênicas que podem contaminar os alimentos e, em algumas situações, encontrar neles um substrato adequado para a sua proliferação (ROITMAN *et al.*, 1988).

Dentre os microrganismos envolvidos no processo de contaminação dos grãos de cereais, destacam-se o *Bacillus cereus*, Coliformes Totais e Termotolerantes e a *Salmonella* spp., previstos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), dos quais as formas virulentas podem causar ao homem diarreia, náuseas, dores abdominais e febre podendo levar a morte em indivíduos imunodeprimidos.

Assim, duas fontes destes microrganismos são as barras de cereais e os cereais matinais que são produtos feitos com os mais diversos grãos, como o arroz, o milho, o trigo, a aveia podendo ser adicionado o mel, as frutas desidratadas, a castanha, o amendoim e o chocolate dentre tantos componentes.

Portanto, as barras de cereais e os cereais matinais são produtos que satisfazem o paladar dos consumidores que buscam uma alimentação equilibrada, gostosa e saudável, aliando ainda uma alimentação rica em fibras e carboidratos com baixa quantidade de calorias e gorduras.

## 2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi de avaliar as condições microbiológicas de barras de cereais e de cereais matinais, comercializados nos supermercados da cidade de Pelotas, RS – Brasil, através da investigação dos microrganismos *Bacillus cereus*, Coliformes Fecais (Termotolerantes) e *Salmonella* spp.

## 3. REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Qualidade e Segurança Alimentar

A educação, a informação e a motivação de todos que manipulam os alimentos, na indústria, no comércio e nos restaurantes, constituem os pontos essenciais de uma boa política de prevenção. De uma maneira mais geral, todo o incremento de consciência coletiva em matéria de higiene não pode ser mais do que benéfico para a saúde (BOURGEOIS *et al.*, 1988).

A alimentação dentro dos padrões higiênicos satisfatórios é uma das condições essenciais para a promoção e manutenção da saúde, sendo que a deficiência nesse controle é um dos fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Os microrganismos estão intimamente associados com a disponibilidade, a abundância e a qualidade do alimento para o consumo humano. Alimentos são facilmente contaminados com microrganismos na natureza, durante manipulação e processamento. Após ter sido contaminado, o alimento serve como meio para o crescimento de microrganismos, os quais se tiverem condições de crescer, podem mudar as características físicas e químicas desse alimento, causando sua deterioração (PELCZAR *et al.*, 1996).

O controle sanitário dos alimentos se constitui em um conjunto de normas e técnicas utilizadas para verificar se os produtos alimentícios estão sendo produzidos, manipulados e distribuídos de acordo com as boas práticas de manipulação e fabricação de alimentos. Quando isto não é obedecido, muitos microrganismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, por exemplo, podem contaminar o alimento, tornando este um fator de risco a saúde do consumidor. A presença de coliformes é geralmente considerada indicadora de más condições higiênico-sanitárias (BENEVIDES *et al.*, 2004).

A análise microbiológica dos alimentos para se verificar a presença de microrganismos é fundamental para se conhecer as condições de higiene nas quais estes alimentos foram preparados (BRUM & RIBEIRO, 2001).

### 3.2 *Salmonella* spp.

Os insetos, os roedores, os pássaros, as pessoas podem contaminar os grãos com *Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella* ou *Klebsiella*. Destes gêneros, as salmonelas são as que trazem mais problemas (BROOKS, 1969 *apud* ICMSF, 1980). O gênero *Salmonella* spp. compreende espécies de bactérias na forma de bacilos Gram-negativos, anaeróbicos facultativos e não formadores de esporos. Seu habitat normal é o trato intestinal dos seres humanos e muitos animais. (TORTORA *et al.*, 2003).

As infecções humanas produzidas por salmonelas em geral ocorrem por ingestão de alimentos, água ou leite contaminados por fezes humanas ou de animais. As salmonelas são primariamente patógenos de animais (aves domésticas, suínos, pássaros, ovinos), os quais são as principais fontes de salmonelose não-tifóide em humanos (KONEMAN *et al.*, 2001).

A *Salmonella* é um dos microrganismos mais envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive o Brasil. A sua patogenicidade varia de acordo com o tipo sorológico, idade e condições de saúde do hospedeiro. As doenças causadas costumam ser divididas em febre tifóide, febre entérica e enterocolite ou salmonelose. (FRANCO *et al.*, 2001 *apud* BALIONI, 2003).

### 3.3 Coliformes Totais e Termotolerantes (Fecais)

O grupo dos Coliformes são definidos como bastonetes Gram-negativos aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de endósporos. Como algumas bactérias do grupo não são enterobactérias, e sim bactérias comumente encontradas em amostras de plantas e solo, muitos padrões para alimentos e água especificam a identificação de coliformes termotolerantes. O coliforme termotolerante predominante é a *Escherichia coli*, que constitui uma grande proporção da população bacteriana

entre coliformes termotolerantes e não termotolerantes. Em condições normais os coliformes não são por si só patogênicos, embora algumas linhagens possam causar diarreias e infecções urinárias oportunistas (TORTORA, *et al.*, 2003).

Em alimentos o índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas, de forma que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes (ZARDEH 2001 *apud* MATA, 2003).

### 3.4 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* é a espécie predominante entre os diversos microrganismos anaeróbios facultativos que fazem parte da microbiota intestinal de animais de sangue quente. O significado da presença de *E. coli* em um alimento deve ser avaliado sob dois ângulos. Inicialmente, *E. coli*, por ser uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento, indica que esse alimento tem uma contaminação microbiana de origem fecal e, portanto está em condições higiênicas insatisfatórias e outro aspecto a ser considerado é que diversas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e para os animais (FRANCO *et al.*, 1996).

Geralmente o agente *E. coli* é aceito como indicador de contaminação e pode sugerir a possível ocorrência e o crescimento de muitos outros patógenos mesófilos e entéricos (GILL *et al.*, 1998 *apud* MATA, 2003).

### 3.5 *Bacillus cereus*

O *Bacillus cereus* é uma bactéria grande, Gram-positiva, formadora de endósporos que é muito comum no solo e na vegetação, e geralmente é considerada inofensiva. Contudo, ela foi identificada como causa de surtos de doença veiculada por alimentos (TORTORA, *et al.*, 2003).

As substâncias alimentares desidratadas não são estéreis, alguns microrganismos e particularmente, alguns esporos bacterianos sobreviverão ao

processo de desidratação. Os esporos bacterianos são freqüentemente encontrados em cereais e outros alimentos (HOBBS, & ROBERTS., 1993).

O *B. cereus*, possui ampla distribuição geográfica, e pode ser encontrado em solos, água e pó ambiental, foi isolado de uma variedade de alimentos, incluindo verduras, carnes, cereais, leite fresco pasteurizado e leite em pó. A freqüência de intoxicação alimentar causada por *B. cereus*, doença mediada por uma toxina, aumentou nos últimos anos (KONEMAN *et al.*, 2001).

Existem dois tipos reconhecidos de intoxicações alimentares causadas por *B. cereus*: o diarréico e o emético. Ambos são autolimitantes e a recuperação ocorre dentro de 24h. O *B. cereus* produz toxinas diarréicas durante o crescimento no intestino delgado humano, enquanto as toxinas eméticas são pré – formadas no alimento. O tipo diarréico é causado por uma enteroxina diarréica, essa toxina é inativada a 56°C por 30min, enquanto que o tipo emético é causado por um peptídeo bastante resistente ao calor (126°C por 90min). Os sintomas da intoxicação alimentar diarréica são: diarréia aquosa, dores abdominais, náuseas e raramente vômitos e os sintomas da intoxicação alimentar emética são: náuseas, vômitos e dores abdominais com possibilidade de diarréia (FORSYTHE, 2002).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Coleta e procedimento das análises

As barras de cereais e os cereais matinais foram obtidos em supermercados da cidade de Pelotas e transportados na própria embalagem até o laboratório de Microbiologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP), UFPel para serem analisados. Cada barra de cereal contém 25g, logo uma barra foi destinada para a análise de Coliformes, outra foi para o teste de *Salmonella* spp. e outras duas barras (50g) foram para o teste de *Bacillus cereus*. Para os cereais matinais foram pesados 25g para a análise de Coliformes, 25g para *Salmonella* spp. e 50g para a análise de *Bacillus cereus*. Foram analisados no total 30 amostras, sendo que 20 foram de barras de cereais e dez de cereais matinais, no período de março a setembro de 2005. Antes da realização das análises o local e as embalagens foram desinfetados com álcool 70°.

### 4.2 Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes

A metodologia utilizada foi baseada em SILVA *et al.* (1997). As análises de Coliformes Totais e Termotolerantes foram feitas através da técnica do Número Mais Provável (NMP). Uma barra de cereal e 25g de cereal matinal foram homogeneizados, separadamente, com 225mL de água peptonada 0,1% e submetidos a diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  em tubos com 9mL de água peptonada. Depois de realizada as diluições, foi inoculado um mL de cada diluição em três tubos de Caldo Lactosado (CL) com tubos de Durham, que foram mantidos a 35°C por no máximo 48h, sendo esta etapa presuntiva. Os tubos que apresentaram turbidez e formação de gás dentro dos tubos de Durham foram considerados positivos, e destes foram retiradas de uma a duas gotas com uma alça de platina e inoculadas em tubos com Caldo Lactose Bile Verde Brilhante (CLBVB) com tubos de Durham e incubados a 35°C por 48h. Para confirmação de coliformes totais, após este período foram considerados positivos aqueles tubos que apresentaram a presença de gás e turbidez do meio de cultura, sendo expressos em  $\text{NMP.g}^{-1}$ . A partir dos tubos positivos de

coliformes totais foram retiradas de uma a duas gotas do caldo e inoculadas em tubos com Caldo EC contendo tubos de Durham que foram incubados em banho Maria a 45,5°C por 48h. Após este período foi observado a turbidez e produção de gás, sendo estes tubos positivos para coliformes termotolerantes, sendo o resultado expresso em NMP.g<sup>-1</sup> (Figura 1).

### 4.3 Análise de presença de *Escherichia coli*

De cada tubo de Caldo EC positivo, foi retirada uma alçada do meio e estriada em placas contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) que foram incubadas a 35°C por 24h para a análise de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico).

Havendo colônias típicas, foram transferidas duas colônias isoladas de cada placa para tubos contendo Ágar Nutriente, que foram incubadas a 35°C por 48h para posteriores provas bioquímicas de indol, motilidade, produção de H<sub>2</sub>S, MR-VP e citrato (IMViC) (Figura 1). Todos estes testes podem ser inoculados a partir de uma única alçada de cultura, porém, o teste de citrato deve ser o primeiro, para evitar a introdução de compostos dos outros meios.

Com uma agulha de platina foi inoculada uma alçada com inóculo bem leve da cultura no tubo com Ágar Citrato de Simmons, incubando a 35°C por 72/96h e se observou o crescimento bacteriano (teste positivo) ou não (teste negativo). O outro teste realizado foi com o Ágar semi-sólido SIM, para verificação da produção de indol, motilidade e produção de H<sub>2</sub>S, que utilizando a mesma agulha de platina, foi semeado no Ágar que será incubado a 35°C por 24h. Depois deste período foi verificado a motilidade e produção de H<sub>2</sub>S e para verificação da produção de indol foi adicionado ao meio de cultura cinco gotas do reagente de Kovac's para observar se houve a degradação do aminoácido Triptofano e produção de Indol, o que se observa pelo desenvolvimento de um anel vermelho na superfície do meio (teste positivo) ou se o anel permanecerá amarelo da mesma cor do reagente (teste negativo).

Para a realização dos testes de Vermelho de Metila (VM) e Voges-Proskauer (VP), utilizou-se dois tubos com o Caldo MR-VP que foram incubados a 35°C por 48h para o teste de VP e 96h para o teste de VM. Para o teste de VP, foi adicionado nos

tubos 0,6 mL de solução de a – naftol 5% e agitou-se, adicionando em seguida 0,2 mL de KOH 40%, onde deve ser observado por até uma hora o desenvolvimento de uma cor rosa no meio de cultura (teste positivo), a permanência do meio na cor do reagente marrom será teste negativo. Para o teste de VM foram adicionadas cinco gotas de solução de vermelho de metila, sendo observado imediatamente uma coloração vermelha do meio sendo o teste positivo. As reações bioquímicas no teste de IMViC características para *E. coli* estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Reações bioquímicas características de *Escherichia coli* nos testes de IMViC.

IMViC					
CITRATO	SIM			MR-VP	
	INDOL	MOTILIDADE	H <sub>2</sub> S	VP	VM
-	+/-	+/-	-	-	+

FONTE: MATA, 2003

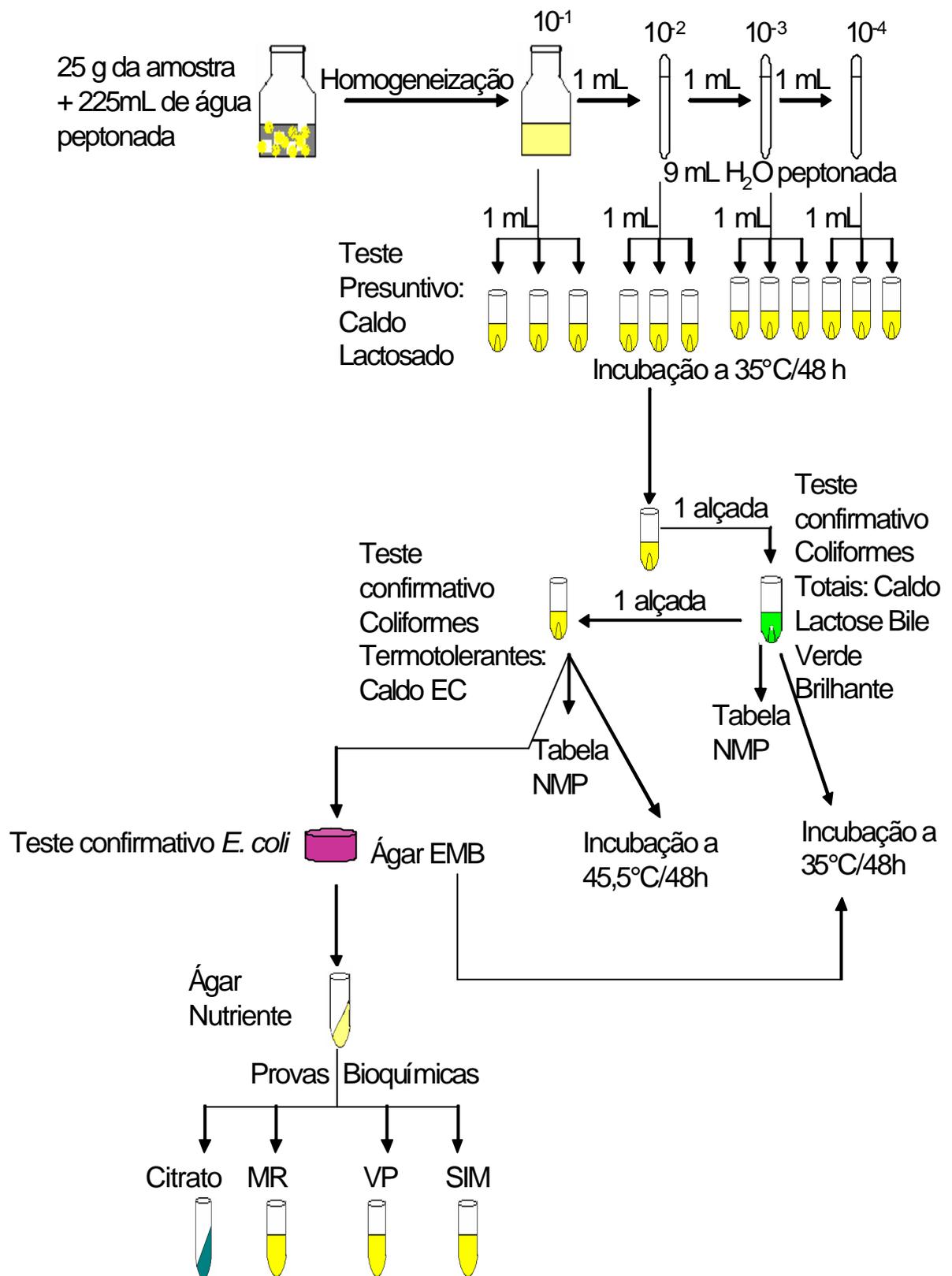


Figura 1 – Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes (adaptado de SILVA *et al.*, 1997).

#### 4.4 CONTAGEM DE *Bacillus cereus*

A metodologia utilizada foi baseada em SILVA *et al*, (1997). A contagem de *Bacillus cereus* foi feita através da técnica de Unidade Formadora de Colônia (UFC). Duas barras de cereais e 50g de cereal matinal foram homogeneizadas, separadamente, com 450 mL de água peptonada 0,1% e as diluições foram feitas da  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  em tubos com 9mL de água peptonada. Foi inoculado um mL da primeira diluição distribuídas em quatro placas de Ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP) espalhando o inóculo com alça de Drigalski até que o meio absorvesse o inóculo. As demais diluições foram semeadas em duplicata com 0,1 mL em cada placa e o inóculo espalhado com a alça de Drigalski. É recomendado que se utilize uma alça estéril para cada diluição, porque a flambagem com álcool não eliminará os esporos. As placas foram incubadas a 35°C por 48h (Figura 2).

Logo após foram selecionadas placas com 10 a 100 colônias, contendo não mais do que 30 colônias típicas, ou seja, esféricas com a coloração rósea leitosa, com bordas perfeitas, planas, secas, rodeadas por um grande halo de precipitação devido à reação da lecitinase sobre a gema de ovo. As colônias suspeitas de serem *B. cereus* foram repicadas em Ágar Nutriente e incubadas a 35°C por 48h para posteriores provas bioquímicas (Figura 2).

- ✚ Teste de decomposição de tirosina: Foram feitas estrias com o inóculo da alça de platina em placas de Ágar Tirosina incubando a 35°C por até 10 dias para observação do desenvolvimento de uma zona clara e transparente de decomposição e dissolução de cristais de tirosina (teste positivo) podendo o meio ficar com uma coloração castanha.
- ✚ Teste de Voges-Proskauer (VP): Foi inoculado por dispersão no caldo VP e incubado a 35°C por 48h, adicionando 0,6mL de a – naftol 5% e 0,2mL de KOH 40%, agitando o tubo e deixando descansar por uma hora aparecendo a cor vermelha (teste positivo) e a permanência do meio na cor amarela (teste negativo).

- ✚ Teste de redução do nitrato: Foi inoculado no tubo com o caldo nitrato e incubado a 35°C por 24h e após este período adicionou-se de 3 a 4 gotas do reativo de Zambelli e também de 3 a 4 gotas de Hidróxido de Amônia, verificando o desenvolvimento da cor laranja (teste positivo).
  
- ✚ Teste de hidrólise de gelatina: Foi transferida uma alçada da cultura para as placas de Ágar Gelatina, fazendo uma estria na superfície do meio incubando a 30°C por 24h, logo após cobriu-se toda a superfície do Ágar com o reagente de Frazier observando o desenvolvimento de um halo transparente ao redor da estria da cultura (teste positivo) ou ausência deste halo (teste negativo).
  
- ✚ Teste de motilidade em meio SIM: Foi inoculado com uma picada no meio e incubado a 35°C por 48h, verificando o deslocamento do crescimento em regiões fora da picada, o *B. cereus* geralmente é móvel.
  
- ✚ Teste de verificação de crescimento rizóide: Foram utilizadas placas com Ágar Nutriente onde foi depositada uma alçada da cultura bem no centro do meio, sem espalhar, incubando a 35°C por 48h tendo que observar se a colônia apresentou crescimento rizóide, característico das cepas da variedade *mycoides*.
  
- ✚ Teste do manitol: Foi inoculada uma alçada no tubo com o caldo manitol e incubou-se a 35°C por 48h e após este período observou-se a cor do manitol (roxa) que permaneceu inalterada (teste positivo) ou caso tenha ficado amarelo (teste negativo). As cepas do *Bacillus cereus* não fermentam o manitol.
  
- ✚ Teste de Lecitinase: Foram utilizadas placas de Ágar MYP onde foi depositada uma alçada da cultura no centro do meio, incubando a 35°C por 48h. As colônias de *Bacillus cereus* são caracterizadas por um grande halo de precipitação, indicando a degradação da lecitina.
  
- ✚ Teste da atividade hemolítica: Foi repicada a cultura por esgotamento em Ágar Sangue de carneiro incubando a 35°C por 48h onde se observou a formação

do halo devido à atividade hemolítica, sendo as cepas de *B. cereus* fortemente hemolíticas.

Tabela 2: Reações bioquímicas características do *Bacillus cereus*.

Características	<i>Bacillus cereus</i>
Degradação de Tirosina	+
Reação de VP	+
Redução do Nitrato	+
Hidrólise de Gelatina	+
Motilidade	+
Crescimento Rizóide	+
Redução do Manitol	-
Reação de Lecitinase	+
Atividade Hemolítica	+

+ positivo

- negativo

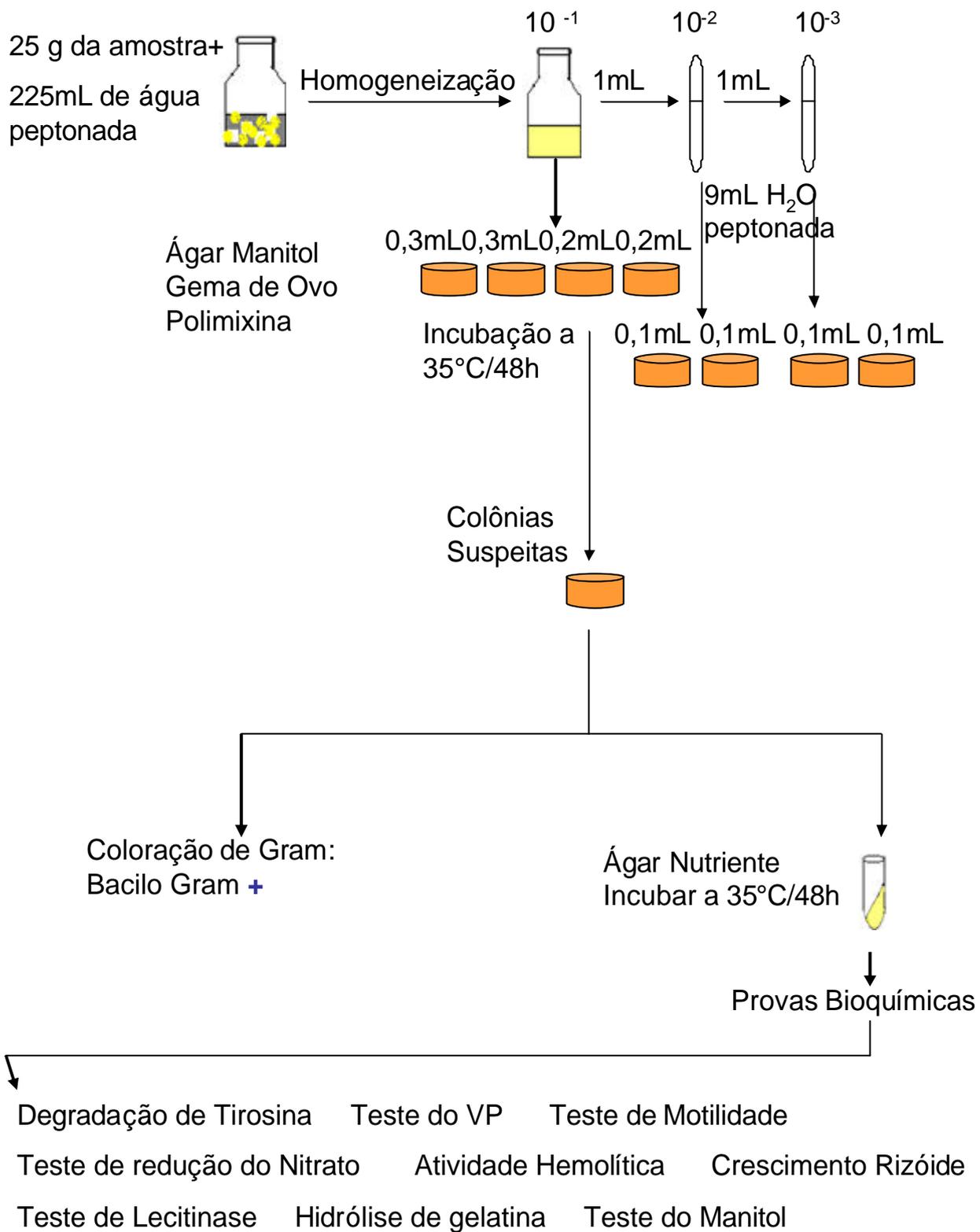


Figura 2 – Análise de *Bacillus cereus* (adaptado de SILVA *et al.*, 1997)

## 4.5 DETECÇÃO DE *Salmonella* spp.

A metodologia recomendada para a detecção de *Salmonella* spp., segue basicamente cinco etapas que podem ser aplicadas a qualquer tipo de alimento segundo SILVA *et al*, (1997). A primeira etapa foi o pré – enriquecimento em caldo não seletivo onde foram homogeneizadas uma barra de cereal (25g) e 25g de cereal matinal, separadamente, em 225mL de Caldo Lactosado incubados a 35°C por 24h. Na próxima etapa foi feito o enriquecimento em caldos seletivos sendo inoculado um mL do pré – enriquecimento para tubos com 10mL dos Caldos Tetrionato e Selenito e 0,1mL para o Caldo Rappaport sendo todos mantidos a 35°C por 24h. Logo após este período foi feito o plaqueamento seletivo diferencial em placas contendo Agar Hektoen-Enteric (HE) e Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) com o objetivo de isolar colônias típicas de *Salmonella* spp. O material para o cultivo em HE e XLD foi obtido a partir dos caldos seletivos, sendo retirado de cada caldo uma a duas alçadas de inóculo com a alça de platina (Figura 3). No Ágar HE as colônias de *Salmonella* spp. são colônias verde-azuladas, com ou sem centro preto, onde cepas fortemente produtoras de H<sub>2</sub>S podem produzir colônias inteiramente pretas, colônias fermentadoras de lactose ou sacarose são de cor rosácea. No Ágar XLD são colônias de cor rosa escuro, com ou sem centro preto, cepas fortemente produtoras de H<sub>2</sub>S podem produzir colônias com centro preto grande e brilhante ou inteiramente preto, cepas fermentadoras de lactose ou sacarose produzem colônias amarelas com ou sem centro negro. Havendo resultados positivos para *Salmonella* spp., estas foram submetidas a identificação sorológica usando os soros anti-*Salmonella* somático polivalente (Figura 3).

Depois deste período foram feitas as provas bioquímicas com as colônias típicas de *Salmonella* spp.:

- ✚ Agar Tríplice de Ferro (TSI): Colônia típica foi semeada na superfície do meio com uma agulha de platina e logo após introduzida até o fundo do meio, incubando a 35°C por 24h, foi observado no Agar TSI a mudança de coloração (teste positivo) ou continuou igual (teste negativo).

- ✚ Agar Lisina Ferro (LIA): Colônias típicas foram introduzidas até o fundo do meio duas vezes com o auxílio da agulha de platina e incubadas a 35°C por 24h, logo após foi observado se o meio que é roxo permaneceu inalterado (teste positivo) ou mudou para amarelo (teste negativo).
- ✚ Caldo Uréia: As colônias foram semeadas com o auxílio da alça de platina e incubadas a 35°C por 24h, depois foi observado se o meio não mudou de cor (teste positivo) ou mudou de cor (teste negativo).

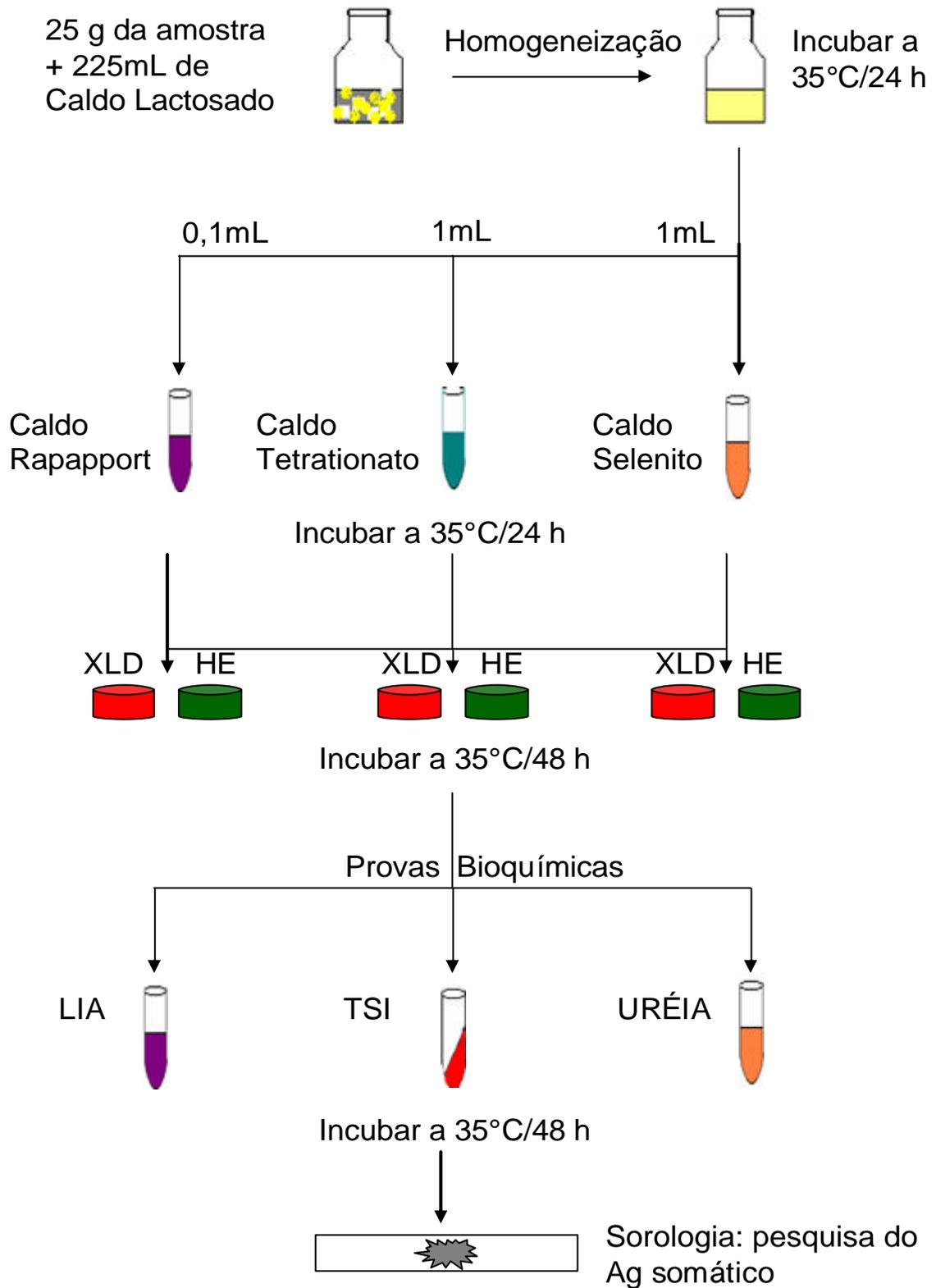


Figura 3 – Detecção de *Salmonella* spp. (adaptado de SILVA *et al.*, 1997).

## 5. RESULTADOS

Dentre as 30 amostras analisadas, 20 de barra de cereais e dez de cereais matinais, duas (10%) amostras de barra de cereais e uma (10%) amostra de cereais matinais apresentaram colônias características de *Bacillus cereus*, conforme mostra a tabela abaixo, não apresentando isolamento de Coliformes Termotolerantes e *Salmonella* spp. Dos resultados encontrados verificou-se a contaminação com *B. cereus* com contagem de  $1,9 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup> e  $1,7 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup> nas barras de cereais e  $1,0 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup> nos cereais matinais, este acima do previsto pela ANVISA (Tabela 3).

Tabela 3 - Contagem de *Bacillus cereus* nas amostras positivas de barras de cereais e cereais matinais comercializados em Pelotas, RS em 2006.

Amostras	Resultados (UFC.g <sup>-1</sup> )*	ANVISA** (UFC.g <sup>-1</sup> )*
Barra de cereal n°2	$1,9 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$
Barra de cereal n°10	$1,7 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$
Cereal matinal n°09	$1,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$

\* UFC (Unidade Formadora de Colônia)

\*\* ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)

Após a contagem das colônias características de *B. cereus* foram realizados os testes bioquímicos, para confirmação do microrganismo *B. cereus* nas três amostras positivas, conforme mostram as Figuras 4 – a e Figura 4 – b.

A – Teste positivo de decomposição de tirosina em Agar Tirosina.



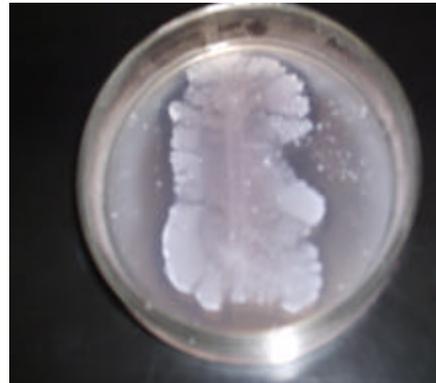
B – Teste positivo de Voges – Proskauer em Caldo MR – VP.



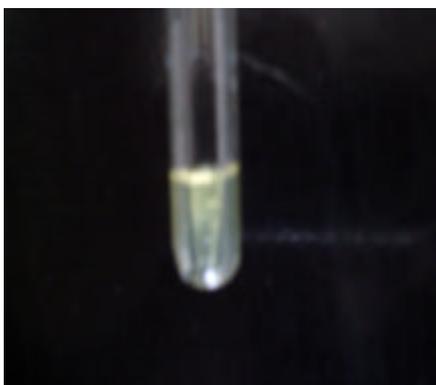
C – Teste positivo de redução do nitrato em Caldo Nitrato.



D – Teste de hidrólise de gelatina em Agar Gelatina.



E – Teste positivo de motilidade em meio de SIM.



F – Teste do crescimento rizóide em Agar Nutriente.



Figura 4 – a: Provas bioquímicas realizadas para identificação de *Bacillus cereus* encontrado nas amostras positivas.

G – Teste do manitol em  
Caldo Manitol.



H – Teste de lecitinase em Agar MYP.



I – Teste de atividade hemolítica em  
Agar Sangue de Carneiro.

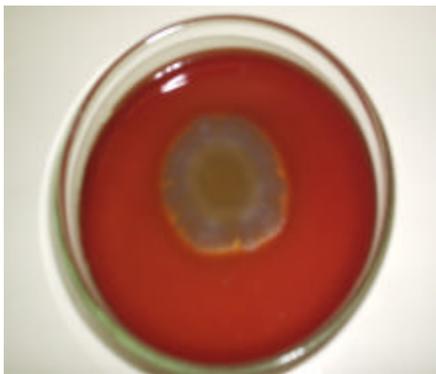


Figura 4 – b: Provas bioquímicas realizadas para identificação de *Bacillus cereus* encontrado nas amostras positivas.

## 6. DISCUSSÃO

As barras de cereais e os cereais matinais são compostos por vários grãos de cereais como, trigo, aveia, milho, cevada, arroz e também de frutas desidratadas como; banana, uva passa, morango, maçã, coco, mamão dentre outras além de chocolate e mel. Todos esses componentes contêm proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas essenciais para manutenção da saúde podendo ser consumidos de maneira fácil e rápida.

De acordo com McKEVITH (2004), os cereais são produtos básicos para alimentação fornecendo uma grande variedade de macro e micro nutrientes para população mundial e um grande consumo de cereais está associado com um decréscimo do risco de desenvolver sérias doenças crônicas.

Para OLIVEIRA (2006), a aveia que é um alimento funcional (previne e ajuda a tratar doenças) é um produto dos cereais matinais e das barras de cereais que auxilia a controlar o diabetes, a hipertensão e o colesterol ruim, tudo isso graças ao betaglucano que é um tipo de fibra solúvel presente nesse cereal. Ela impede o aumento da glicemia, melhora a circulação sanguínea e atua no intestino, inibindo a absorção de gorduras.

Porém, desde a colheita dos grãos que já podem estar expostos a uma grande variedade de microrganismos através da água, pó, plantas enfermas (ICMSF, 1980) até passar por todas as etapas de processamento para compactação das barras e a produção dos cereais matinais (FIGURAS 5 e 6), podem também ocorrer várias contaminações durante esse percurso com diversos microrganismos podendo comprometer a saúde do consumidor, uma vez que, os esporos do *B. cereus* são ativados pela ação térmica, ou seja, são termorresistentes podendo germinar e os bacilos se multiplicarem rapidamente (MURRAY *et al.*, 2004).

Dentre as três amostras que apresentaram *B. cereus* das 30 analisadas neste trabalho, apenas a contaminação de cereais matinais estava acima dos padrões previstos pela ANVISA, que estabelece o máximo de  $5,0 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, já que as demais amostras de barras de cereais apresentaram contagem inferior ao limite permitido de  $5,0 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>.

LACA *et al.* (2006), constatou que a composição microbiana dos cereais está relacionada ao armazenamento dos grãos, onde a alta umidade permite o crescimento dos microrganismos alterando assim, as propriedades do produto, sendo, 13% de umidade considerado o valor máximo para armazenar trigo, milho, cevada e arroz durante um curto período, já que os grãos úmidos parecem sofrer a ação fermentativa devido a ação láctica e de coliformes.

De acordo com JAY (1992), estes produtos têm um elevado conteúdo de proteínas e de carboidratos, sua  $a_w$  (atividade da água) é tão baixa que, se armazenar convenientemente, limitam o crescimento de todos os microrganismos. Portanto, provavelmente este fator foi limitante para o não desenvolvimento de *Salmonella* spp. e *E. coli*. FORSYTHE (2002), define como atividade da água a medida da água disponível em uma amostra. A  $a_w$  é a razão entre a pressão do vapor da água da amostra e a da água pura, à mesma temperatura. Para o *B. cereus* a  $a_w$  mínima é de 0,930, para *E. coli* é de 0,935 e para *Salmonella* spp. é de 0,940. E nos grãos a  $a_w$  fica em torno de 0,87 – 0,80 o que, possivelmente, dificultou o crescimento bacteriano nas amostras analisadas neste trabalho.

DUC *et al.* (2005) analisaram amostras de um produto infantil a base de cereais, envolvidos em doenças de origem alimentar e foi verificada a contaminação de dois tipos de bactérias esporogênicas *Bacillus subtilis* e *B. cereus*. Como ocorreu neste trabalho, à presença de *B. cereus* em uma amostra de cereais matinais.

BRUM *et al.* (2001), estudaram 30 amostras de diversos alimentos amiláceos obtidos no comércio de Pelotas-RS e obtiveram apenas uma amostra de aveia – cereal que também faz parte da composição das barras de cereais e cereais matinais – com índice acima do permitido, pela Legislação Vigente, para *B. cereus* que foi de

$8,0 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>. Semelhante ao encontrado em nosso estudo, onde apenas uma amostra foi encontrada este microrganismo.

Analisando barra de cereal caseira elaborada com biscoito de amido de milho, açúcar, leite em pó desnatado, flocos de arroz, aveia em flocos, xarope de glicose de milho, uva passa e damasco seco, BRITO *et al.* (2004) não encontraram *Salmonella* spp. e Coliformes Termotolerantes. Resultados compatíveis aos encontrados neste trabalho.

ICMSF (1980), verificou que os indicadores fecais (coliformes) estão em pequena concentração nos grãos no campo, a menos que haja uma considerável atividade animal no local. O *B. subtilis* e *B. cereus* estão presentes em pequeno número e *Staphylococcus aureus* e as espécies de *Salmonella* não são detectadas nas distintas investigações efetuadas nos grãos no campo nos países ocidentais. De acordo com FORSYTHE (2002), a sobrevivência dos coliformes no solo é de 30 dias o que dificultaria sua permanência nos grãos.

## 7. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que as barras de cereais estão dentro dos padrões previstos pela ANVISA. Já os cereais matinais embora tenha-se analisado um número pequeno, verificou-se que uma amostra estava acima do permitido, então cabe ao consumidor verificar as condições de embalagem e armazenamento do produto no local de comercialização.

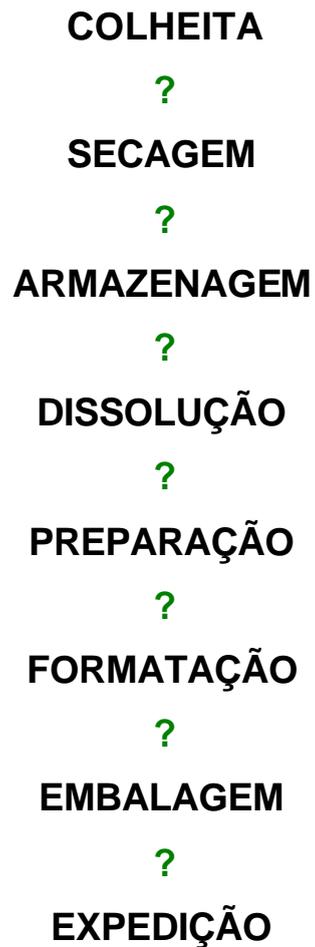


Figura 5 – Fluxograma do processo de fabricação de barra de cereais.

Fonte: adaptado do site - <http://www.ufrgs.br/alimentus/feira/prcerea/barracereal/flux.htm>  
Acessado em 27/04/06.

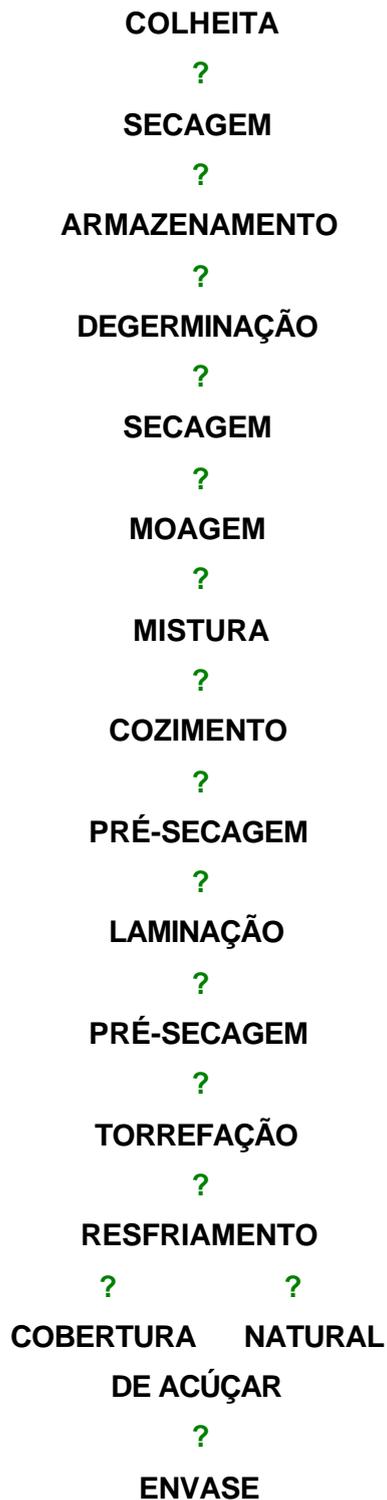


Figura 6 – Fluxograma do processo de fabricação de cereais matinais.

Fonte: adaptado do site - <http://www.ufrgs.br/Alimentus/feira/prcerea/matinal/flux.htm>

Acessado em 27/04/06.

## 8. REFERÊNCIAS

(ANVISA), Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Disponível em:

<[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)> acesso em 13 de mar de 2005.

BALIONI, G. A; FERNANDES F. V.; SOARES, M. M. S. R.; RIBEIRO, M. C. Avaliação higiênico-sanitária de alfaces agro-ecológicas e cultivadas com agrotóxico, comercializadas na região de Campinas, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 112, p.74, set/2003.

BENEVIDES, C.M.J.; LOVATTI, R.C.C. Segurança alimentar em estabelecimentos processadores de alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v.18, n. 125, p. 24 e 26, out/2004.

BEYER, L., FONSECA, R., MESQUITA, J.: Fluxograma barra de cereais. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/alimentus/feira/prcereaa/barracereal/flux.htm>> acesso em 27 abr de 2006.

BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J. **Microbiologia Alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria**, v. 1, Ed. Acribia S.A Zaragoza, 1988, p. 64.

BRITO, I.P. de; CAMPOS, J.M.; SOUZA, T.F.L. de; WAKIYAMA, C.; AZEREDO, G.A. de, Elaboração e avaliação global de barra de cereais caseira. **Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos – Sistema Eletrônico de Revistas** v.22, n.1, p. 35-50, UFPR-Curitiba, jan/jun 2004. Disponível em: <[www.ufpr.br](http://www.ufpr.br)> acesso em 18 mar de 2006.

BRUM, A. A. RIBEIRO, G. A.; Ocorrência de *Bacillus cereus* em diferentes alimentos a base de amido no comércio da cidade de Pelotas-RS (resultado parcial). In: XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia, 21, AL-123, p. 397, Foz do Iguaçu, PR. **Resumos...** Foz do Iguaçu, Armazém das Letras, 2001.

DUC, H. L.; DONG, C. T.; LOGAN, A. N.; SUTHERLAND, D. A.; TAYLOR, J.; CUTTING, M. S. Cases of emesis associated with bacterial contamination of infant breakfast cereal product. **International Journal of Food Microbiology**, v.102, issue 2, p. 245-251, 2005.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**, Ed. Artmed, 2002, p. 14, 36, 39, 40, 176 e 177.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, Ed. Atheneu, 1996, p. 52.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, P.C.; **Microbiologia de los alimentos**, 4 ed., Ed. Acribia S.A Zaragoza, 1993, p. 229.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D.; **Toxinfecções e Controle Higiênico-Sanitário de Alimentos**, Livraria Varela, 1993, p. 29 e 70.

(ICMSF), International Commission on Microbiological Specifications for Foods **Ecologia Microbiana de los Alimentos: Productos alimentícios**, v. 2, Ed. Acribia S.A. Zaragoza, 1980, p. 678-698.

JAY, J.M. **Microbiologia moderna de los alimentos**, 3 ed., Ed. Acribia S.A. Zaragoza, 1992, p. 279, 280 e 513.

KONEMAN, W. E.; ALLEN, D. S.; JANDA, M. W.; SCHRECKENBERGER, C. P.; WINN Jr., C. W. **Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido**, 5 ed., Ed. Medsi, 2001, p. 209 e 668.

LACA, A.; ZOE, M.; DIAZ, M.; WEBB, C.; PANDIELLA, S. S. Distribution of microbial contamination within cereal grains. **Journal of Food Engineering**, v. 72, issue 4, p.332-338, 2006.

MATA, M. M. **Avaliação Microbiológica de Lingüiça Suína Frescal Comercializada em feira-livre na cidade de Pelotas-RS**, 2003, p.19, Monografia de conclusão de curso, Universidade Federal de Pelotas, RS,

McKEVITH, B. Nutrition aspects of cereals. **Nutrition Bulletin – British Nutrition Foundation**, v. 29, issue 2, p. 111-142, 2004.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M. A.; **Microbiologia Médica**, 4 ed., Ed. Guanabara Koogan, 2004, p. 227.

OLIVEIRA, A. M.; GONÇALVES, M. O; SHINOHARA, N. K. S.; STAMFORD, T. L. M.; Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n.114/115, 2003, p. 12.

OLIVEIRA, L. H. Aveia, a primeira da turma. **Revista Saúde! é vital**, n. 273, maio/2006, p. 16.

PAULA e VANELLI: Fluxograma cereais matinais. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/Alimentus/feira/prcereas/matinal/flux.htm>> acesso em 27 abr de 2006.

PELCZAR Jr., M J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**, 2 ed., v.2, 1996, p.372.

ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L.R.; AZEVEDO, J.L. **Tratado de Microbiologia**, Ed. Manole Ltda., v.1, 1988, p.15 e 30.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, São Paulo: Livraria varela, 1997, 119p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**, 6 ed., Ed. Artmed, 2003, p.664, 671 e 729.

# ANEXOS

## ÁGUA PEPTONADA (0,1%)

Peptona	1,0g
Água destilada	1000mL
pH 7,0	

## CALDO LACTOSE BILE VERDE BRILHANTE (2%)

Bile de boi (oxgall)	20,0g
Peptona	10,0g
Lactose	10,0g
Verde Brilhante(13,3mL de solução aquosa 0,1%)	0,0133g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 7,2

## CALDO LACTOSADO

Extrato de carne	3g
Peptona Bacteriológica	5g
Lactose	5g

Diluir em 100mL de água destilada  
pH 6,9

## CALDO EC

Triptose	20g
Lactose	5g
Sais Biliares nº3	1,5g
Fosfato monoácido de potássio	4g
Fosfato biácido de potássio	1,5g
Cloreto de Sódio	5g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 6,9

### CALDO SELENITO CISTINA

Triptona	5,0g
Lactose	4,0g
Fosfato dissódico	10,0g
Selenito ácido de sódio	4,0g
L – cistina	0,01g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 7,0

### CALDO TETRATIONATO

Proteose peptona	5,0g
Sais biliares	1,0g
Tiosulfato de sódio	30,0g
Carbonato de cálcio	10,0g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 8,4

suplemento

Solução de iodo 0,2mL/10mL base

Solução 0,1% verde brilhante (opcional) 0,1mL/10mL base

### CALDO RAPPAPORT

Peptona de farinha de soja	4,5g
Cloreto de magnésio hexahidrato	29,0g
Cloreto de sódio	8,0g
Fosfato dopotássico	0,4g
Dihidrogeno fosfato potássico	0,6g
Verde malaquita	0,036g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 5,2

### CALDO URÉIA

Peptona	1,0g
Dextrose	1,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Fosfato monopotássico	2,0g
Uréia	20,0g
Vermelho de fenol (6mL de solução 0,2%)	0,012g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 6,8

### ÁGAR EOSINA AZUL DE METILENO (EMB)

Peptona	10,0g
Lactose	10,0g
Fosfato dipotássico	2,0g
Eosina amarela (20mL da solução aquosa 2%)	0,4g
Azul de metileno (26mL da solução aquosa 0,25%)	0,065g
Ágar	15g
Diluir em 1000mL de água destilada pH 7,1	

### ÁGAR XLD

Extrato de levedura	3,0g
L – lisina	5,0g
Xilose	3,75g
Lactose	7,5g
Sacarose	7,5g
Desoxicolato de sódio	2,5g
Citrato férrico amoniacal	0,8g
Tiosulfato de sódio	5,0g
Vermelho de fenol (40mL solução 0,2%)	0,08g
Ágar	15g
Diluir em 1000mL de água destilada pH 7,4	

### ÁGAR TRÍPLICE AÇÚCAR DE FERRO (TSI)

Extrato de carne	3,0g
Extrato de levedura	3,0g
Peptona	15,0g
Proteose peptona	5,0g
Dextrose	1,0g
Lactose	10,0g
Sacarose	10,0g
Sulfato ferroso	0,2g
Cloreto de sódio	5,0g
Tiosulfato de sódio	0,3g
Vermelho de fenol (12mL da solução 0,2%)	0,024g
Ágar	12,0g
Diluir em 1000mL de água destilada pH 7,4	

### ÁGAR ENTÉRICO DE HECTOEN (HE)

Proteose peptona	12,0g
Extrato de levedura	3,0g
Sais biliares n°3	9,0g
Lactose	12,0g
Sacarose	12,0g
Salicina	2,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Tiosulfato de sódio	5,0g
Citrato férrico amoniacal	1,5g
Azul de bromotimol (32,5mL da solução 0,2%)	0,65g
Fucsina ácida	0,1g
Ágar	14,0g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 7,5

### ÁGAR LISINA DE FERRO (LIA)

Peptona	5,0g
Extrato de levedura	3,0g
Dextrose	1,0g
Cloridrato de L – lisina	10,0g
Citrato férrico amoniacal	0,5g
Tiosulfato de sódico	0,04g
Púrpura de bromocresol (2mL solução 1%)	0,02g
Ágar	15,0g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 6,7

### ÁGAR MANITOL GEMA DE OVO POLIMIXINA (MYP)

Extrato de carne	1,0g
Peptona	10,0g
D – manitol	10,0g
Cloreto de sódio	10,0g
Vermelho de fenol (12,5mL da solução 0,2%)	0,025g
Ágar	15,0g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 7,1

### ÁGAR NUTRIENTE

Extrato de carne	3,0g
Peptona	5,0g

Diluir em 1000mL de água destilada  
pH 6,8







