



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROJETO DE MONITORIA - CARTILHA 2



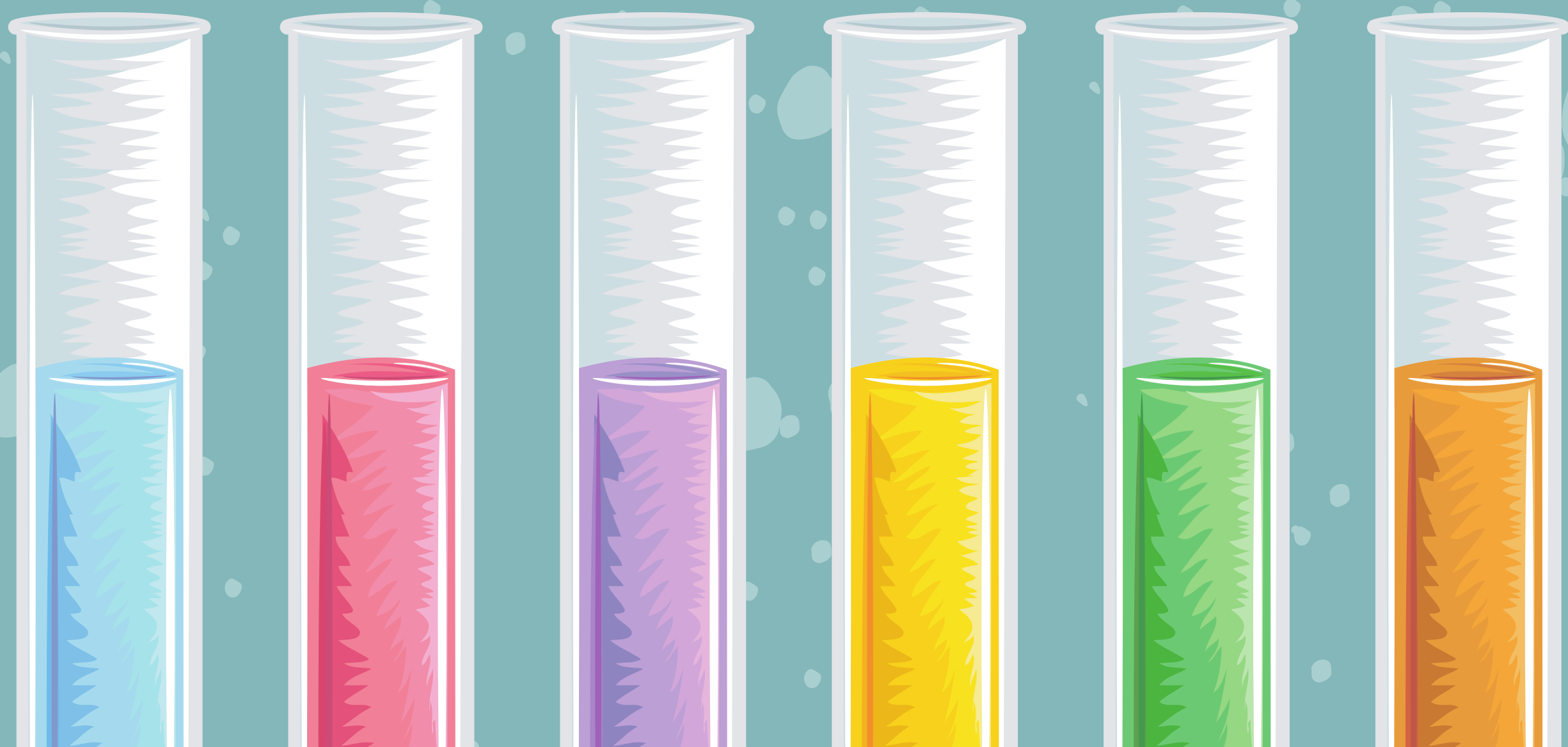
# GUIA PRÁTICO

# PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS

---

AUTORIA

EDUARDA PASTANA DOS SANTOS  
MAYARA NERINA FORTES ARTHUR  
KARLA TEREZA SILVA RIBEIRO





UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROJETO DE MONITORIA - CARTILHA 2



# GUIA PRÁTICO PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS

---

AUTORIA

EDUARDA PASTANA DOS SANTOS  
MAYARA NERINA FORTES ARTHUR  
KARLA TEREZA SILVA RIBEIRO

BÉLEM/PA  
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROJETO DE MONITORIA - CARTILHA 2



# GUIA PRÁTICO PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS

---

 CC BY 4.0

Atribuição 4.0 Internacional

ESTE TRABALHO ESTÁ LICENCIADO SOB  
CC BY-NC-ND 4.0. PARA VISUALIZAR  
UMA CÓPIA DESTA LICENÇA, VISITE  
[HTTP://CREATIVECOMMONS.ORG/LICENS  
ES/BY-NC-ND/4.0/](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) © 2021

BÉLEM/PA  
2021

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>3</b>
1.1 Família Enterobacteriaceae.....	3
1.2 Etapas da Identificação.....	3
1.3 Fluxograma da Classificação.....	4
1.4 Provas Bioquímicas.....	4
<b>2 INTERPRETAÇÃO DOS TESTES .....</b>	<b>5</b>
2.1. Prova da Catalase.....	5
2.2. Prova da Oxidase .....	5
2.3. Caldo Glicose (Glicose, Lactose, Sacarose e Manitol).....	6
2.4. Ágar Açúcar Triplo Ferro (Triple Sugar Iron - TSI) .....	7
2.5. Prova do Vermelho de Metila (VM).....	8
2.6 Prova de Vorges Proskauer (VP).....	9
2.7. Teste do Indol.....	9
2.8. Meio SIM (Sulfeto, Indol e Motilidade).....	10
2.9. Teste de Motilidade.....	10
2.10. Ágar Citrato de Simmons.....	11
2.11. Caldo de Ureia Stuart.....	11
2.12. Ágar Fenilalanina.....	12
2.13. Ágar Lisina Descarboxilase (LIA). .....	

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	
-------------------------	--

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Família Enterobacteriaceae

A família Enterobacteriaceae é o maior grupo de **bacilos Gram-negativos** de interesse clínico. A família possui em torno de 227 espécies, porém menos de 20 espécies são responsáveis por 95% das **infecções** que acometem o homem.

## 1.2 Etapas da Identificação

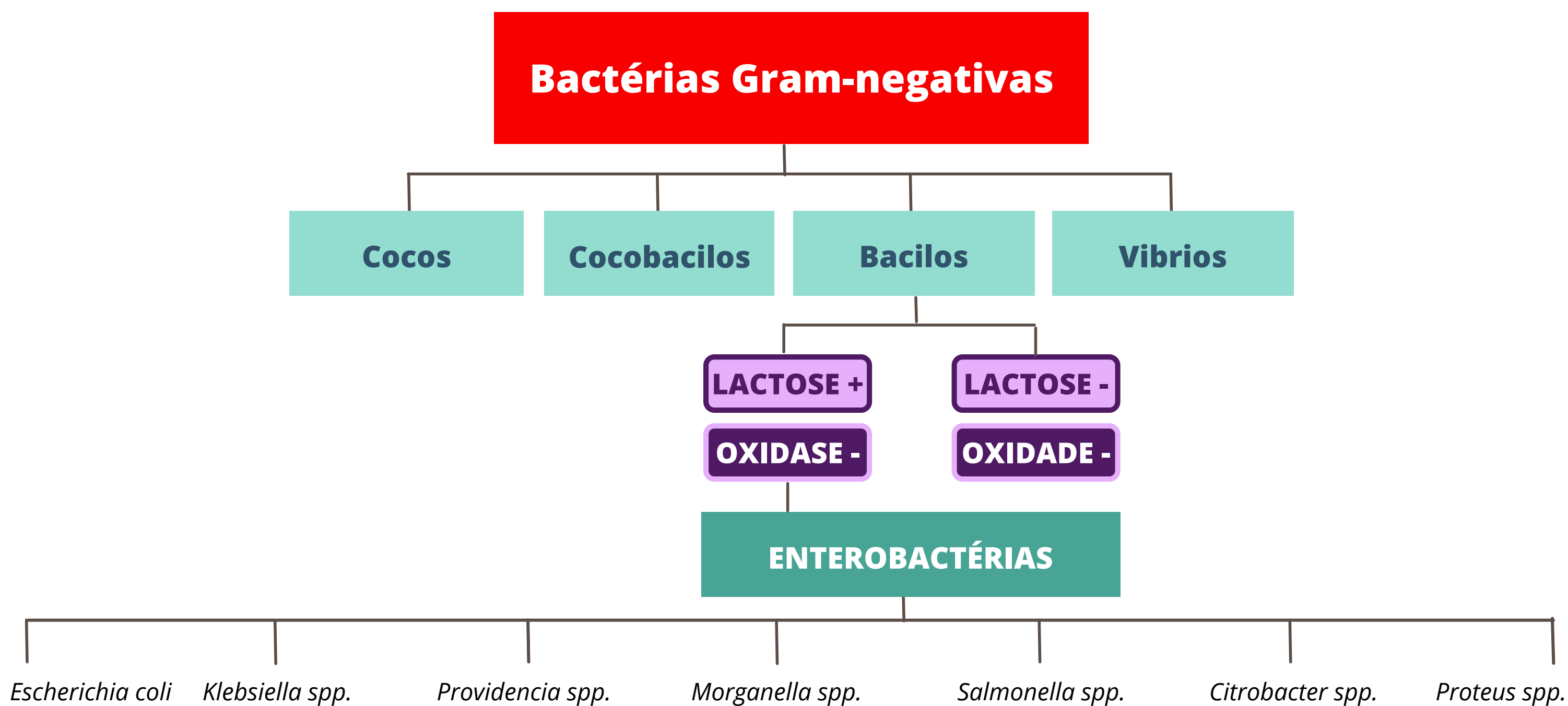
Para realizar a identificação correta, é realizado sistematicamente um processo laboratorial que permeia desde a coleta do material até a identificação do microrganismo, através da análise dos dados obtidos.



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.3. Fluxograma da Classificação

A classificação é de acordo com a morfolofisiologia, incluindo aspectos da morfologia básica, estrutura, propriedades bioquímicas/metabólicas, estrutura antigênica, hibridização e sequenciamento do material genético.



## 1.4. Provas Bioquímicas

As provas bioquímicas consistem em sucessivos testes em meios de culturas específicos que indicam ação metabólica do microrganismo através da alteração cor, turbidez, pH entre outros. Por tanto, a identificação de uma **Enterobactéria** se caracteriza como um trabalho investigativo laboratorial, e para isso é necessário conhecer o comportamento metabólico para equiparar com os diversos resultados obtidos.

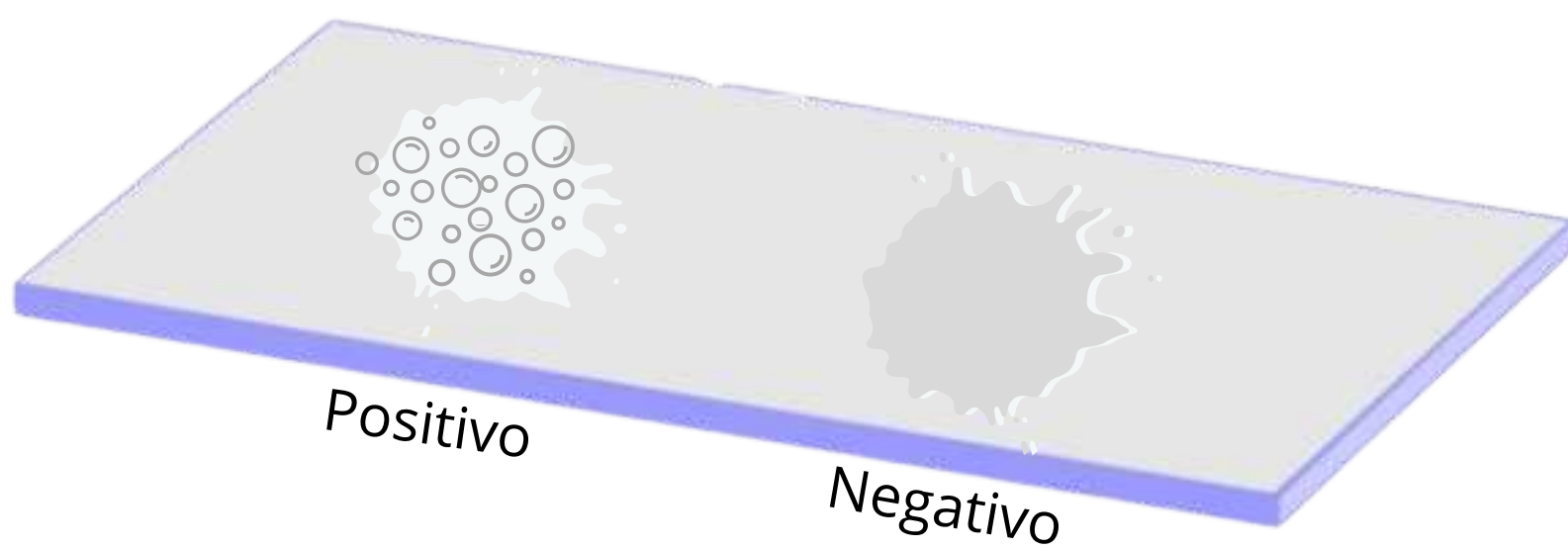
1. Prova da Catalase
2. Prova da Oxidase
3. Caldo Glicose (Glicose, lactose, sacarose e manitol)
4. Ágar Açúcar Triplo Ferro (Triple Sugar Iron - TSI)
5. Prova de Vermelho de Metila (VM)
6. Prova de Vorges Proskauer (VP)
7. Teste do Indol
8. Meio SIM (Sulfeto, Indol e Motilidade).
9. Teste de Motilidade
10. Ágar Citrato de Simmons
11. Caldo de Ureia
12. Ágar Fenilalanina
13. Ágar Lisina Descarboxilase (LIA).



# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

## 2.1. PROVA DA CATALASE

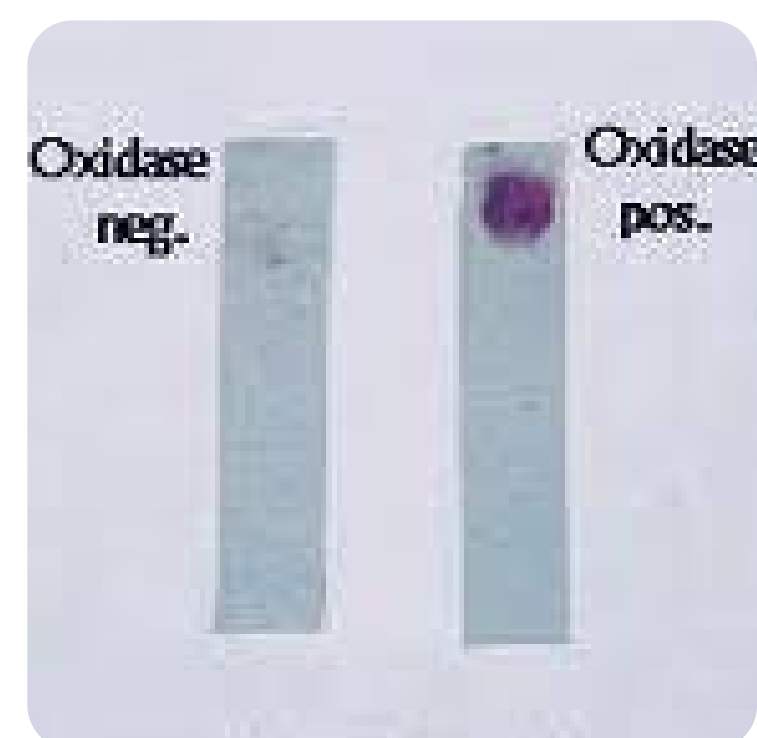
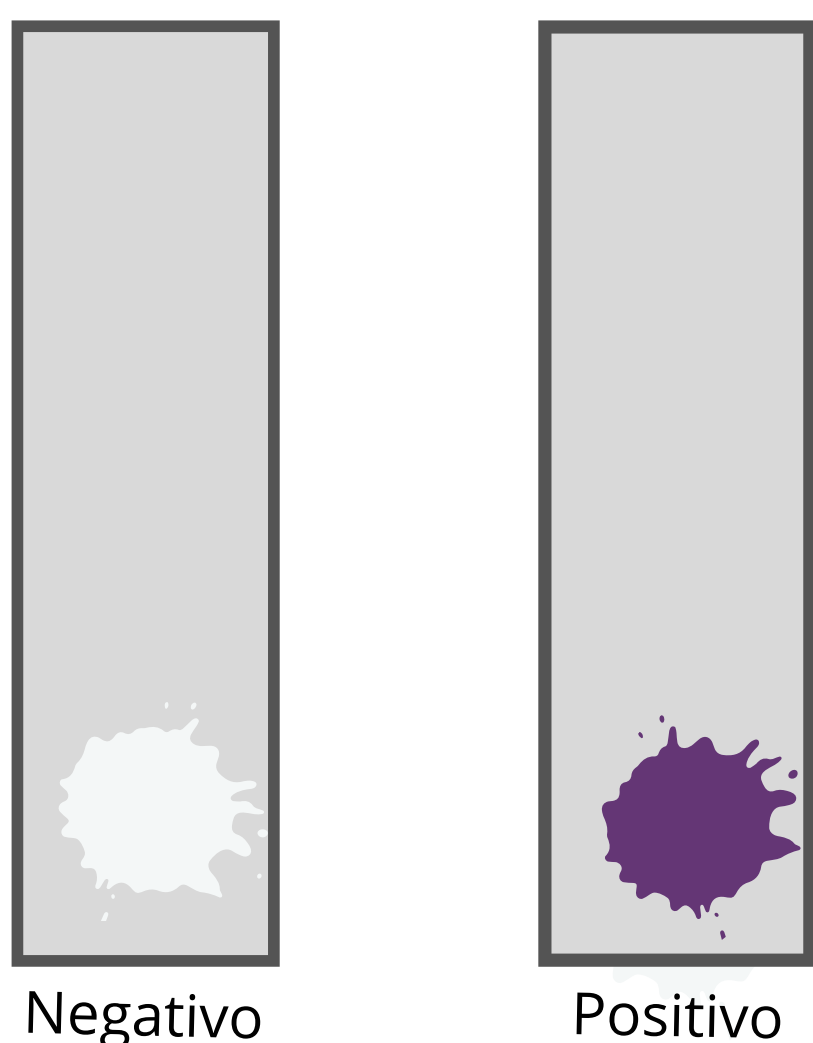
Observação da formação de bolhas de oxigênio através do contato do microrganismo com peróxido de hidrogênio indicando a ação da enzima catalase.



Fonte: UNIRIO, 2020.

## 2.2. TESTE DA OXIDASE

Teste rotineiro que ajuda na detecção da enzima citocromo oxidase, que distingue as bactérias não fermentadoras (oxidase positiva) das fermentadoras, como as **Enterobactérias (oxidase negativa)**. O teste é realizado em tiras reagentes que quando oxidada fica com uma coloração púrpura quando é positiva, e neutra quando negativa.

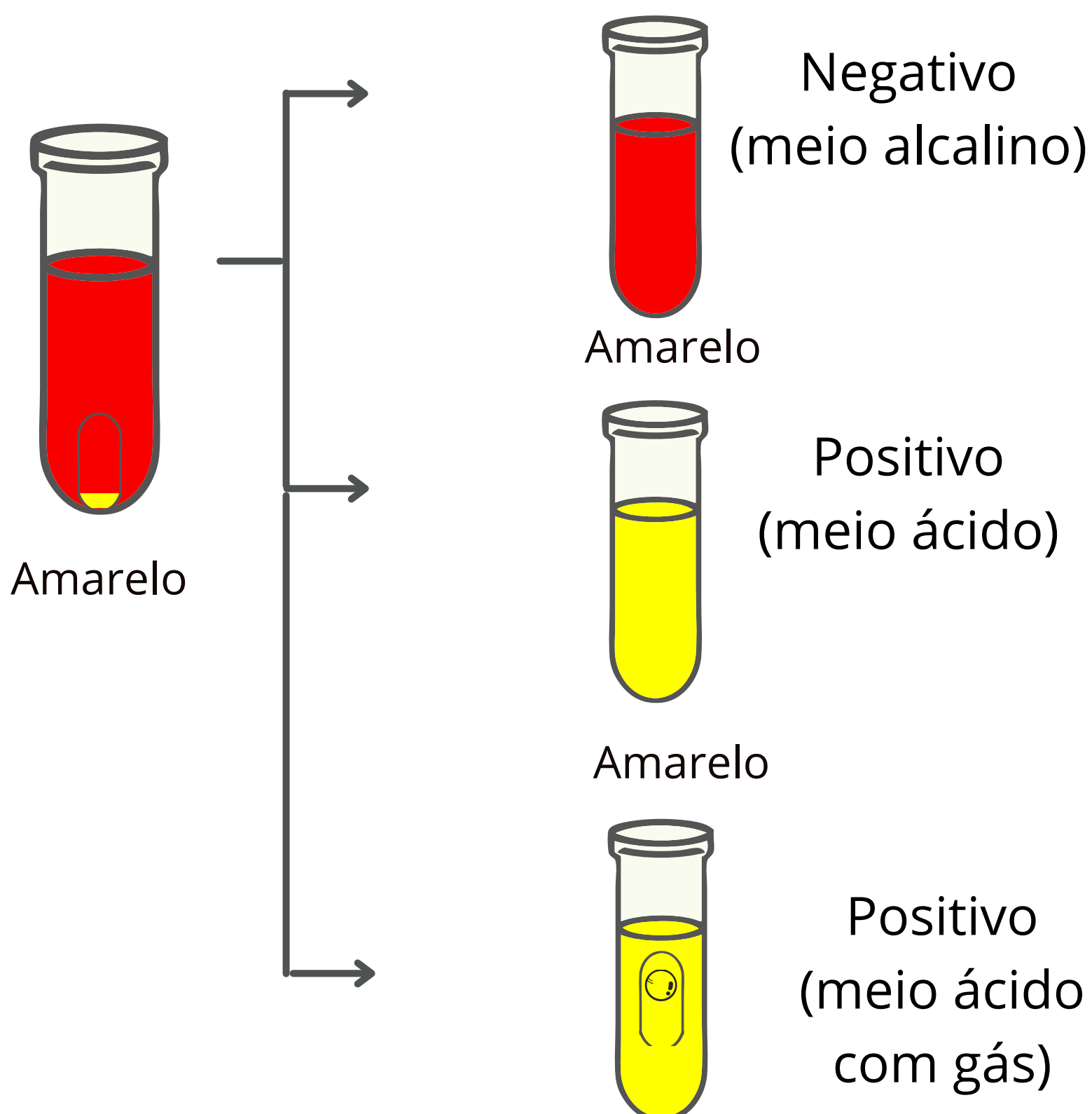


Fonte: Microbio, 2018.

# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

## 2.3. CALDO GLICOSE

Fermentação do açúcar com produção de ácidos, acidificando o meio e provocando a viragem do indicador de pH (vermelho de fenol), para amarelo, com ou sem gás. A presença de gás é detectada no tubo de Durham, o qual é colocado invertido no tubo com o meio de cultura.



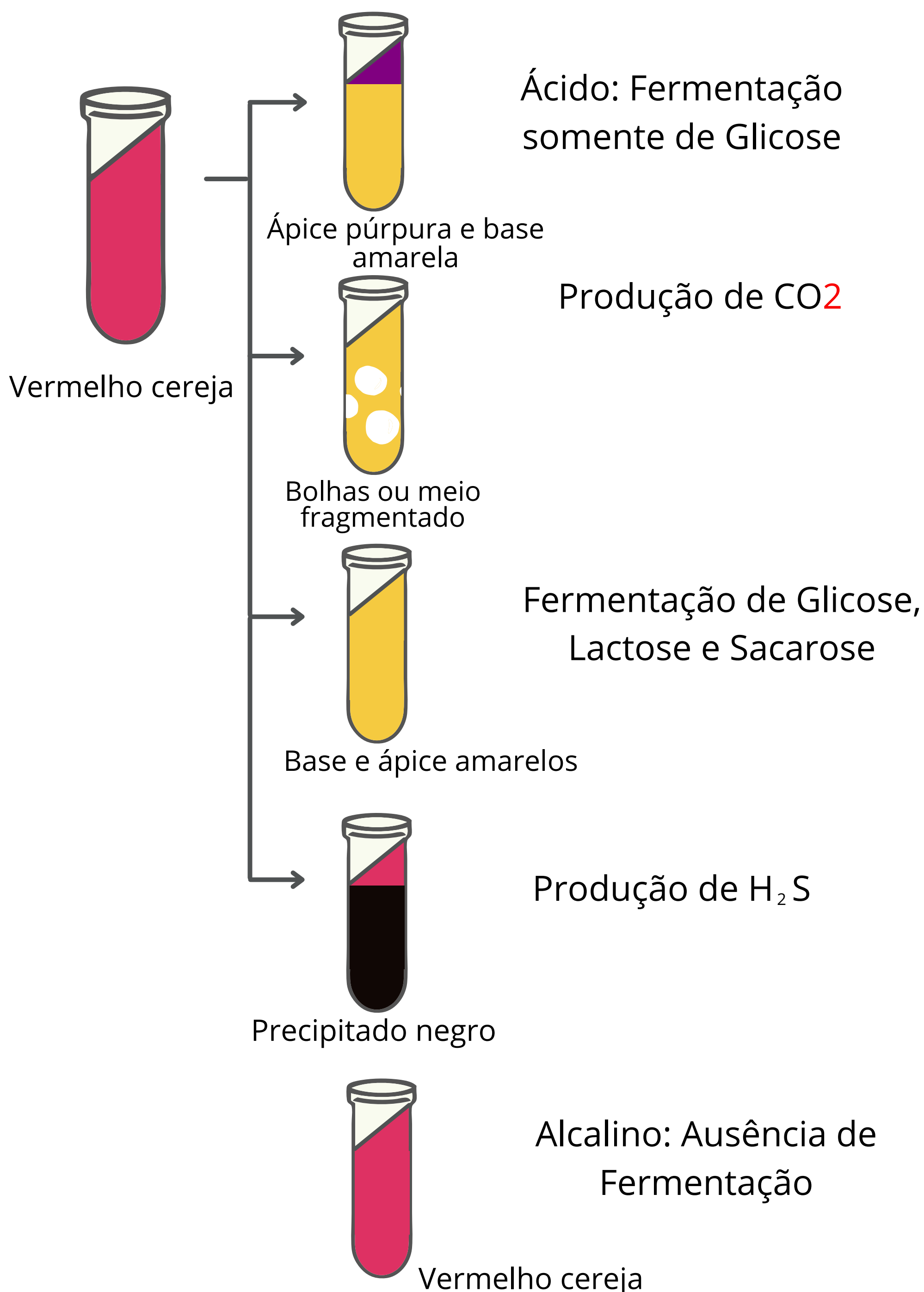
Fonte: Microbiologia Brasil, 2009.



# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

## 2.4. ÁGAR AÇÚCAR TRIPLO FERRO (TRIPLE SUGAR IRON - TSI)

É usado para a diferenciação de bacilos entéricos Gram-negativos baseados na fermentação dos carboidratos e produção de sulfeto de hidrogênio.

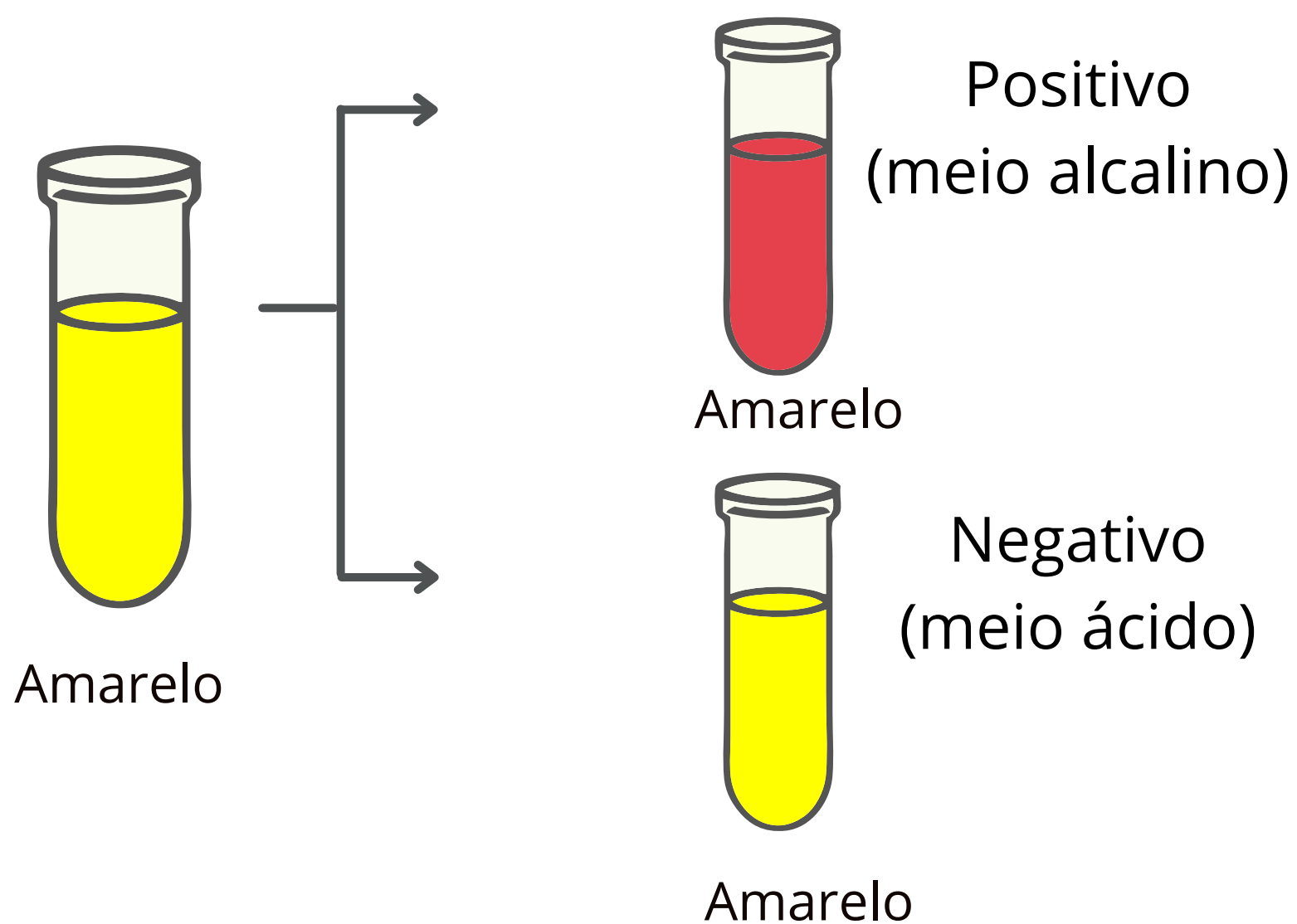


Fonte: Microbiologia Brasil, 2009.

# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

## 2.5. PROVA DO VERMELHO DE METILA (VM)

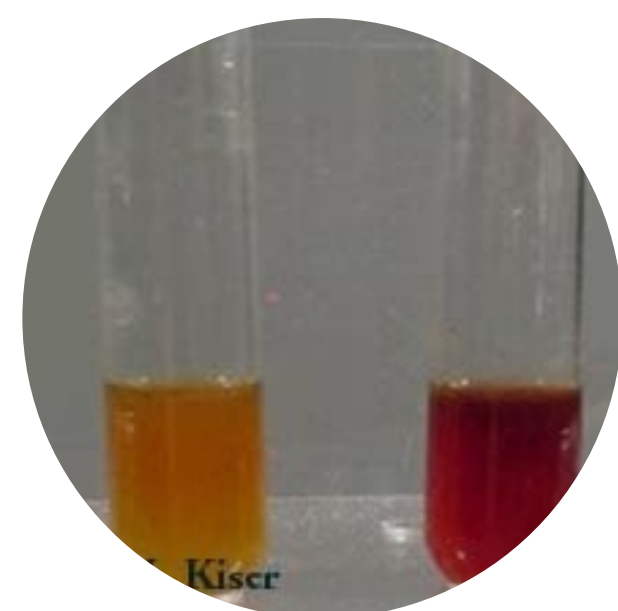
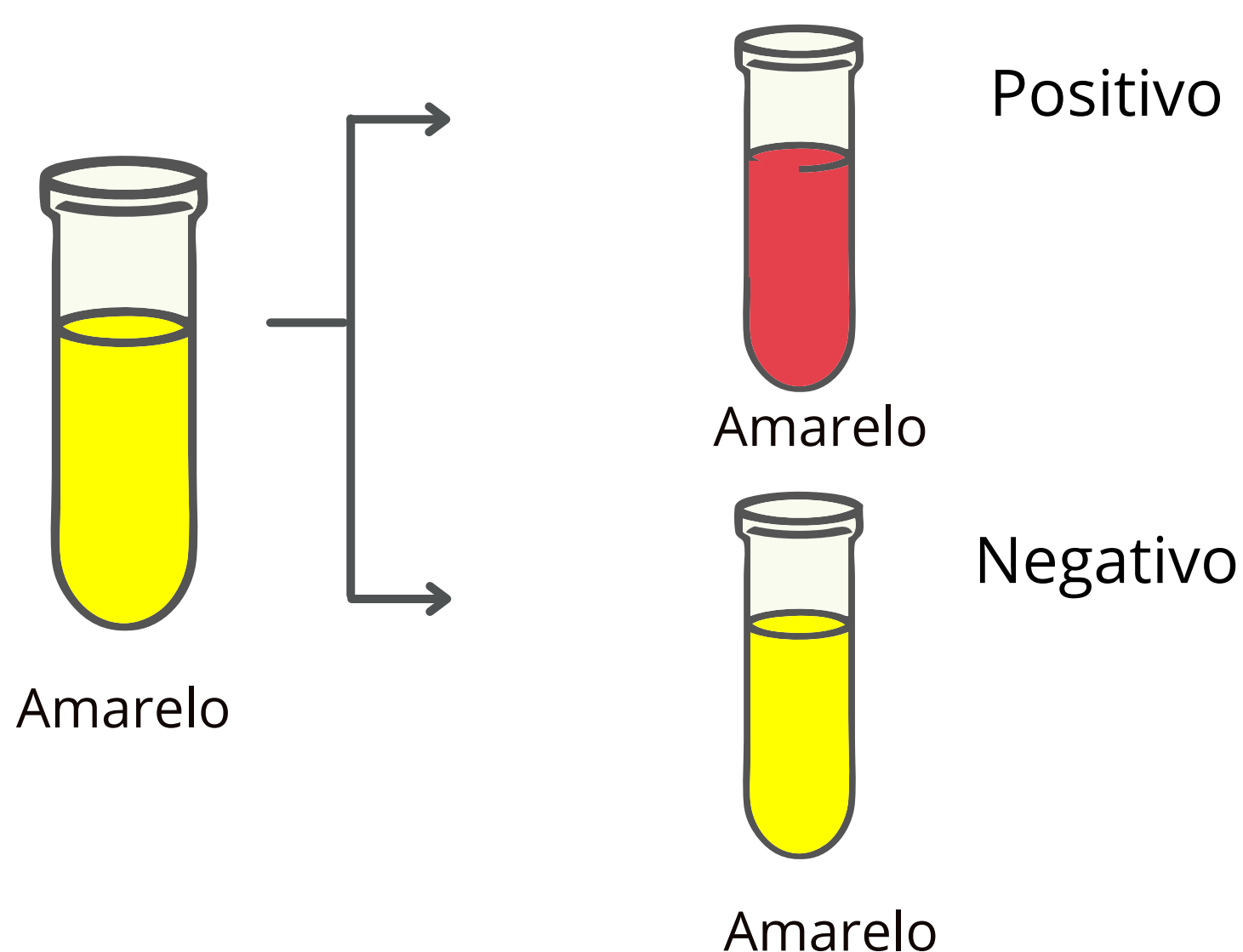
Observar a capacidade do microrganismos de produzir elevadas taxas de produtos ácidos por intermédio da fermentação da glicose.



Fonte: Microbiologia Brasil, 2009.

## 2.6. PROVA DE VOGES PROSKAUER (VP)

O teste detecta a presença de acetilmetilcarbinol identificando as bactérias que realizam a fermentação por via butilenoglicólica, fermentando a glicose com produção de acetil-metil-carbinol (acetoína), butilenoglicol e pequenas quantidades de ácidos carboxílicos.

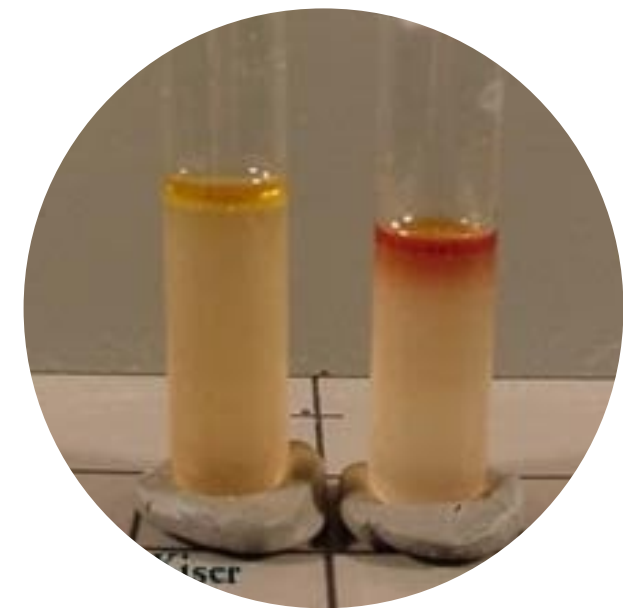
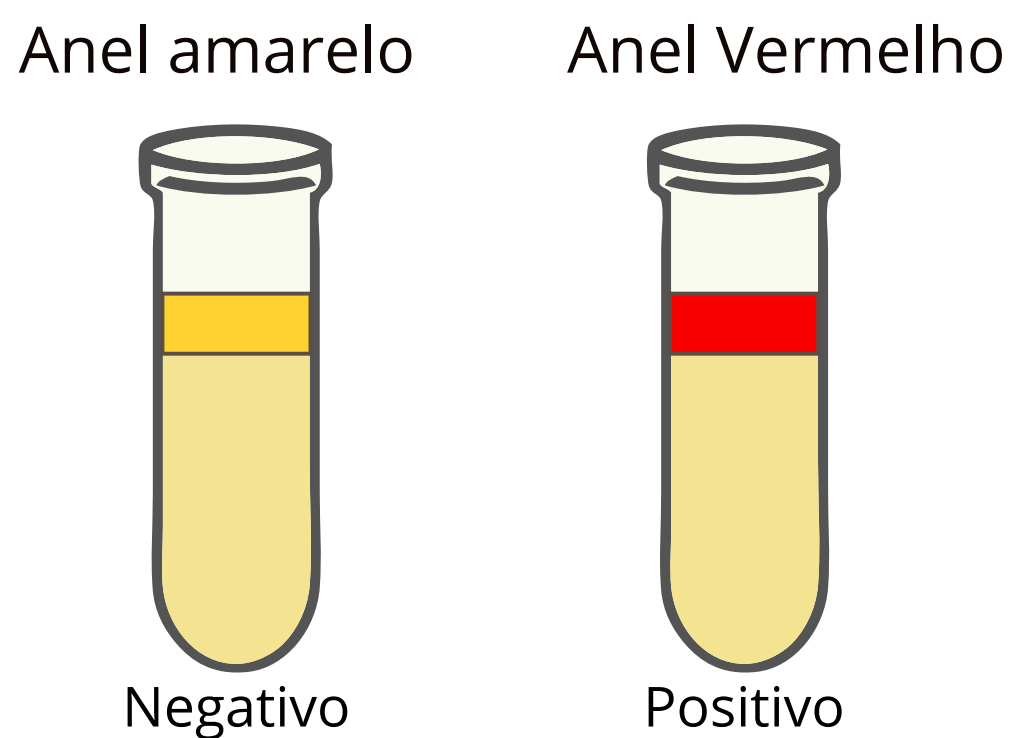


Fonte: Microbiologia Brasil, 2009.

# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

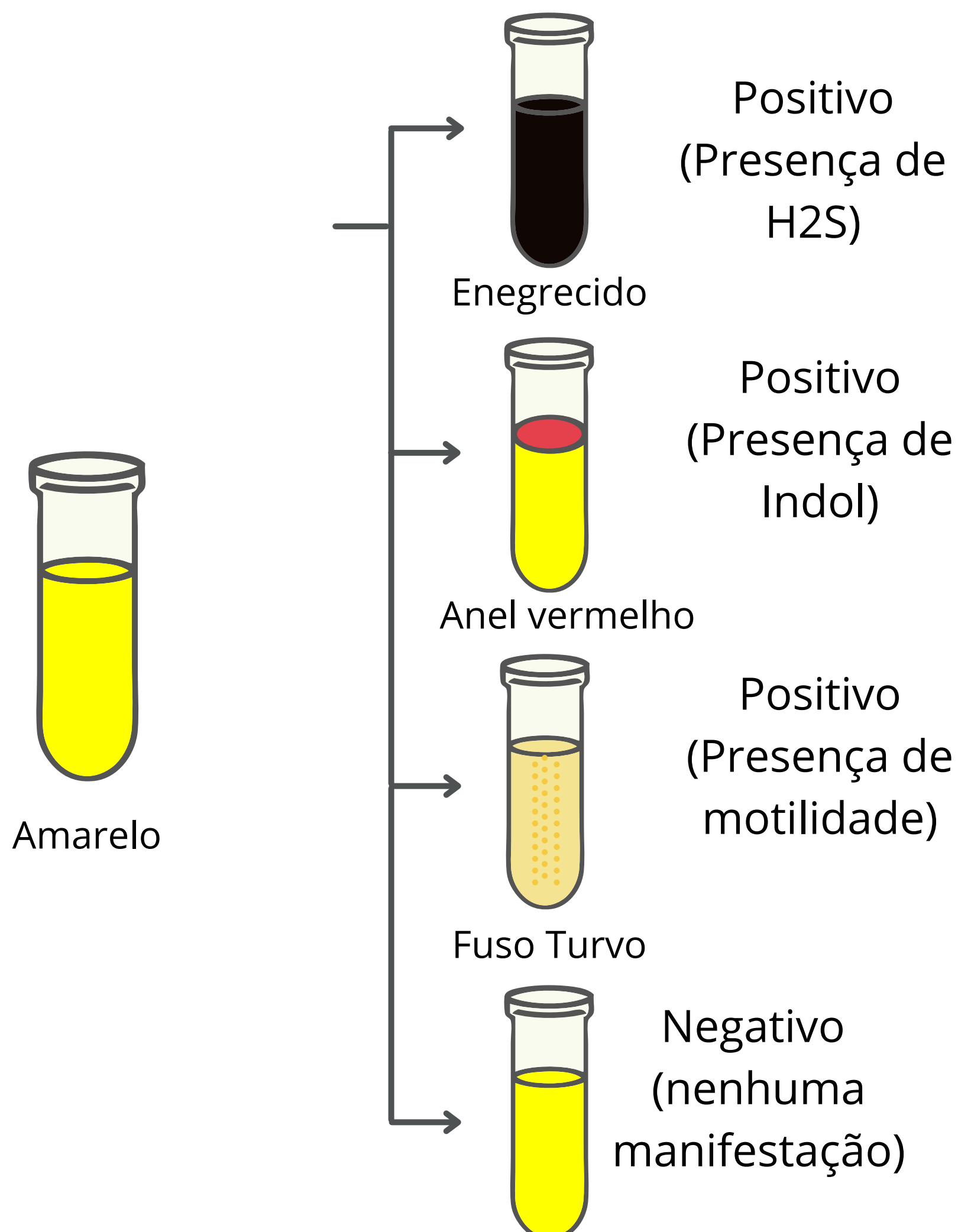
## 2.7. Indol (Reativo de Kovacs)

Detecção da ação da enzima Triptofanase através da degradação do Triptofanase em Indol.



Fonte: Microbiologia Brasil,2009.

## 2.8. MEIO SIM (SULFETO, INDOL E MOTILIDADE)

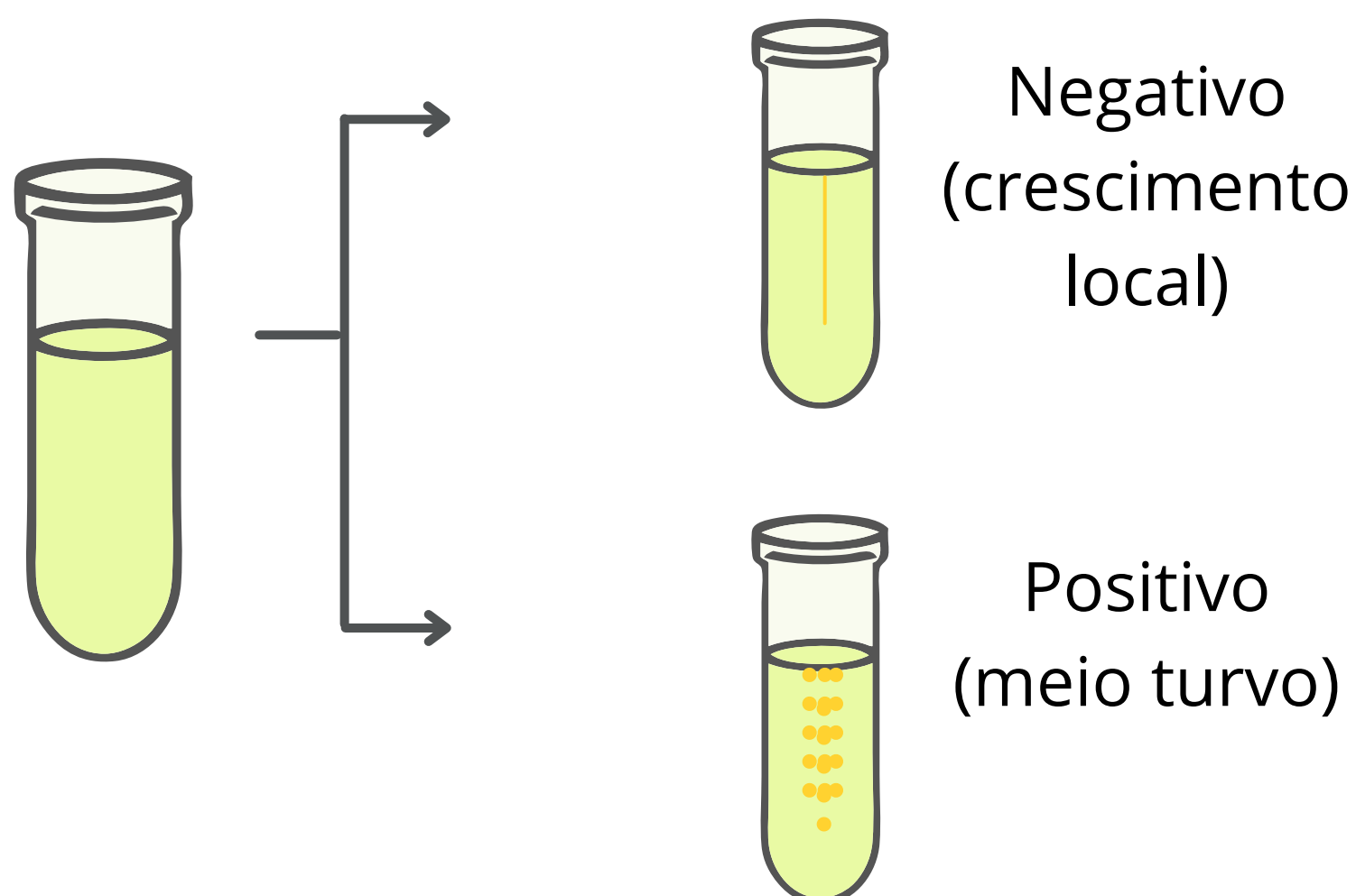


Fonte: Loucos por Microbiologia, 2020.

# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

## 2.9. TESTE DE MOTILIDADE

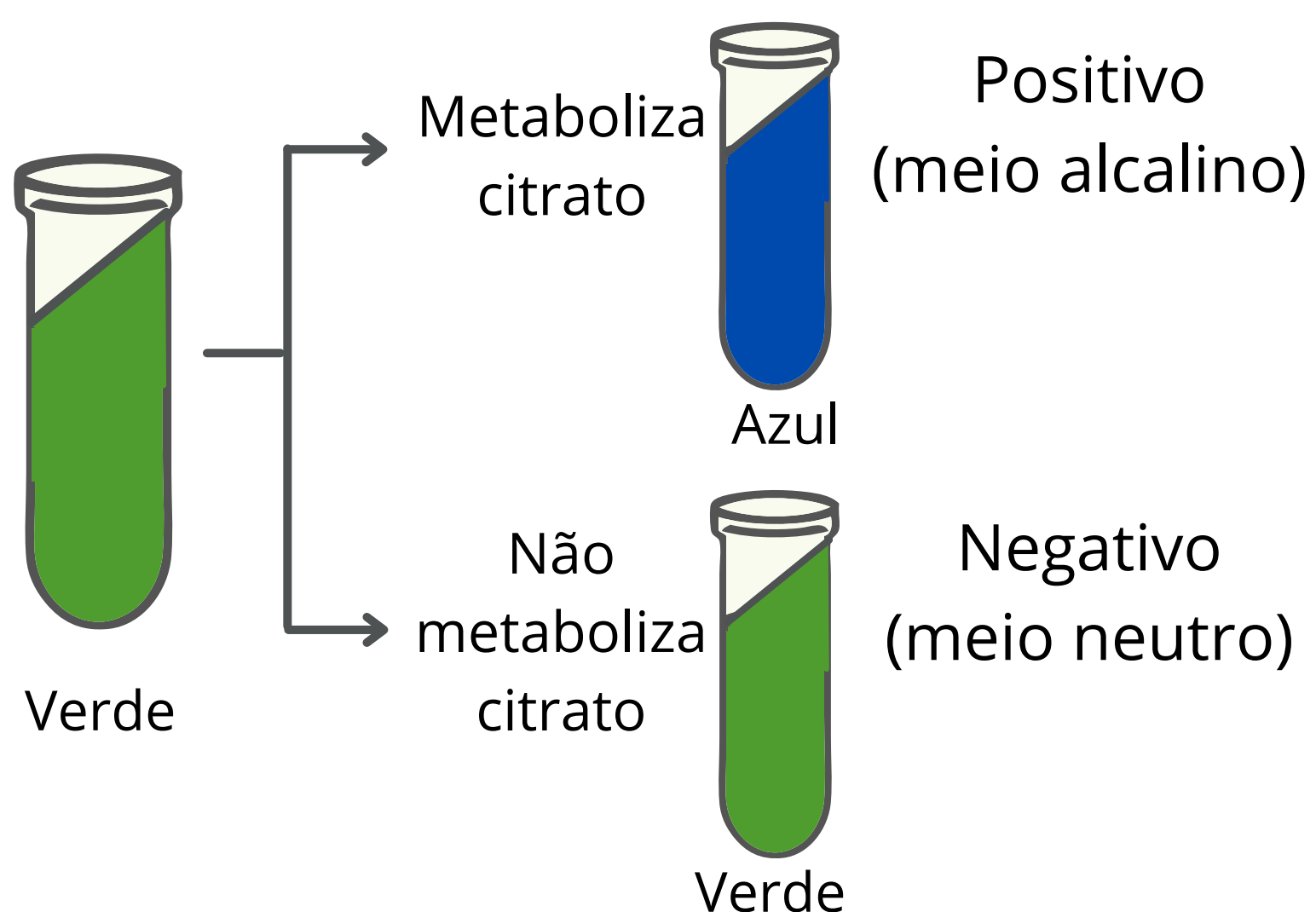
As bactérias móveis, quando semeadas em meio semissólido difundem-se no meio, turvando-o, e as imóveis crescem apenas no local da semeadura.



Fonte: Microbiologia Brasil, 2009.

## 2.10. ÁGAR DE CITRATO DE SIMMONS

Identificar se a bactéria utiliza o citrato de sódio como única fonte de carbono e nitrogênio para a produção de energia.

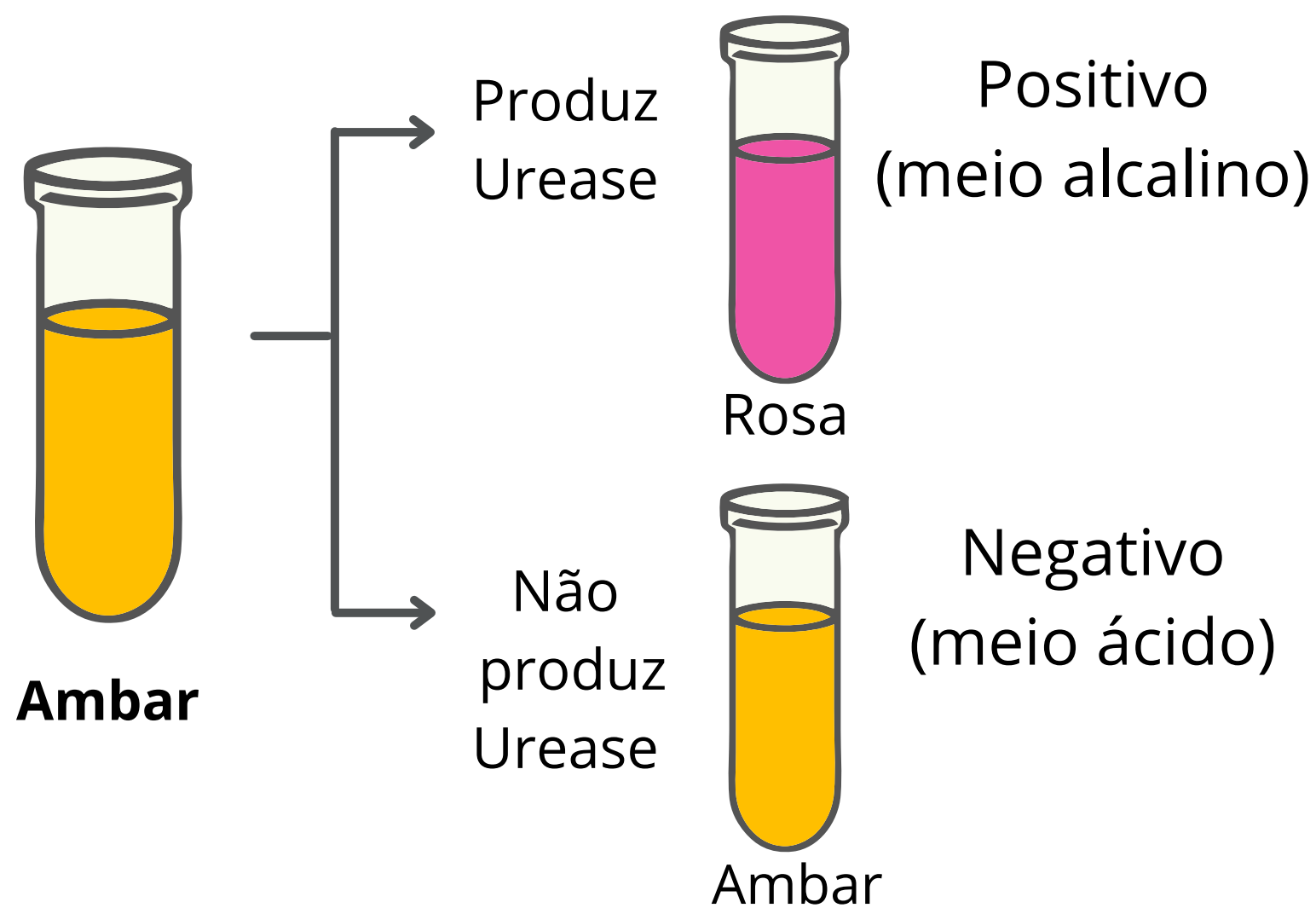


Fonte: Microbiologia Brasil, 2009.

# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

## 2.3. CALDO UREIA

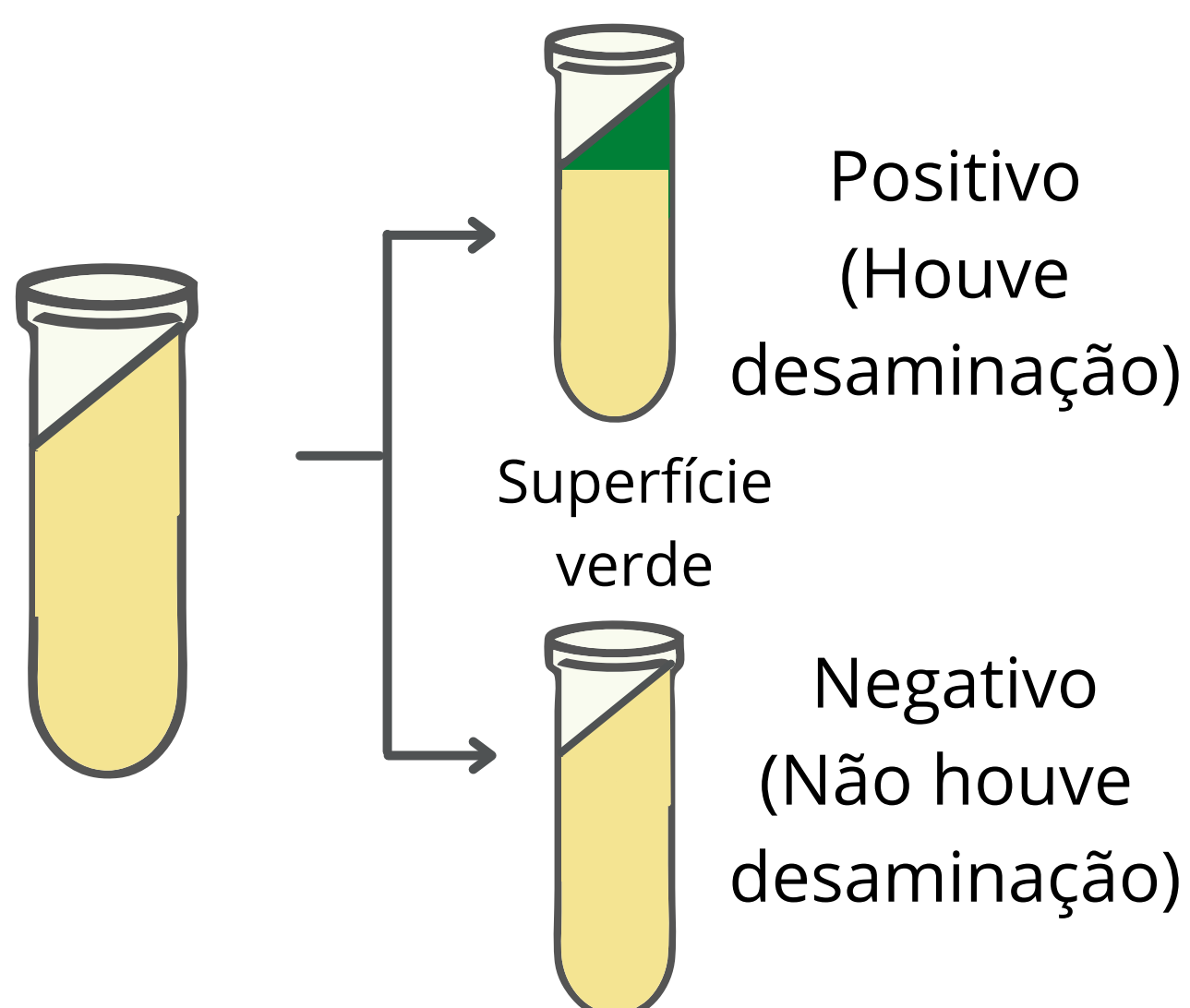
Verificar a degradação da ureia através da presença da enzima urease, indicada pela alcalinização do meio.



Fonte: Mac Faddin J. 1990

## 2.6. ÁGAR FENILALANINA

Observação da presença da enzima fenilalanina através da acidificação do meio causada pela ação catalítica da desaminação oxidativa, gerando ácido fenil pirúvico. Entre os membros da família Enterobacteriaceae, apenas as espécies de *Proteus* sp, *Morganella* sp e *Providencia* sp possuem a enzima necessária para a desaminação de fenilalanina.



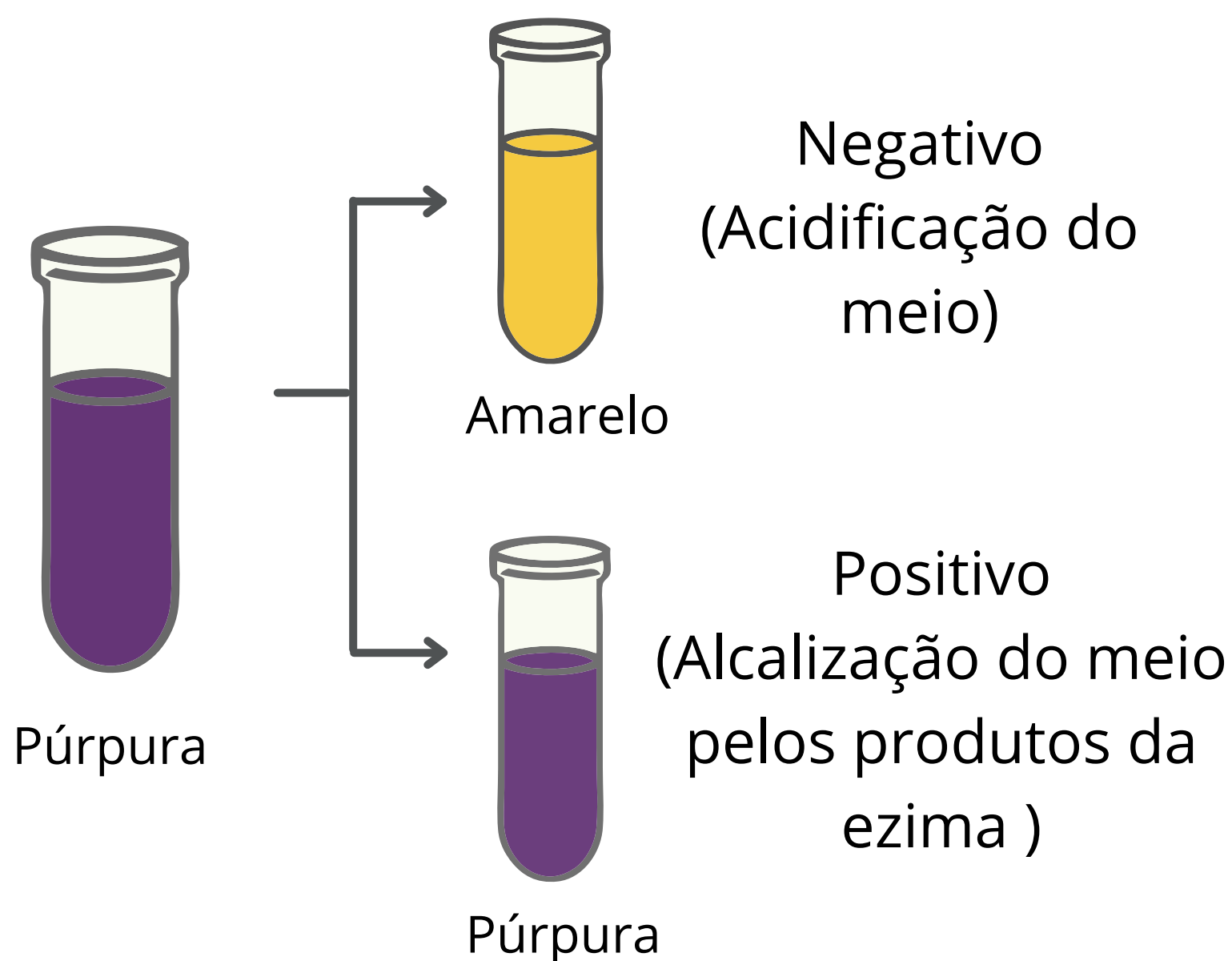
Fonte: Biomedicina Total, 2015.

# 2. INTERPRETAÇÃO DOS TESTES

## 2.6. Ágar Lisina Desacaboxilase (LIA).

Este teste é baseado na mudança fenotípica relacionada ao pH. O meio é de cor púrpura, com o crescimento bacteriano e fermentação da glicose com produção de ácido, ocorre a acidificação do meio, evidente pela viragem do indicador de pH (o meio muda de púrpura para amarelo).

Se a bactéria contém a enzima descarboxilase, há liberação de CO<sub>2</sub> e descarboxilação da lisina com produção da respectiva amina (cadaverina), esta neutraliza os ácidos produzidos na fermentação da glicose, alcalinizando o meio e proporcionando a viragem do indicador de pH (o meio muda de amarelo para púrpura, novamente). Como o objetivo deste teste é verificar a presença da **enzima Lisina Desacaboxilase**, a prova é positiva quando o meio retorna a **cor púrpura**.



Fonte: Biomedicina Total, 2015.

Quer saber mais?

### VÍDEO 1



Identificação de Enterobactérias - Testes Bioquímicos

### VÍDEO 2

Prática Virtual - Testes Bioquímicos - Enterobactérias



### VÍDEO 3

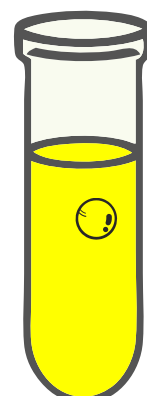
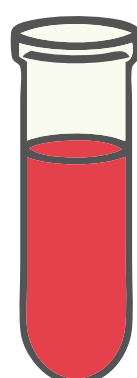


Identificação de Enterobactérias



Oi! Sou o Dr. Edgar Coli, trabalho no Laboratório de Microbiologia da UFPA mas hoje eu estou com muito trabalho mesmo, você pode me ajudar? Eu vou deixar 3 Séries Bioquímicas para você analisar e identificar.

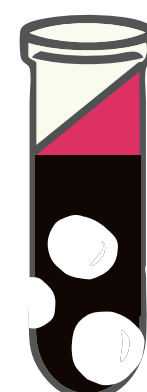
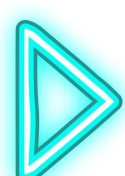
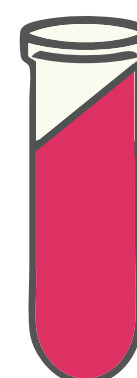
Caldo Glicose



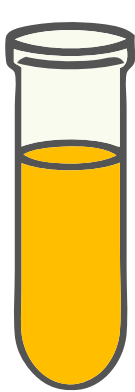
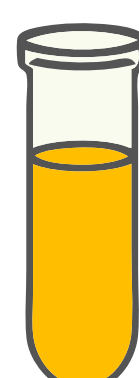
Ágar Citrato de Simmons



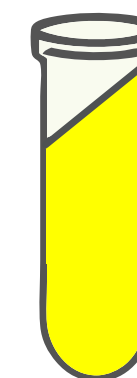
Ágar TSI



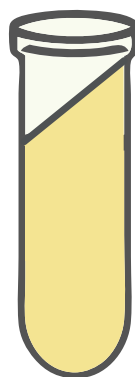
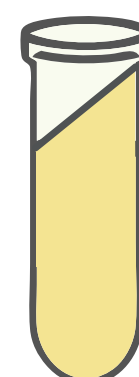
Caldo de Ureia



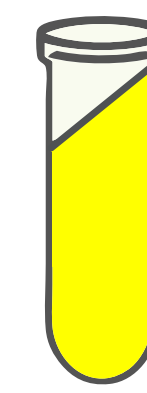
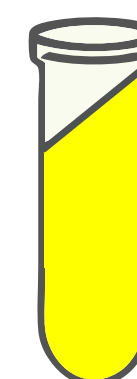
Teste do Vermelho de Metila (VM)



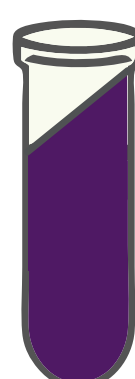
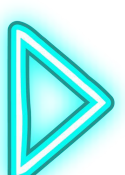
Ágar Fenilalanina



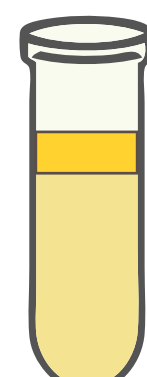
Teste do Vorges Proskauer (VP)



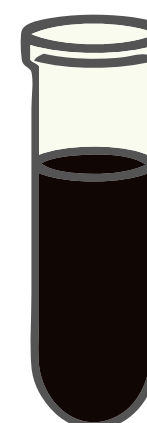
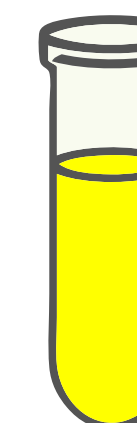
Ágar Lisina Descarboxilase (LIA).



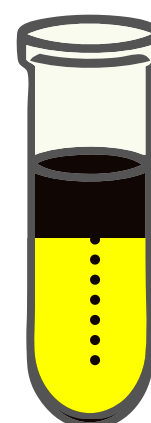
Teste Indol



Meio SIM

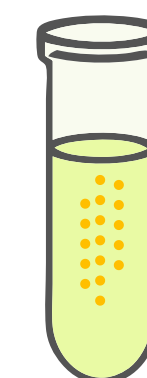
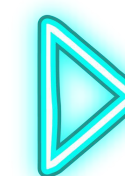


ou



RESULTADOS  
Catalase +  
Oxidase -

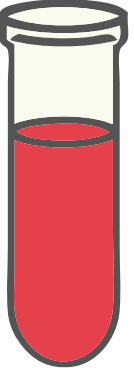

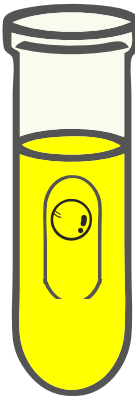



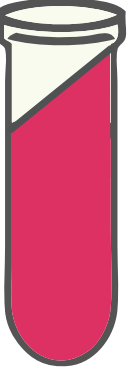

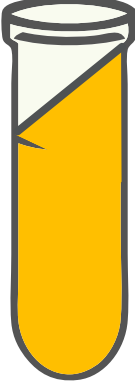
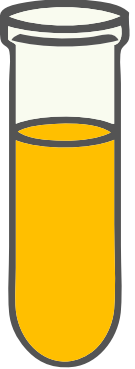

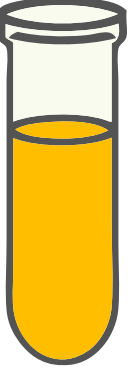
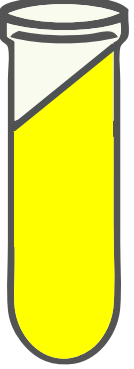
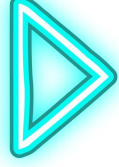
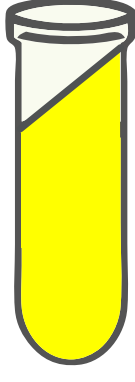
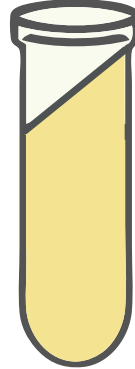

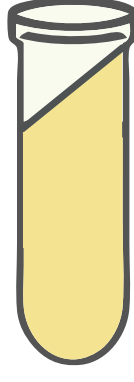
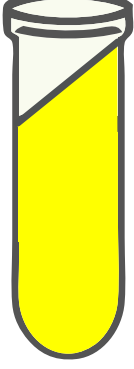

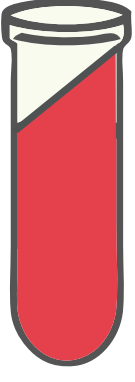
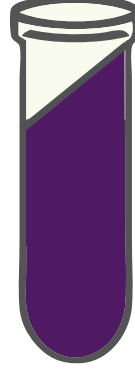

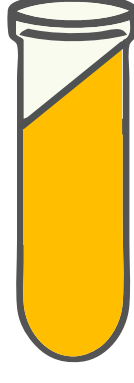
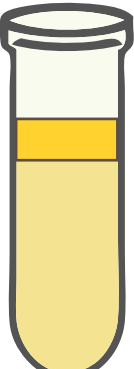

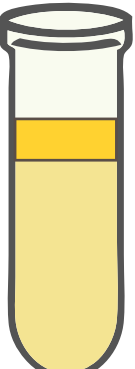
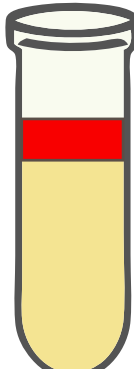
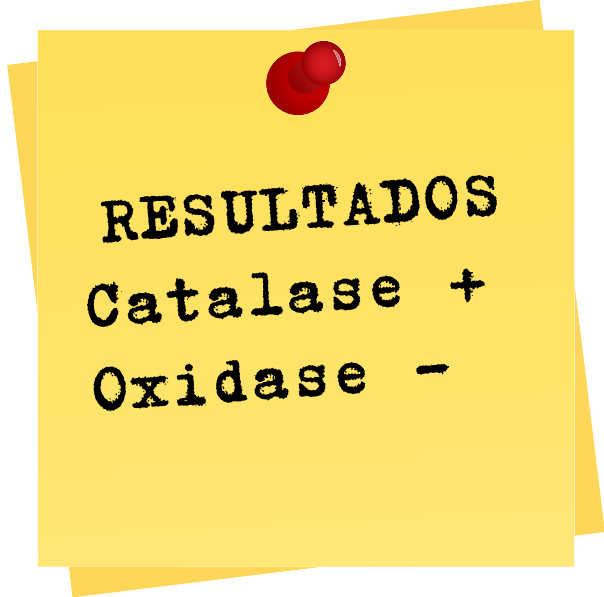
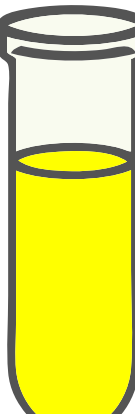


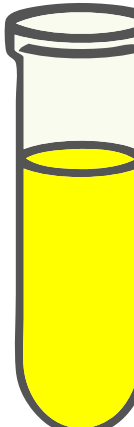
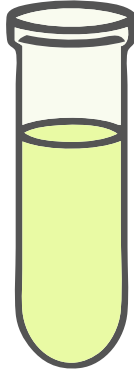

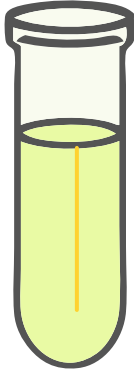
Teste de Motilidade



Acesse o QRcode ou [CLIQUE AQUI](#) para visualizar a Tabela de Identificação Bioquímica de ENTEROBACTÉRIAS



# Série Bioquímica 2

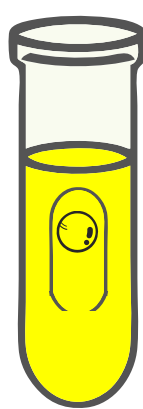
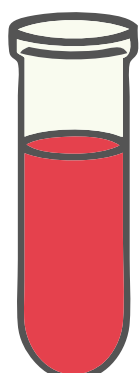
Caldo Glicose				Ágar Citrato de Simmons			
Ágar TSI				Caldo Ureia			
Teste do Vermelho de Metila (VM)				Ágar Fenilalanina			
Teste do Vorges Proskauer (VP)				Ágar Lisina Descarboxilase (LIA)			
Teste Indol				ou			
Meio SIM				ou			
Teste de Motilidade							



Acesse o QRcode ou [CLIQUE AQUI](#) para visualizar a Tabela de Identificação Bioquímica de ENTEROBACTÉRIAS

# Série Bioquímica 3

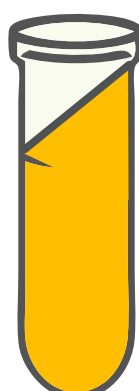
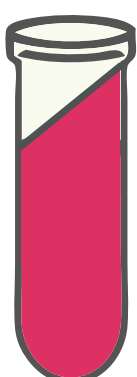
Caldo Glicose



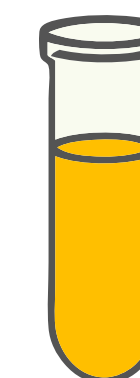
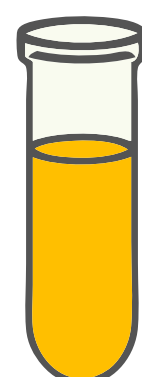
Ágar Citrato de Simmons



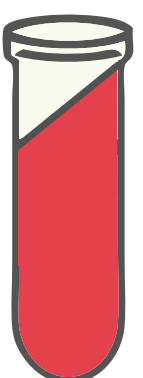
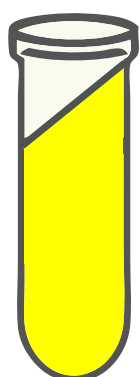
Ágar TSI



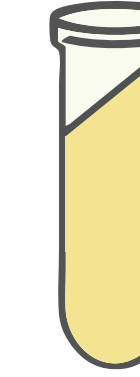
Caldo de Ureia



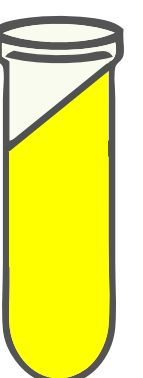
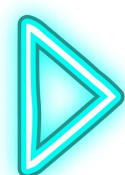
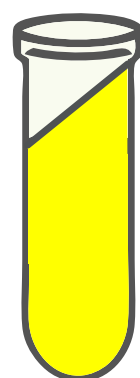
Teste do Vermelho de Metila (VM)



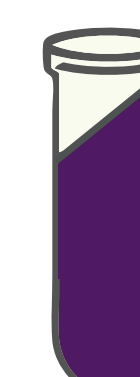
Ágar Fenilalanina



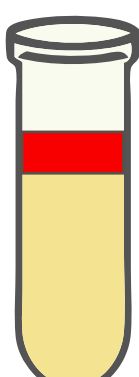
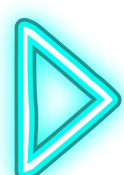
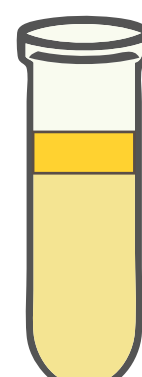
Teste do Vorges Proskauer (VP)



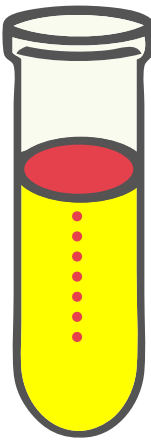
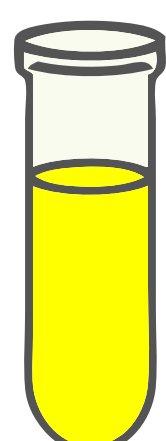
Ágar Lisina Descarboxilase (LIA).



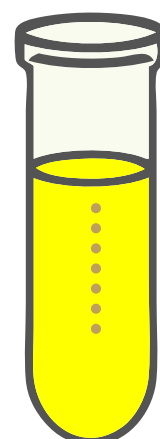
Teste Indol



Meio SIM

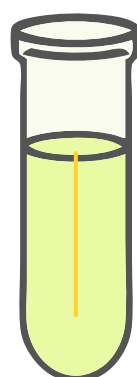
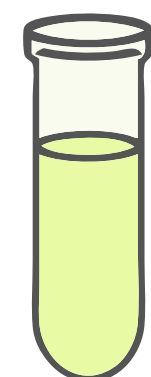


ou

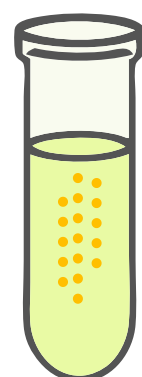


RESULTADOS  
Catalase +  
Oxidase -

Teste de Motilidade



ou



Acesse o QRcode ou [CLIQUE AQUI](#) para visualizar a Tabela de Identificação Bioquímica de ENTEROBACTÉRIAS

# REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada a Assistência à Saúde. **Modulo 6: Detecção e Identificação de Bactérias de Importância.** Brasília: Anvisa, 2013.