

**MEIO DE CULTURA PARA DIFERENCIAR O GRUPO *PROTEUS* E
PROVIDENCIA DE OUTRAS ENTEROBACTÉRIAS PELA
L-TRIPTÓFANO DESAMINASE (1)**

CULTURE MEDIUM FOR DIFFERENTIATION OF *PROTEUS* AND
PROVIDENCIA GROUPS FROM OTHER ENTEROBACTERIA BY
THE L-TRYPTOPHAN DESAMINASE

ETTORE RUGAI (2)
RAGHEL TEIXEIRA RUGAI (2)

SUMMARY

A culture medium with l-tryptophan was studied in order to differentiate the groups *Proteus* and *Providencia* from other enterobacteriaceae. By testing 642 samples of microorganisms using this culture medium both groups *Proteus* and *Providencia* developed a yellow-brownish colour after 18 hrs. of incubation at 37°C.

The enterobacteriaceae of other groups determines no change upon the culture medium.

The reliability of this method was proved by comparing with the Singer & Volcani technique giving the following results: 144 samples of *Proteus* and 113 of *Providencia* gave positive desaminase reaction with both techniques; 385 samples of enterobacteriaceae of other groups showed negative desaminase reaction with both techniques. Twenty one (21) samples of *Serratia* showed negative reaction with the Singer & Volcani method and a faint positive reaction with the studied technique. Such a faint reaction can be considered as negative for desaminase.

The technique proved to be sensitive and specific.

INTRODUÇÃO

A produção de cetoácidos a partir de l-aminoácidos, como característica dos grupos *Proteus* e *Providencia*, já foi consagrada como de grande valor taxionômico. Para o grupo *Proteus*, é superior à prova da urease.

A fenilalanina e o l-triptófano são os aminoácidos mais úteis pela cor intensa que desenvolvem os respectivos cetoácidos quando tratados por um sal de ferro.

Vários métodos foram descritos para pesquisar esses cetoácidos^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}. Todos

esses métodos dependem da adição ulterior de um reativo ao meio de cultura ou à emulsão do germe. EDWARDS & EWING⁹ descreveram um meio de cultura que encerra dl-fenilalanina e ferro, permitindo a leitura direta após 2-6 horas de incubação. Entretanto, com incubação mais prolongada, a especificidade fica prejudicada.

Na técnica que estudamos, o meio de cultura dá reação direta com 18 horas e mantém a especificidade após muitos dias de incubação.

(1) Trabalho realizado na Seção de Meios de Cultura da Diretoria dos Serviços Técnicos e Auxiliares do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODOS

Meio de cultura

Triptona (1)	10 g
Cloreto de sódio	5 g
Fosfato dissódico anídrico .	2 g
L-triptófano (2)	1 g
Ágar (3)	15 g
Água destilada q.s.	1 000 ml
pH. 7,4	

Dissolver a peptona, o cloreto de sódio e o fosfato dissódico em 800 ml de água. Adicionar o ágar e ferver para dissolvê-lo. Completar até um litro e ajustar o pH a 7,4. Adicionar o triptófano e distribuir 3 ml em tubos de 12 x 120 mm. Esterilizar a 120° C, durante 20 minutos. Inclinare para solidificar com pouca base. Controlar a esterilidade.

Semeadura — Semear em tôda a superfície e incubar a 35-37° C.

Leitura — Pode ser feita desde de 18 horas de incubação. As bactérias desaminase positivas desenvolvem coloração amarelo-acastanhada, na parte inclinada. A base permanece inalterada. As bactérias desaminase negativas não alteram o meio ou o fazem de maneira insignificante.

Germes utilizados — Na prova de eficiência do meio, foram utilizadas as seguintes amostras: *Arizona* 2, *Cloaca* 51, *Serratia* 21, *Shigella* 48, provenientes da coleção de culturas deste Instituto; *Shigella* 59, classificada sorolôgicamente pelo Dr. Augusto E. Taunay; *Citrobacter* 24, *Escherichia* 62, *Proteus* 144 e *Providencia* 113 classificadas bioquimicamente (vide rodapé pág. 31) por nós.

RESULTADOS

O estudo foi feito comparativamente com a técnica de SINGER & VOLCANI², conforme demonstração do quadro seguinte:

Comparação entre a técnica em estudo e a técnica de Singer & Volcani²

Enterobactérias	n.º de amostras	Técnica em estudo		Técnica de Singer & Volcani	
		Reação Positiva	Reação Negativa	Reação Positiva	Reação Negativa
Arizona	2	0	2	0	2
Citrobacter	24	0	24	0	24
Cloaca	51	0	51	0	51
Escherichia	62	0	62	0	62
Klebsiella	74	0	74	0	74
Proteus	144	144	0	144	0
Providencia	113	113	0	113	0
Salmonella	44	0	44	0	44
Serratia	21	0	21	0	21
Shigella	107	0	107	0	107
Totais	642	257	385	257	385

(1) Difco ou Oxoid ou similar.

(2) Ou dl-triptófano ... 2 g.

(3) Difco ou Oxoid ou similar.

CONCLUSÕES

A técnica em estudo demonstrou sensibilidade e especificidade que permitem seu emprêgo com segurança.

A reação deve-se provávelmente à formação do cetoácido 3-indol-pirúvico que se oxida em presença do oxigênio do ar, produzindo a substância colorida.

RESUMO

Foi estudado um meio de cultura com a l-triptófano para diferenciar os grupos *Proteus* e *Providencia* de outras enterobactérias, empregando-se 642 amostras de germes. Neste meio de cultura os grupos *Proteus* e *Providencia* desenvolvem coloração amarelo-acastanhada após 18 horas de incubação. As enterobactérias de outros grupos não alteram o meio. A avaliação deste método foi feita pela comparação com a técnica de Singer & Volcani, com os seguintes resultados: 144 amostras de *Proteus* e 113 de *Providencia* deram reação de desaminase positiva com ambas as técnicas. As amostras de enterobactérias de outros grupos, num total de 385, deram reação de desaminase negativa com ambas as técnicas, sendo que 21 amostras de *Serratia* deram reação negativa com a técnica de Singer & Volcani e levíssima reação positiva com a técnica em estudo, não apresentando dificuldades para considerá-la como de desaminase negativa. A técnica mostrou-se sensível e específica.

Agradecimentos — Agradecemos ao Dr. Augusto E. Taunay que nos franqueou a Secção de Bacteriologia para a colheita de amostras de enterobactérias e às Senhoras Maria José Faraco, Filomena Magaldi Jordão, Amair Araujo, Etel Sandoval Peixoto, Neuza Brandani Fonseca e aos funcionários da Secção de Meios de Cultura e Esterilização, pelo auxílio que nos prestaram na elaboração deste trabalho.

Técnicas utilizadas: *Indol* — água peptonada e reativo de Erlich. *l-aminoácido desaminase* — método de Singer & Volcani² e método por nós descrito¹⁰ na pág. 30 deste vol. *V.P.* e *V.M.* (vermelho de metila) meio de Clark & Lubs. *Fermentação de carboidratos* — meio semi-sólido com fenol vermelho, em tubo com rôlha parafinada e observação durante 20 dias, a 37°C. Com inosita foi feita a observação também a 30°C, com resulta do idêntico ao resultado a 37°C. *Urease* — meio de Christensen. *H₂S* — meio com gelatina e clorô to ferroso, recomendado por LE MINOR, L.¹². *KCN* e *malonato* — meios recomendados pela Subcomissão Internacional de Enterobactérias¹¹. *Citrato* — meio de Simmons. *Mobilidade* — água peptonada, em temperatura ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. HENRIKSEN, S. D. — A comparison of the phenylpyruvic acid reaction and urease test in the differentiation of *Proteus* from other enteric organism. J. Bact. 60:225-231, 1950.
2. SINGER, J. & VOLCANI, B. E. — An improved ferric chloride test for differentiating *Proteus-Providencia* group from other Enterobacteriaceae. J. Bact. 69:303-306, 1955.
3. SHAW, C. & CLARKE, P. H. — Biochemical classification of *Proteus* and *Providencia* Cultures. J. Gen. Microbiol. 13(1): 155-161, 1955.
4. BUTTIAUX, R., MORIAMEZ, J. & PAPA-VASSILLIHO, J. — Method simplifiée d'identification des Enterobacteriaceae n'attaquant pas rapidement la lactose. Ann. Inst. Pasteur. 90:133-143, 1956.
5. HAMIDA, F. B. & LE MINOR, L. — Une méthode rapide de recherche de la transformation de la L-phényl-alanine en acide phénylpyruvique. Ann. Inst. Pasteur. 90: 671-673, 1956.
6. FALKOW, S. — A screening method for enteric organisms, using a ferric chloride test. Am. J. Clin. Path. 28:99-102, 1957.
7. STEWART, D. J. — The phenylalanine test on Kligler's iron agar for the identification of *Proteus*. Nature (London) 183:1537-38, 1959.
8. BACHRACH, V. — A simple and rapid technique for the identification of *Proteus-Providencia* strains. J. Clin. Path. 13:525-526, 1960.
9. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H. — Identification of Enterobacteriaceae. 2.* ed. Minneapolis, Burgess Publ., c1962.p.252-253.
10. RUGAI, E. & RUGAI, R. T. — Grupo *Providencia*: Prevalência dos biogrupos em S. Paulo, Brasil. Rev. Inst. Adolfo Lutz. 24: 27-28, 1964.
11. Report of the Enterobacteriaceae Subcommittee of the International Association of Microbiological Societies. Internationale Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy 8(1): 25-70, 1958.
12. LE MINOR, L. — Le diagnostic de laboratoire des entérobactéries. 2e. ed. St. Mandé (Seine), Tourelle, 1962. p. 148.

Recebido para publicação em 30-12-64.

