

CALDO-SELENITO-NOVOBIOCINA. UM MEIO DE MAIOR SELETIVIDADE PARA O ISOLAMENTO DE *SALMONELLA* DE FEZES

NOVOBIOCIN-SELENITE BROTH. A MEDIUM OF IMPROVED SELECTIVITY FOR THE ISOLATION OF *SALMONELLA* FROM FAECES

GIL VITAL ÁLVARES PESSÓA (1)
ETHEL SANDOVAL PEIXOTO (2)

S U M M A R Y

The addition of novobiocin to selenite broth (40 µg/ml) improved its activity as an selective medium for the isolation of *Salmonella* from faeces. Significantly better results were obtained with the modified medium due to the reduction of *Proteus* overgrowth by the antibiotic.

INTRODUÇÃO

Das enterobactérias não fermentadoras da lactose, os *Proteus* estão entre os mais sensíveis à ação da novobiocina e as salmonelas entre as mais resistentes à ação desse antibiótico (JEFFRIES²). Baseado nesse fato, êsse autor aumentou a seletividade do caldo tetracionato no isolamento de salmonelas, acrescentando a êsse meio de enriquecimento novobiocina na quantidade de 40 µg/ml.

Os trabalhos de LECLERC *et alii*^{3,4} e SPINA⁵, sôbre o isolamento de salmonelas de águas poluídas, demonstraram a importância da temperatura de incubação. LECLERC *et alii*⁴ concluem que a temperatura é o fator primordial para favorecer o crescimento de salmonelas em meios seletivos, sendo a melhor temperatura a de 43°C.

Repetindo as experiências desse autor, com fezes em caldo-selenito, em banho-maria a 43°C, constatamos o crescimento exagerado de *Proteus*, muito mais intenso que em caldo-selenito a 37°C, o qual mascarava mesmo o crescimento de outras bactérias.

Partindo dessas observações, foi feito estudo comparativo entre caldo-selenito com novobiocina, a 37°C e 43°C, e caldo-selenito a 37°C.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados os meios de cultura:

a) Caldo-selenito (Bacto Selenite Broth Difco B275), preparado de acôrdo com as especificações do fabricante, ao qual foi adicionado novobiocina² (sal cálcico contendo 970 mg/g), na concentração de 40 µg/ml. O antibiótico foi adicionado ao caldo resfriado. O meio foi distribuído em tubos de 20x200 mm, 20 ml por tubo, e conservado em refrigerador.

b) Caldo-selenito (Bacto Selenite Broth Difco B275).

c) Meio de Kristensen (Brilliant Green Agar Modified, Oxoid CM 329), preparado de acôrdo com as especificações do fabricante.

d) Meio de Holth-Harris & Teague (HHT), modificado:

Extrato de carne	5 g
Peptona	10 g
Cloreto de sódio	5 g
Lactose	5 g
Sacarose	5 g
Eosina amarela	3,99 g
Azul de metileno	0,05 g
Agar	20 g
Água	1 000 ml

pH = 7,6

(1) Do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Fornecida pelo Laboratório Upjohn Produtos Farmacêuticos Ltda.

Foram semeadas aproximadamente 0,5-1,0 g de fezes para 10-20 ml de meio, em um tubo de caldo selenito e em dois tubos de caldo-selenito-novobiocina. Um dos tubos com caldo-selenito-novobiocina foi incubado a 43°C, durante 18-24 horas, e os dois outros foram incubados a 37°C durante 18 a 24 horas.

Com bastão em L, foi semeada uma amostra de cada tubo, primeiramente em placa de Kristensen e, a seguir, com o mesmo bastão, em placa de HHT. Após incubação a 37°C, foram isoladas no máximo 10 colônias suspeitas de cada placa.

RESULTADOS

Os resultados estão relacionados no quadro I:

QUADRO I

Frequência de colônias de enterobactérias isoladas a partir de caldo selenito simples e caldo-selenito-novobiocina, em relação à temperatura de incubação.

Meio	Identificação			
	<i>Salmonella</i>	<i>Proteus</i>	Outras	Total
Selenito 37°C	131 (252,7) *	156 (62,4)	102 (73,9)	389
Selenito-novobiocina 37°C	364 (272,9)	19 (67,9)	37 (79,8)	420
Selenito-novobiocina 43°C	273 (242,4)	15 (60,3)	86 (71,3)	374
Total	768	190	225	1.183

* Os números entre parênteses referem-se à frequência esperada.

Com referência ao isolamento de salmonelas, verificou-se um aumento significativo do número de colônias suspeitas isoladas; assim, a partir do caldo-selenito-novobiocina, a proporção foi de 364 para 420 colônias suspeitas a 37°C e de 273 para 374 a 43°C,

enquanto que a partir do caldo-selenito a 37°C foi de 131 para 389. O isolamento de *Proteus* foi significativamente reduzido, pois para o caldo-selenito-novobiocina a proporção foi de 19 para 420 a 37°C e 15 para 374 a 43°C, enquanto que a partir do caldo selenito foram obtidas 156 colônias para 389 suspeitas. Com referência ao isolamento de outras colônias suspeitas isoladas (não fermentadoras da lactose), verificou-se significativa redução; a partir do caldo-selenito-novobiocina a proporção foi de 37 para 420 a 37°C, de 86 para 374 a 43°C, enquanto que a partir do caldo-selenito a 37°C foi de 102 para 389.

Mediante procedimento estatístico adequado, podemos concluir que a variação observada no isolamento de salmonelas é significativa e que, portanto, existe estreita relação entre o meio testado e o isolamento de colônias suspeitas ($X^2 = 338,63$).

A influência das temperaturas de incubação (37°C e 43°C), no isolamento de salmonelas é mostrada no quadro II.

QUADRO II

Frequência de colônias de Salmonelas e de outras colônias suspeitas, isoladas, a partir de caldo-selenito-novobiocina, em relação às temperaturas de incubação.

Temperatura	Colônias suspeitas		
	<i>Salmonella</i>	Outras	Total
37°C	364 (337,0) *	56 (83,0)	420
43°C	273 (300,0)	101 (74,0)	374
Total	637	157	794

* Os números entre parênteses referem-se à frequência esperada.

Houve variação significativa ($X^2 = 23,22$), que demonstrou que a temperatura de 43°C é prejudicial ao isolamento de salmonelas de fezes, com os meios utilizados.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A inspeção dos dados obtidos (quadro I) demonstra evidente ação inibidora da no-

vobiocina no crescimento de *Proteus*. O concomitante aumento do isolamento de salmonelas corroborou a hipótese de BUTTIAUX *et alli*¹ de que “o desenvolvimento de *Proteus* num meio de enriquecimento inibe e até mesmo suprime o de salmonela”.

Com referência à influência da temperatura, os resultados obtidos diferem dos de LECLERC⁴, no isolamento de salmonelas de águas poluídas. Poder-se-ia explicar tal comportamento, além da diversidade do material em estudo, pela ação favorecedora da temperatura no crescimento competitivo de outras enterobactérias.

Obviamente, tendo em vista os resultados obtidos, deve ser indicado o emprêgo do caldo-selenito-novobiocina para isolamento de salmonelas em coproculturas.

RESUMO

A adição de novobiocina ao caldo-selenito (40 µg/ml) determinou o aumento de sua atividade seletiva no isolamento de Salmonelas a partir de fezes. Obtivemos resultados significativamente melhores devido à redução do crescimento de *Proteus* pelo anti-biótico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUTTIAUX, R. & CATSARAS, M. — Le milieu au tetrathionate additionné de novobiocine pour l'enrichissement des *salmonella* des matieres fécales. *Ann. Inst. Pasteur Lille* 12:13-8, 1961.
2. JEFFRIES, L. — Novobiocin-tetrathionate broth: A medium of improved selectivity for the isolation of *Salmonellae* from faeces. *J. Clin. Path.* 12:568-71, 1959.
3. LECLERC, H.; CATSARAS, M. & MIZON, F. — Sur l'isolement des *Salmonella* dans le milieu fortement pollues. 1. Etudes préliminaires sur des eaux contaminées expérimentalement. *Ann. Inst. Pasteur Lille* 21:263-76, 1970.
4. LECLERC, H.; CATSARAS, M.; SAVAGE, C. & EYMARD, C. — Sur l'isolement des *Salmonella* dans les milieux fortement pollues. 2. Essais sur des eaux résiduaires. *Ann. Inst. Pasteur Lille* 21:277-94, 1970.
5. SPINO, D. F. — Elevated temperature technique for the isolation of *Salmonella* from streams. *Appl. Microbiol.* 14:591-6, 1966.

Recebido para publicação em 15 de abril de 1971

