

## Comunicação

[Communication]

### Comparação dos caldos selenito cistina, tetrionato Muller-Kauffmann e Rappaport-Vassiliadis no isolamento de *Salmonella* Typhimurium

[Comparison of selenite cystine, tetrathionate Muller-Kauffmann and Rappaport-Vassiliadis broths for *Salmonella* Typhimurium isolation]

L.G. Ávila<sup>1</sup>, D.G. Silva<sup>2</sup>, J.J. Fagliari<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluna de pós-graduação - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - Araçatuba, SP

<sup>2</sup>Pós-doutoranda - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP- Jaboticabal, SP

<sup>3</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP- Jaboticabal, SP

A salmonelose bovina é uma enfermidade que vem se destacando pelo impacto econômico na pecuária e pelas implicações na área de saúde pública (Veling *et al.*, 2002). Embora os bovinos possam ser infectados por diferentes sorotipos de *Salmonella*, a salmonelose bovina é causada principalmente pelos sorotipos *S. dublin* e *S. Typhimurium* (Santos *et al.*, 2002a).

As etapas necessárias para o isolamento de espécimes do gênero *Salmonella* incluem pré-enriquecimento não seletivo, enriquecimento direto (seletivo), plaqueamento em meio semissólido e confirmação bioquímica e sorológica (Waltman, 2000).

Os caldos de enriquecimento seletivo mais comuns são os caldos selenito, tetrionato e Rappaport-Vassiliadis (Nascimento *et al.*, 2000).

Entretanto, apesar de a literatura científica dispor de vários trabalhos sobre qual meio de enriquecimento seletivo é mais apropriado para o isolamento de *Salmonella*, os resultados são confusos e contraditórios.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência dos caldos de enriquecimento seletivos, selenito cistina, tetrionato Muller-Kauffmann e Rappaport-Vassiliadis, no isolamento de *Salmonella* Typhimurium em amostras de fezes de bezerro experimentalmente infectado.

Foram analisadas 15 amostras de *swabs* retais de um bezerro macho da raça Holandesa, com aproximadamente 15 dias de idade, infectado experimentalmente com 10<sup>9</sup> unidades formadoras de colônia (UFC) de *Salmonella* Typhimurium (Santos *et al.*, 2002b). As amostras foram colhidas em triplicata, imediatamente antes da inoculação (M0) e a intervalos de 24 horas, ao longo de 14 dias após a infecção experimental (M1 a M14).

Para o isolamento de *Salmonella* Typhimurium, foram testados três caldos de enriquecimento seletivo: selenito cistina (SC), tetrionato Muller-Kauffmann (TMK) e Rappaport-Vassiliadis (RV).

Das três amostras de *swabs* retais colhidas num mesmo momento, duas foram diretamente inoculadas em 10mL de caldo SC (Oxoid CM0699) e TMK (Oxoid CM0343) e incubadas a 37°C durante 24 horas. A outra amostra foi inicialmente pré-enriquecida em 10mL de caldo GN-Hajna (Difco 0486-17) e incubada a 37°C por 24 horas. Após o crescimento, transferiu-se 0,1mL para um tubo contendo 9,9mL de caldo RV (Oxoid CM0866), que foi incubado a 42°C durante 24 horas. Após incubação, os caldos foram semeados em placas contendo ágar verde brilhante modificado (Oxoid CM0329) e incubados a 37°C por 24 horas. De cada placa, três colônias sugestivas de bactérias do gênero *Salmonella* foram inoculadas em tubos contendo ágar tríplice açúcar e ferro (Oxoid CM0277) e ágar lisina ferro (Oxoid CM0381). Todas as

---

Recebido em 28 de setembro de 2010

Aceito em 2 de janeiro de 2012

E-mail: lgavila\_10@hotmail.com

colônias identificadas presuntivamente como *Salmonella* foram submetidas ao teste de soroaglutinação em lâmina, com soro polivalente antiantígenos somáticos (O) e com soro polivalente antiantígenos flagelares (H) de *Salmonella* (Probac do Brasil).

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de McNemar (Zar, 1999).

As amostras colhidas antes da infecção experimental foram negativas para *S. Typhimurium* em todos os caldos avaliados.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os resultados do isolamento de *S. Typhimurium* com a utilização dos três caldos de enriquecimento seletivo ( $P > 0,05$ ), entretanto os caldos SC e TMK apresentaram maior eficiência no isolamento de *S. Typhimurium*, com resultados idênticos (12 amostras positivas) (Tab. 1).

Estes resultados diferem daqueles descritos por Silva et al. (2008), Freschi et al. (2005) e Bager e Petersen (1991), que relataram superioridade do uso do caldo SC, TMK e RV, respectivamente, no isolamento de *Salmonella* spp a partir de amostras de fezes.

Tabela 1. Isolamento de *Salmonella Typhimurium* a partir de amostras de swabs retais de bezerro infectado experimentalmente com  $10^9$  UFC de *S. Typhimurium*, utilizando-se os caldos de enriquecimento seletivo selenito cistina (SC), tetracionato Muller-Kauffmann (TMK) e Rappaport-Vassiliadis (RV)

Amostras	Caldos de enriquecimento seletivo		
	SC	TMK	RV
M0	-	-	-
M1	+	+	+
M2	+	+	+
M3	+	+	+
M4	+	+	+
M5	+	+	+
M6	+	+	-
M7	+	+	+
M8	+	+	+
M9	+	+	+
M10	+	+	+
M11	+	+	+
M12	+	+	-
M13	-	-	-
M14	-	-	-
Total	12	12	10

M: momento da colheita da amostra.

+: positivo para *Salmonella Typhimurium*; -: negativo para *Salmonella Typhimurium*.

O caldo RV apresentou desempenho inferior aos caldos SC e TMK, pois em dois momentos, M6 (144 horas após a inoculação de *S. Typhimurium*) e M12 (288 horas após a infecção experimental), houve resultado negativo (Tab. 1). A etapa de pré-enriquecimento no caldo GN-Hajna pode ter interferido negativamente no isolamento de *S. Typhimurium* por possibilitar o crescimento indiscriminado de outras enterobactérias presentes nas amostras de swabs retais.

Os resultados obtidos mostraram que os caldos SC e TMK foram as melhores opções de caldos de enriquecimento seletivo para o isolamento de *Salmonella Typhimurium* a partir de swabs retais de bezerro. Além disso, o caldo RV apresenta a necessidade de uma fase de pré-enriquecimento, retardando o tempo para o resultado do isolamento microbiológico.

Palavras-chave: bezerro, fezes, meio de enriquecimento seletivo, *Salmonella Typhimurium*

## ABSTRACT

Three selective enrichment broths – selenite cystine (SC), Muller-Kauffmann tetrathionate (MKT) and Rappaport-Vassiliadis (RV) – were compared, for *Salmonella* Typhimurium isolation from rectal swabs of a calf experimentally infected. The bacteriological procedure involved pre-enrichment in Hajna-GN broth (only for the samples inoculated in RV broth), selective enrichment (SC, MKT and RV broths), culture in modified brilliant green agar (BGA), presumptive biochemistry tests (using triple-sugar-iron agar and lysine-agar) and slide agglutination test with poli-O and poli-H *Salmonella* antisera. SC and MKT broths were more efficient in the isolation of *Salmonella* Typhimurium (12 positive samples), whereas RV broth had a lower efficiency in the microbiological isolation (ten positive samples).

**Keywords:** calves, feces, selective enrichment broth, *Salmonella typhimurium*

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de bolsa de estudo e pelo auxílio financeiro, e à Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, pelo fornecimento da cepa de *Salmonella* Typhimurium.

## REFERÊNCIAS

- BAGER, F.; PETERSEN, J. Sensitivity and specificity of different methods for the isolation of *Salmonella* from pigs. *Acta. Vet. Scand.*, v.32, p.473-481, 1991.
- FRESCHI, C.R.; CARVALHO, L.F.O.S.; OLIVEIRA, C.J.B. Comparison of DNA-extraction methods and selective enrichment broths on the detection of *Salmonella* Typhimurium in swine feces by polymerase chain reaction (PCR). *Braz. J. Microbiol.*, v.36, p.363-367, 2005.
- NASCIMENTO, M.S.; BERCHIERI JR., A.; BARBOSA, M.D. *et al.* Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento utilizados na pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango e fezes de aves. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, v.2, p.85-91, 2000.
- SANTOS, R.L.; ZHANG, S; TSOLIS, R.M. *et al.* Morphologic and molecular characterization of *Salmonella* Typhimurium infection in neonatal calves. *Vet. Pathol.*, v.39, p.200-215, 2002a.
- SANTOS, R.L.; TSOLIS, R.M.; BAÜMLER, A.J. *et al.* Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. *Am. J. Vet. Res.*, v.63, p.1145-1150, 2002b.
- SILVA, D.G.; FAGLIARI, F.F.; GARCIA, T.B. Comparação da eficiência dos caldos de enriquecimento seletivo no isolamento de *Salmonella dublin*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.766-768, 2008.
- VELING, J.; BARKEMA, H.W.; SCHANS, I. *et al.* Herd-level diagnosis for *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar *dublin* infection in bovine dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, v.53, p.31-42, 2002.
- WALTMAN, W.D. Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. *Salmonella in Domestic Animals*. Oxon: CABI Publishing, 2000. p.355-371.
- ZAR, J.H. *Biostatistical analysis*. 4.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 663p.