

INTRODUÇÃO

Na atualidade, a doença diarréica é um grave problema de saúde pública em todo o mundo, inclusive no Brasil. São estimadas milhões de mortes todos os anos causadas por esta enfermidade. Pode ter causa não infecciosa, porém, grande parcela dos casos de diarréia tem proveniência infecciosa, sendo as bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae uma das principais responsáveis. Identificar esses patógenos é fundamental como ferramenta epidemiológica, para traçar estratégias frente ao combate destes patógenos. O Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas (LRNEB) na Fiocruz, dentre outros procedimentos, realiza o isolamento e identificação de enterobactérias (exemplos: Salmonella spp., Enterobacter spp., Shigella spp., Escherichia Coli) relacionados à surtos de origem alimentar de todo o território nacional. O objetivo deste trabalho é apresentar a rotina de identificação fenotípica de isolados bacterianos do Salmonella spp..

DESENVOLVIMENTO

O processo é constituído pelas etapas de isolamento em meios seletivos e diferenciais, seguidos de posterior identificação quanto à espécie baseado em provas bioquímicas e por fim a identificação quanto à sorovar pela prova de soro aglutinação rápida em lâmina. Primeiramente, ao receber a amostra bacteriana, é realizado o plaqueamento desta em ágar Entérico Hecktoen, onde os isolados do gênero Salmonella spp. apresentam colônias negras sem alteração de cor no ágar. Após o isolamento em ágar as colônias características são selecionadas e inoculadas nos meios usados para triagem (que tornarão visíveis diversas características do microrganismo em questão, como mobilidade, produção de indol, sulfeto e urease, fermentação de alguns açúcares, dentre outras). Para esta triagem os isolados são repicados nos meios CV (meio de cultura capaz de avaliar a fermentação de lactose, sacarose, produção de sulfeto de hidrogênio, motilidade, e produção da enzima urease), SIM (meio utilizado para avaliar a motilidade, produção de sulfeto de hidrogênio e produção de indol), e ágar nutriente inclinado, sendo estes incubados por 24 horas à 37°C. Os testes de descarboxilação da lisina, a prova da utilização de citrato e a degradação da ureia podem ser utilizados como provas adicionais diante da não confirmação da espécie mediante as provas de triagem. Após a identificação bioquímica os isolados crescidos em ágar nutriente inclinado são submetidos à prova de soro aglutinação rápida em lâmina com antissoros poli e monovalentes somáticos e flagelares para determinação final quanto ao sorovar.

PLAQUEAMENTO ISOLADOS DE Salmonella spp. EM ÁGAR ENTÉRICO HECKTOEN, COM AS COLÔNIAS CARACTERÍSTICAS

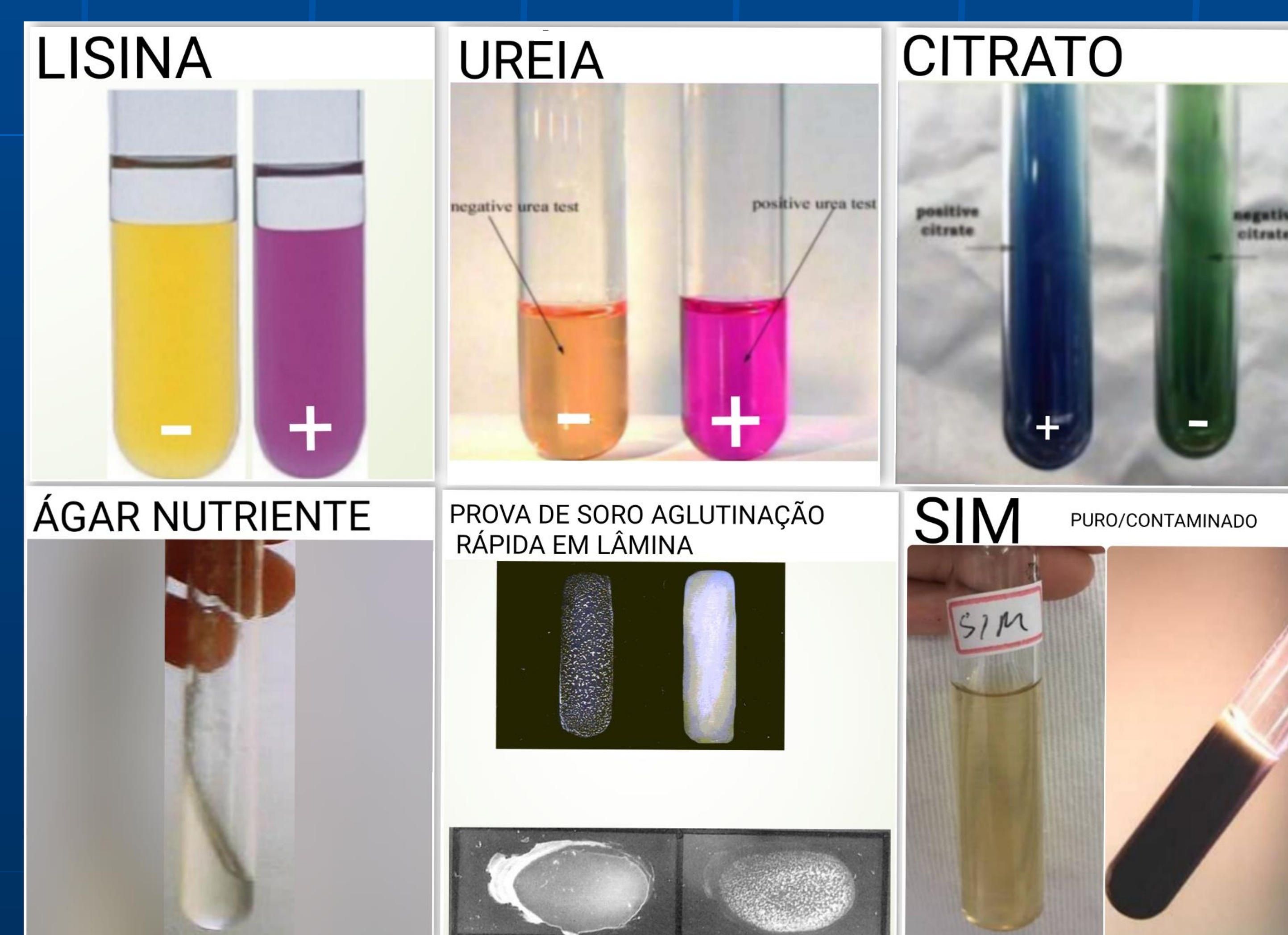


TRIAGEM INDICADA PARA SUSPEITA DE Salmonella spp. NO LRNEB: MEIO COSTA E VERNIN (CV), ÁGAR INDOL SULFETO MOTILIDADE (SIM) E ÁGAR NUTRIENTE 0,5%

- CV: isolados de Salmonella spp. apresentam motilidade positiva, produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S), não fermentam sacarose e lactose e não degradam a ureia;
- SIM: isolados de Salmonella spp. apresentam motilidade positiva, produção de H₂S e são negativos para produção de indol;
- Ágar Nutriente: para posterior prova de soroglutinação rápida em lâmina.

PROVAS BIOQUÍMICAS ADICIONAIS PARA SUSPEITA DE SALMONELLA SPP.: LISINA, UREIA, CITRATO.

- Citrato: Os isolados de Salmonella spp. são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono;
- Ureia: os isolados de Salmonella spp. não possuem a enzima urease;
- Lisina: os isolados de Salmonella spp. descarboxilam o aminoácido lisina pela ação de descarboxilases.



CONCLUSÃO

Após a identificação bioquímica e sorológica os resultados são encaminhados para os Laboratórios solicitantes. A importância da identificação fenotípica dos isolados de Salmonella spp. É fundamental para avaliar os sorovares de maior prevalência circulantes na cadeia alimentar no Brasil e traçar estratégias de combate diante destes isolados.