

SALMONELLA TYPHIMURIUM, FERMENTADORA TARDIA DA LACTOSE *

Gil Vital Álvares PESSÓA **
Chifumi Takeuchi CALZADA **
Kinue IRINO **
Suzel Nogueira NEME **
Elena KANO **
Ângela Maria Girardi DIAS **
Maria Cristina de Cunta BRANDILEONE **

RIALA6/563

PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; KANO, E.; DIAS, A.M.G. & BRANDILEONE, M.C.C. — *Salmonella typhimurium*, fermentadora tardia da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 43(1/2):89-95, 1983.

RESUMO: Foram estudadas 7.351 cepas de *S. typhimurium* isoladas de diferentes materiais biológicos e do meio ambiente, em relação ao seu comportamento frente ao orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG). Observou-se a partir de 1975 uma diminuição das cepas rápido-fermentadoras de lactose (fermentação em 24 horas) da *S. typhimurium*, que predominou no período de 1971-74, no material de origem humana, principalmente no de procedência hospitalar. Embora o isolamento das cepas rápido-fermentadoras da lactose tenha decrescido, o seu comportamento em relação ao ONPG permaneceu praticamente constante; assim, neste período, mais de 70% das cepas apresentou uma rápida hidrólise do ONPG, diferindo apenas quanto ao tempo de fermentação da lactose onde quase a totalidade das amostras foi capaz de fermentá-la, entre 3 e 7 dias. As cepas de *S. typhimurium* 05+ caracterizaram-se por ser sempre negativas em relação à fermentação da lactose (15 dias, a 37°C) e ao teste de ONPG (24 horas, a 37°C). Todas as cepas ONPG positivas apresentaram perfis de resistência semelhantes, tendo a maioria 8 marcas.

DESCRITORES: *Salmonella typhimurium*; lactose, fermentação; ortho-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo, hidrólise.

INTRODUÇÃO

A ocorrência de *Salmonella typhimurium* rápida fermentadora da lactose foi descrita em São Paulo por PESSÓA ⁴, em 1973, quando identificou, em maio de 1971, a prevalência da variante rápida fermentadora da lactose.

O comportamento atípico desta variante nos meios clássicos de isolamento e de diagnóstico sugeriu uma modificação nos métodos convencionais de diagnóstico e identificação das enterobactérias.

Segundo PESSÓA *et alii* ⁵, esta variante predominou até 1974, correspondendo neste

período a aproximadamente 60% das cepas de *S. typhimurium* isoladas em coprocultura na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. A partir desta data, sua frequência diminuiu de maneira significativa, representando somente 12% e 6% do total de *S. typhimurium* isolada nos anos de 1975 e 1976, respectivamente. De 1977 em diante, o seu achado tornou-se raro, voltando à situação anterior a 1971, quando não era encontrada a variante rápida fermentadora da lactose de *S. typhimurium*.

Nas cepas de *S. typhimurium* rápidas fermentadoras da lactose foi demonstrado que a capacidade de fermentar este carboidrato es-

* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

tava ligado à presença de um plasmídeo não-autotransferível e sem nenhuma relação com a resistência aos agentes antimicrobianos apresentada pelas mesmas, cujos plasmídios são facilmente transferíveis de uma cepa a outra³.

Para melhor estudar o que ocorre com as cepas de *S. typhimurium* incapazes de fermentar a lactose em 18-24 horas, propusemo-nos a avaliar sua capacidade enzimática de degradação deste carboidrato, através do teste da hidrólise do orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG), uma vez que bactérias potencialmente capazes de fermentar a lactose sempre apresentam o teste do ONPG positivo.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro de 1973 a dezembro de 1982, foram estudadas, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, 7.351 cepas de *S. typhimurium*.

A origem dessas cepas foi a seguinte:

coprocultura	4.984
hemocultura	751
cultura de LCR	381
urocultura	66
cultura de secreções	63
origens diversas (embutidos, aves, frutos do mar, meio ambiente)	740
origem desconhecida	366

O estudo da hidrólise do ONPG foi feito de acordo com a técnica descrita por LE MINOR & BEN HAMIDA², utilizando-se uma solução tamponada 0,75 M de orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo. A incubação foi feita em banho-maria a 37°C e as leituras, efetuadas após 5, 15, 30, 60 minutos e após 24 horas.

Para a verificação da utilização da lactose, foi feita a semeadura em água peptonada contendo 1% de lactose, tendo azul de bromotimol como indicador de pH. O tempo de observação foi de 15 dias, em estufa a 37°C.

Os perfis de resistência das cepas foram determinados através dos antibiogramas realizados de acordo com a técnica de BAUER *et alii*¹. Para a realização dos antibiogramas foram utilizados discos impregnados com os seguintes agentes antimicrobianos; ampicilina, cefaloridina, estreptomina, canamicina, clo-ranfenicol, tetracilina, gentamicina, colistina e ácido nalidixico, de procedências diversas.

RESULTADOS

Os resultados da distribuição total e percentual das cepas de *S. typhimurium* ONPG positivas e negativas encontram-se nas tabelas 1 e 2 nas páginas seguintes.

A grande maioria das cepas que hidrolizou o ONPG, fermentou a lactose entre o 3.º e 5.º dias de incubação, portanto lento-fermentadora deste carboidrato.

À semelhança das cepas rápido fermentadoras da lactose, também as amostras ONPG positivas de *S. typhimurium* apresentaram um grande número de marcas de resistência aos antimicrobianos.

DISCUSSÃO

Para a análise da problemática da *S. typhimurium* é necessário lembrar que até 1966 este sorotipo, segundo TAUNAY⁶, correspondia apenas a 11,12% de todos os sorotipos isolados no Laboratório de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. Foi a partir de 1968 que *S. typhimurium* passou a ser o sorotipo de *Salmonella* prevalente em nosso meio⁷, quando se tornou predominante de forma absoluta. Nessa ocasião⁴, passamos também a identificar a variante rápido-fermentadora da lactose, que foge à regra, no gênero *Salmonella*, que é a de não utilizar este carboidrato.

Pela análise da tabela 1, observamos que, a partir de 1975, mais de 60% das cepas de *S. typhimurium*, que se comportaram como não-fermentadoras da lactose nos meios de isolamento, hidrolizou o ONPG. Se analisarmos o total de amostras estudadas, o percentual de cepas ONPG positivas corresponde a 76,25%. Na tabela 2 vemos que 80% das cepas de origem humana hidrolizou este substrato.

A análise comparativa das tabelas 1 e 2 com a tabela 3 e figura (estas duas últimas reproduzidas de trabalho anterior de PESSOA *et alii*⁵), permite concluir que as cepas denominadas lactose negativas devem ser constituídas por amostras ONPG positivas e negativas.

As cepas de *Salmonella typhimurium* com a constituição antigênica 4,12:i:1,2, que não hidrolizaram o ONPG e foram lactose negativa, apresentaram multirresistência às drogas antimicrobianas. As cepas de mesma constituição antigênica, mas ONPG positivas e fermentadoras tardias da lactose, também apresentaram multirresistência aos antimicrobianos.

É digno de nota que todas as cepas de *Salmonella typhimurium* caracterizadas como 4,5,12:i:1,2, se comportaram sempre como não-fermentadoras da lactose, não hidrolizaram o ONPG e foram sensíveis à grande maioria dos agentes antimicrobianos. Aproximadamente 50% dessas cepas é de origem não-humana.

Se compararmos as cepas rápido-fermentadoras da lactose, predominantes durante o período de 1971 a 1974, com as cepas ONPG positivas, fermentadoras tardias da lactose (fermentação entre 3.º e 5.º dias de incubação), vemos que a única diferença fenotípica está na diminuição da velocidade da fermentação da lactose.

Considerando que uma modificação fenotípica é um reflexo de alteração genotípica, estudos genéticos são necessários para concluirmos que se trata ou não da mesma variante de *S. typhimurium*⁸, que se instalou no nosso meio a partir de 1971.

TABELA 1

Distribuição anual e percentual de cepas de Salmonella typhimurium, ONPG positiva e negativa, isoladas de material humano e não humano, no decênio 1973-1982

Distribuição anual Cepas ONPG *	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	Total
Positivas	101 (50,50%)	128 (40,89%)	289 (61,97%)	445 (83,18%)	804 (83,84%)	725 (77,54%)	688 (80,56%)	751 (75,10%)	833 (79,87%)	841 (76,94%)	5605 (76,25%)
Negativas	99 (49,50%)	185 (59,11%)	130 (31,03%)	90 (16,82%)	155 (16,16%)	210 (22,46%)	166 (19,44%)	249 (24,90%)	210 (20,13%)	252 (23,06%)	1746 (23,75%)
Total de amostras	200	313	419	535	959	935	854	1000	1043	1093	7351

* ONPG — orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo.

TABELA 2

Percentual de cepas de *Salmonella typhimurium*, ONPG positiva e negativa, isoladas de material humano e não humano, no decênio 1973-1982

Origem das amostras / Percentual ONPG	Fezes	Sangue	LCR	Urina	Secreções	Diversa	Desconhecida
Positivo	79,25	83,62	80,31	81,82	82,54	50,00	66,94
Negativo	20,75	16,38	19,69	18,18	17,46	50,00	33,06

PESSOA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; KANO, E.; DIAS, A.M.G. & BRAN-
 DHEONE, M.C.C. — *Salmonella typhimurium*, fermentadora tardia da lactose. *Rev. Ins. Adolfo*
Lutz, 43 (1/2): 89-95, 1983.

TABELA 3

Distribuição anual de Salmonella typhimurium lactose positiva e lactose negativa isolada de coprocultura, no septênio 1970-76, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo

<i>Salmonella typhimurium</i>	Distribuição anual													
	1970		1971		1972		1973		1974		1975		1976	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Lactose negativa	261	100	148	46,25	191	47,28	216	33,33	174	39,82	768	87,97	974	94,02
Biotipo lactose positiva	—	0	172	53,75	213	52,72	432	66,67	263	60,18	105	12,03	62	5,98
Total	261	100	320	100	404	100	648	100	437	100	873	100	1036	100

Fonte: PESSÔA *et al*5.

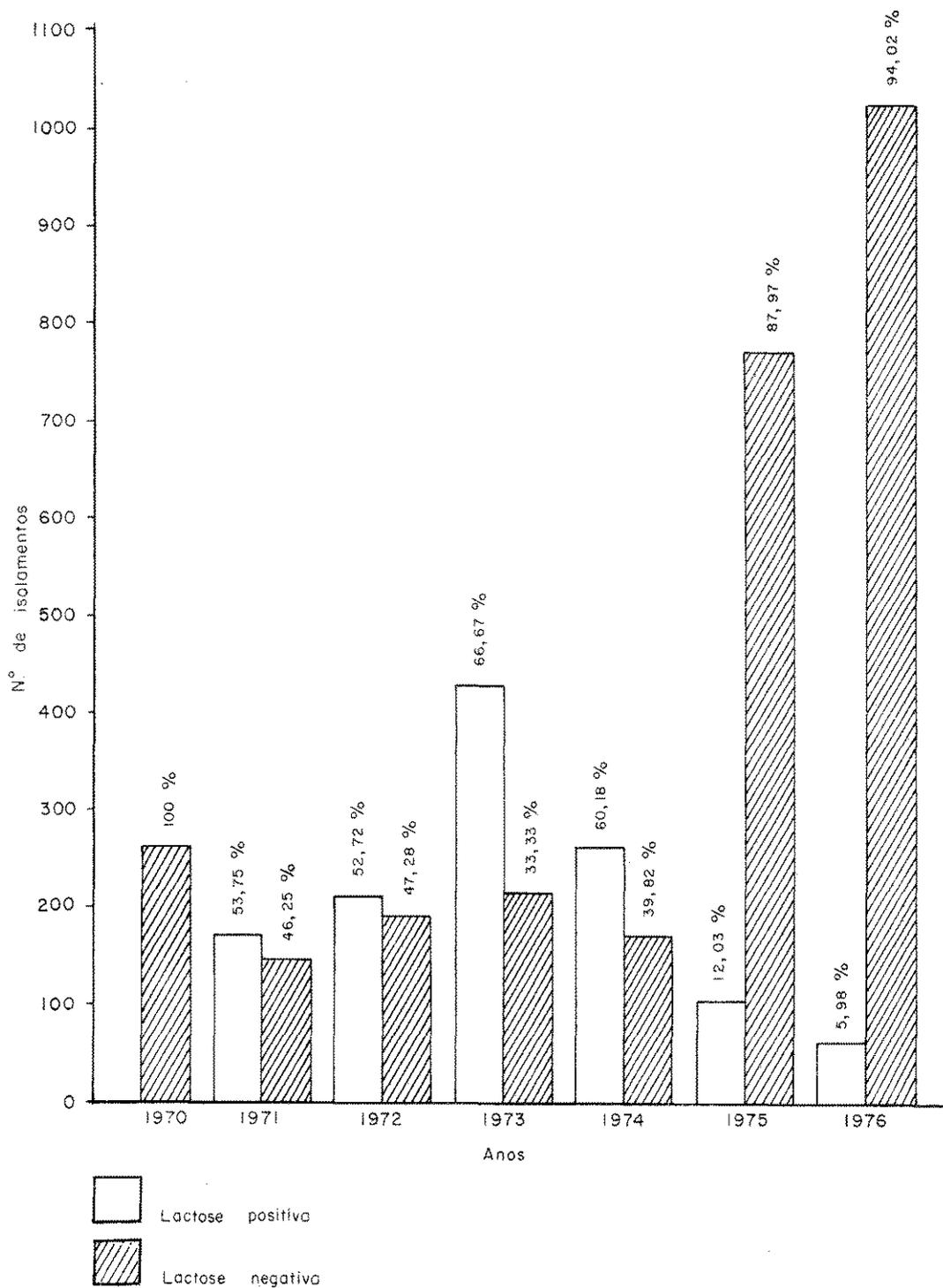


FIGURA — Relação entre o número de amostras de *Salmonella typhimurium* lactose positiva e lactose negativa isolada de coprocultura.
Fonte: PESSÓA *et alii* 6.

RIALAG/563

PESSÓA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; IRINO, K.; NEME, S.N.; KANO, E.; DIAS, A.M.G. & BRANDILEONE, M.C.C. — Study of late fermentation of lactose by strains of *Salmonella typhimurium*. *Rev. Ins. Adolfo Lutz*, 43(1/2):83-95, 1983.

ABSTRACT: The behavior regarding fermentation of lactose and hydrolysis of ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPG) was studied in 7,351 strains of *Salmonella typhimurium*. These strains were isolated from various biological and environmental materials obtained in the city of São Paulo, Brazil, from 1971 to 1982. During the period 1971-1974, fast (24 hours) fermentation of lactose was observed in a predominant number of strains isolated from human sources, particularly in hospitals. After 1975, there was a decrease in the frequency of strains rapidly fermenting lactose. In spite of this decrease, the behavior regarding hydrolysis of ONPG remained essentially constant. Also after 1975, more than 70% of the strains isolated showed a rapid hydrolysis of ONPG since almost all strains fermented lactose in 3 to 7 days. Strains of *S. typhimurium* 05+ did not ferment lactose (15 days at 37°C) nor hydrolysed ONPG (24 hours at 37°C). All ONPG positive strains showed similar resistance profiles, the majority having 8 marks.

DESCRIPTORS: *Salmonella typhimurium*; lactose, fermentation; ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside, hydrolysis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amer. J. clin. Path.*, 45:493-6, 1966.
2. LE MINOR, L. & BEN HAMIDA, F. — Avantages de la recherche de la β -galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique, en particulier des *Enterobacteriaceae*. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 102:267-77, 1962.
3. LE MINOR, L.; COYNAULT, C. & PESSOA, G. — Déterminisme plasmidique du caractère atypique "lactose positif" de souches de *S. typhimurium* et de *S. oranienburg* isolées au Brésil lors d'épidémies de 1971 a 1973. *Ann. Microbiol.*, Paris, Seccion A. 125:261-85, 1974.
4. PESSÓA, G.V.A. — Sobre a ocorrência de uma variante de *Salmonella typhimurium* fermentadora da lactose. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33:13-28, 1973.
5. PESSÓA, G.V.A.; IRINO, K.; MELLES, C.E.A.; CALZADA, C.T.; RASKIN, M. & KANO, E. — Ocorrência de bactérias enteropatógenicas em São Paulo no septênio 1970-76. II — O surto epidêmico de *Salmonella typhimurium* em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38:107-27, 1978.
6. TAUNAY, A.E. — Diagnóstico bacteriológico das salmonelas de origem animal, sua importância e frequência no município de S. Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28:43-69, 1968.
7. TAUNAY, A.E.; NOVAES, J.R.C. & PESSÓA, G.V.A. — Infecções por enterobactérias no município de São Paulo. Provável disseminação por via aérea. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31:113-6, 1971.
8. TOLEDO, M.R.F.; REIS, M.H.L.; MURAHOVSKI, J.; CURY, R.; RAMOS, S.R.T.S.; FIORE, E.S.; SCHUSSEL, E.Y. & TRABULSI, L.R. — Ocorrência de uma variante de *Salmonella typhimurium* que fermenta a lactose tardiamente. *Rev. Microbiol.*, 10:103-106, 1979.

Recebido para publicação em 17 de junho de 1983.

