

MEIOS DE RUGAI E LISINA—MOTILIDADE COMBINADOS EM UM SÓ TUBO PARA A IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA DE ENTEROBACTÉRIAS (1)

MEDIUM OF RUGAI AND LYSINE-MOTILITY COMBINED IN ONE SINGLE TUBE FOR THE PRESUMPTIVE IDENTIFICATION OF ENTEROBACTERIACEAE

GIL VITAL ALVARES PESSÔA (2)
ENY APARECIDA MATHEUS DA SILVA (2)

SUMMARY

PESSÔA, G.V.A. & SILVA, E.A.M. — Medium of Rugai and lysine-motility combined in one single tube for the presumptive identification of enterobacteriaceae. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 97-100, 1972.

With the purpose of making the presumptive differentiation of enterobacteria a faster and easier process, it was developed a culture medium where one could observe in a single tube the fermentation of saccharose and glucose, urea hydrolysis, gas production, H₂S and indol, deamination of the L-tryptophan, decarboxilization of lysine and motility. Preliminary tests with enterobacteria showed total reproducibility and adequate visualization of the differential reactions.

INTRODUÇÃO

Atualmente, na identificação de membros da família *Enterobacteriaceae* é frequente o uso de testes múltiplos nos quais a pesquisa da motilidade é o denominador comum.

O propósito deste trabalho foi desenvolver um meio que possibilitasse a pesquisa da motilidade e descarboxilação da lisina concomitantemente com as reações obtidas no meio clássico de RUGAI & ARAUJO¹.

Assim, num só tubo poderiam ser verificadas a fermentação ou não da sacarose e glicose, produção de gás, H₂S e indol, hidrólise da uréia, desaminação do L-triptofano, descarboxilação da L-lisina e motilidade, tornando mais rápida e simples a identificação das enterobactérias, com conseqüente economia de tempo, material e trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

O meio é envasado em tubos com 2 fases separadas por uma interfase.

1. Fase inferior

Meio para descarboxidação da lisina-motilidade:

Extrato de levedura (3)	3,0 g
Dextrose	0,5 g
KNO ₃	0,5 g
L-lisina (4)	5,0 g
Ágar	4,0 g
Púrpura de bromocresol	0,02g
H ₂ O destilada	1 000 ml
pH	6,4

Aquecer para completa dissolução do ágar.

(1) Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

(3) Difco.

(4) Aginomoto.

2. *Interfase*

a) Cera de carnaúba, tipo carnaúba flor⁽¹⁾

Ponto de fusão	83—85°C
Umidade máxima	1,0%
Índice de iodo	8—12
Índice de acidez	2,5—9,0
Índice de éster	74—82
Índice de saponificação	77—99

b) Vaselina líquida (óleo mineral branco)

A porcentagem ótima da mistura vaselina-carnaúba⁽²⁾ foi a de 90 ml de vaselina para 10 g de cera de carnaúba.

3. *Fase superior*

Meio de Rugai, preparado de acordo com a indicação dos autores.

Colocar em tubo de 12 x 120 mm, limpo e seco, tamponado com algodão hidrófilo, uma quantidade de Vascar suficiente para formar um anel de aproximadamente 1 mm de espessura. Distribuir no tubo o meio de lisina-motilidade em quantidades de aproximadamente 1,5 ml.

Autoclavar a 121°C por 20 minutos.

Esfriar o tubo em pé para que haja a formação de um perfeito menisco vedatório de Vascar.

A seguir, distribuir o meio de Rugai na quantidade de 3 ml em cada tubo, aproveitando a manobra para impregnar o tampão com reativo para indol, de acordo com a técnica original. Deixar esfriar inclinado, de tal maneira que a base seja aproximadamente 1/3 da altura do ápice.

Fazer prova de esterilidade, em estufa a 37°C por 24 horas.

Para utilização, inocular o material com agulha até o fundo do tubo, retirá-la cuidado-

samente e fazer, em seguida, semeadura no ápice, da maneira habitual.

DISCUSSÃO

O meio modificado vem sendo usado experimentalmente, há mais de 2 meses em mais de 500 coproculturas, pela Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz; além das informações fornecidas pelo meio de Rugai, clássico, este meio possibilita diferenciar o gênero *Citrobacter* do Grupo *Salmonella Arizona*, bem como *E.coli* anaerogênico (Grupo *Alkalecens-Dispar*) do gênero *Shigella*, pela descarboxidação da lisina.

O meio permite:

1. Pela descarboxidação da lisina

a) Diferenciação entre o gênero *Citrobacter* e o grupo *Salmonella-Arizona*.

b) Diferenciação entre *Escherichia coli* anaerogênica (grupo *Alkalecens-Dispar*) e o gênero *Shigella*.

2. Pela verificação da motilidade

a) Distinção de *E. coli* lisina-negativas dos membros do gênero *Shigella*.

b) Seleção rápida de linhagens de *Salmonella* com motilidade adequada para serem submetidas à prova de aglutinação flagelar.

As espécies do gênero *Proteus*, no meio estudado, sempre determinaram alcalinização da base, simulando ter havido descarboxilação da L-lisina, por mecanismo não esclarecido. Entretanto, a desaminação do L-triptofano e a hidrólise da uréia são suficientes para caracterização desse gênero.

(1) Orniex

(2) Denominada "Vascar" pelos autores.

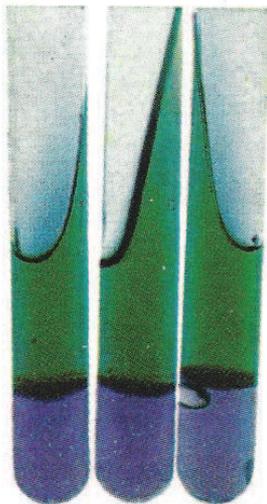


Fig. 1 — Meio não inoculado.

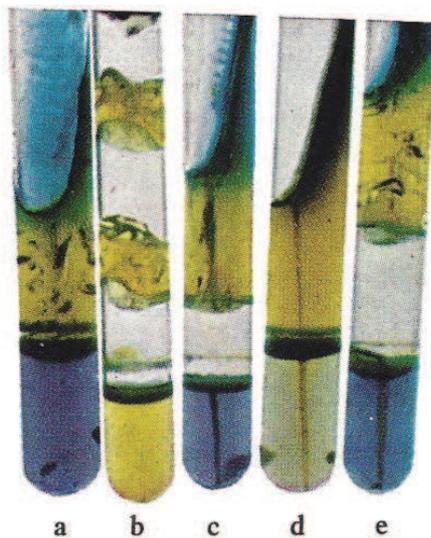


Fig. 2 — Reações em meios inoculados

- a) Lisina descarboxilase positiva, motilidade positiva.
- b) Lisina descarboxilase negativa, motilidade positiva.
- c e e) Lisina descarboxilase positiva, motilidade negativa.
- d) Lisina descarboxilase negativa, motilidade negativa.

Agradecimento

Agradecemos ao Dr. Germínio Nazário, Chefe da Seção de Equipamentos Especializados do Instituto Adolfo Lutz, pela orientação e sugestão de natureza química.

RESUMO

PESSÔA, G.V.A. & SILVA, E.A.M. — Meios de Rugai e lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 97-100, 1972.

Com a finalidade de tornar mais rápida e simples a diferenciação presuntiva de enterobactérias, foi desenvolvido um meio de cultura onde se pode observar num só tubo a fermentação da sacarose e glicose, hidrólise da

uréia, produção de gás, H₂S e indol, desaminação do L-triptofano, descarboxilação da lisina e motilidade. Provas preliminares com enterobactérias demonstraram total reprodutibilidade e adequada visualização das reações diferenciais.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. RUGAI, E. & ARAUJO, A. — Meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais Gram-negativos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28: 79-83, 1968.

Recebido para publicação em 3 de agosto de 1972.