



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

ISOLAMENTO BACTERIANO DE AMOSTRAS ORIUNDAS DE POTRO NEONATO

BACTERIAL ISOLATION OF SAMPLES FROM NEONATE FOALS

Tauana Fernanda Voigt ¹

Eduarda Raquel Ludwig Hahn²

Milena Tomasi Bassani ³

Resumo

Amostras de um potro necropsiado foram enviadas ao LABAC/UFSM para análise bacteriológica e identificação da causa *mortis*. As amostras de tecidos e suabes foram inoculadas em meios de cultura específicos e em condições de anaerobiose e aerobiose para posterior análise. A identificação inicial incluiu coloração de Gram e testes de triagem como catalase, coagulase e oxidase. A caracterização dos isolados bacterianos *Staphylococcus* coagulase negativa e *Salmonella* sp. por meio de métodos bioquímicos, que tem como finalidade ajudar na identificação das bactérias de acordo com suas características específicas. Sendo assim junto com as demais análises microbiológicas e histórico clínico foi-se isolado as bactérias *Staphylococcus* MRS de origem nosocomial e *Salmonella* spp. em potros neonatos com distúrbios gastrointestinais, sendo este de grande importância, por se tratar de um patógeno zoonótico.

Palavras-chaves: *Salmonella* sp. *Staphylococcus* Resistente à Metilina (MDR). Antimicrobianos.

Introdução

Estabelecer um diagnóstico etiológico pode ser muito trabalhoso, devido às sobreposições de manifestações clínicas iniciais dos agentes nos animais, além do processo infeccioso se desenvolver em diversos órgãos, aumentando assim a complexidade da determinação da enfermidade e a escolha correta da terapia antimicrobiana (PROCOP et al., 2018).

Saber identificar assertivamente o agente causal, requer testes microbiológicos a partir do isolamento, testes bioquímicos, e moleculares como a reação em cadeia de polimerase (PCR). Além disso, a correta escolha do

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, endereço para contato: tauanavoigt@gmail.com;

²Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária da UCEFF Itapiranga, Itapiranga-SC;

³Docente do Curso de Medicina Veterinária da UCEFF Itapiranga, Itapiranga-SC.



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

antimicrobiano passa pelo acompanhamento do desenvolvimento de novos mecanismos de resistência, analisada através do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA) (MORAES; FERREIRA, 2013; PROCOP et al., 2018).

As infecções de origem bacteriana podem afetar várias espécies animais, como *Salmonella* spp., que em potros neonatos é o gênero que mais ocasiona mortes. A provável via de infecção, nesta espécie, é a oral, adentrando o organismo através do consumo de alimentos ou água contaminada por fezes de outros animais portadores, outra forma de infecção, é o contato com animais, ambientes e humanos infectados, além de mãos e fômites (LUCAS, 2012; OLIVO, 2013).

Staphylococcus Resistente à Meticilina (MRS), bactéria importante em ambiente hospitalar, também vem se destacando em surtos causadores de infecção em potros. Por ser um patógeno de relevância na saúde pública, e uma bactéria multirresistente, a incidência de surtos de doenças causadas por MRS é agravada pelo estado clínico avançado dos pacientes (OLIVO, 2016).

O presente trabalho tem como objetivo descrever o isolamento bacteriano de órgãos de um potro neonato necropsiado para determinação da causa *mortis*.

Materiais e Métodos

Encaminhado para o LABAC/UFSC, fragmentos de intestino, pulmão, fígado, acondicionados em tubos de Falcon estéreis, também, dois suabes retal em meio de transporte Stuart, de um potro neonato necropsiado, sem histórico clínico, oriundo de um haras da Região Sudoeste do Rio Grande do Sul, para isolamento e identificação bacteriana, e assim determinar a causa *mortis*.

Para o processamento do pulmão, fígado e intestino retirou-se as amostras das embalagens com auxílio da pinça estéril e acondicionadas em placas de Petri estéreis, e com uma lâmina de bisturi incandescente flambou-se o tecido superficialmente em diversos lugares. Após a esterilização do tecido, com uma nova lâmina de bisturi, realizava-se a incisão no local, em seguida, introduziu-se a



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

alça de platina descartável estéril no interior do tecido e realizava-se movimentos rotatórios, a fim de coletar uma amostra representativa.

Tanto as amostras de tecido, como o suabe retal foram inoculados, com a técnica de esgotamento, em duas placas de ágar base sangue (Kasvi®) suplementado com 5% de sangue de carneiro desfibrinado (Newprov®) e em ágar MacConkey (Kasvi®). Uma das placas de ágar sangue era armazenada em jarra de anaerobiose, e as demais em aerobiose. Após, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24h, 48h e 72h, sendo avaliadas a cada 24h.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. um dos suabes, foi semeado por difusão em caldo Tetrionato (TT) (Merck®) e outro suabe em Caldo Rappaport Vassiliadis (RV) (Merck®), ambos incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24h. Após o período de incubação, transferiu-se uma alíquota de cada caldo com alça de platina descartável estéril para os meios de cultura ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) (Himedia®) e ágar Hektoen Enteric (HE) (Himedia®), ambos incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24h a 48h.

Todas as amostras obtiveram crescimento bacteriano em 24h em ágar base sangue (Kasvi®) suplementado com 5% de Sangue de Carneiro Desfibrinado (Newprov®). A partir disso, iniciou a identificação e caracterização morfológica das colônias bacterianas, como descrita na tabela 01, através da avaliação da coloração (branca, amarela, translúcida), do aspecto (mucóide ou opaca), do tamanho (em milímetro), das bordas (irregular ou regular), da forma (circular, irregular, swarming, rizóide), da elevação (chata, convexa, umbilicada), e da superfície (lisa ou rugosa). As amostras de suabe retal e intestino obtiveram crescimento, além do ágar sangue, em ágar MacConkey (Kasvi®), indicando fermentação de lactose (LAC), os resultados são apresentados na tabela 03.

Logo após, sucedeu-se a técnica de Coloração de Gram a partir do ágar sangue, para identificação da morfologia bacteriana e da coloração, através do protocolo estabelecido pelo LABAC. Os resultados estão presentes na Tabela 01. Com base nos achados da coloração de Gram executou-se os testes de triagem.



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

Para as amostras Gram-positivas, realizou-se o teste de catalase, que consiste em depositar uma alíquota de peróxido de hidrogênio sobre a lâmina e emulsionar uma porção da cultura bacteriana, onde o resultado positivo evidenciava-se através do desprendimento de bolhas gasosas. E o teste da coagulase livre, adicionando em uma lâmina plasma de coelho (Coagu-Plasma-Interlab®) e emulsionava-se uma porção da cultura bacteriana, sendo que no resultado positivo observava-se a formação de grumos. A presença de grumos indicava cepa coagulase positiva e a ausência de grumos na lâmina indicava cepa coagulase negativa. Os resultados de tais testes constam na Tabela 01.

Já para as amostras Gram-negativas, um dos testes de triagem era o teste de oxidase, que correspondia em adicionar solução aquosa a 1% de 4-Dimetilaminobenzaldeído em pedaço de papel filtro e espalhar uma quantidade reduzida de inóculo, o surgimento de coloração rosa/arroxeadada indicava a oxidação da substância e a cepa era denominada de oxidase positiva, quando não constatou-se alteração de cor, a bactéria era considerada oxidase negativa. Resultados presentes na Tabela 01.

Em seguida, realizou-se provas bioquímicas a fim de confirmar os agentes causais isolados. Para as bactérias Gram-positivas utilizava-se os caldos Manitol (Synth®), Sacarose (Synth®), Urease (URE) (Himedia®), Esculina (ESC) (Inlab®), onde semeava-se por difusão uma alíquota da colônias bacterianas com auxílio da alça de platina descartável estéril; ágar Sulfeto Indol Motilidade (SIM) (Himedia®) e ágar OF Basal Medium (GOF) (Himedia®) onde semeava-se em estria reta com o auxílio de uma agulha de platina. Os meios de culturas foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24h, os resultados podem ser observados na Tabela 02.

Para as bactérias Gram-negativas utilizava-se o ágar Triple Sugar Iron (TSI) (Kasvi®) onde inoculava-se com o auxílio de uma agulha de platina através de picada central e estria sinuosa; já o ágar Citrato de Simmons (CIT) (Merck®) era semeado somente em estria sinuosa; o ágar OF Basal Medium (GOF)



(Himedia®) e o ágar Sulfeto Indol Motilidade (SIM) (Himedia®) eram semeados como descrito acima. Os caldos Urease (URE) (Himedia®), Maltose (MAL) (Dinâmica®), Lisina (LIS) (Vetec®), Ornitina (ORN) (Dinâmica®), Arabinose (ARA) (Vetec®), Glicose (GLI) (Synth®), Xilose (XIL) (Vetec®), Vermelho de metila (VM) (Synth®), Voges Proskauer (VP) (Kasvi®) e Nitrato de Potássio (KNO₃) (Belga®), semeava-se com auxílio da alça de platina descartável estéril através da técnica de difusão. Todos os meios de cultura foram incubados a 37°C por 18 a 24 horas, os resultados estão descritos nas tabelas 03 e 04.

Resultados e Discussões

TABELA 01 - Testes de triagem para identificação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

| Testes de triagem | Característica morfológica | Coloração de Gram | Morfologia celular | Teste de catalase | Teste de coagula-se | Teste de oxidase |
|-------------------|---------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------------------|------------------|
| Pulmão | Cinza, mucóide e não hemolítica | Gram-positiva | Coco | + | - | *NR |
| Pulmão | Translúcida, mucóide e não hemolítica | Gram-positiva | Cocobacilo | - | *NR | - |
| Intestino | Cinza, mucóide e não hemolítica | Gram-negativa | Bacilo | *NR | *NR | - |
| Intestino | Cinza, mucóide e não hemolítica | Gram-positiva | Coco | + | - | *NR |

| | | | | | | |
|----------------|--|-------------------|----------------------------|-----|-----|-----|
| Intestino | Translúcida, mucóide e não hemolítica | Gram- positiva | Cocobacilo | - | *NR | - |
| Intestino | Cinza, mucóide e não hemolítica | Gram- positiva | Bacilo | - | *NR | + |
| Fígado | Branca, mucóide, não hemolítica | Gram- positiva | Coco | + | - | *NR |
| Fígado | Amarela, rugosa e hemolítica | Gram- negativa | Cocobacilo | + | *NR | - |
| Fígado | Cinza, mucóide, irregular e hemolítica | Gram- positiva | Células corineform e | + | *NR | - |
| Suabe retal | Cinza, mucóide, swarming e não hemolítica | Gram- negativa | Bacilo | *NR | *NR | - |
| Suabe retal | Cinza, mucóide, rizóide e não hemolítica | Gram- negativa | Bacilo | *NR | *NR | - |
| Suabe retal | Cinza, mucóide e não hemolítica | Gram- negativa | Bacilo | + | *NR | - |

*Não realizado.

TABELA 02 - Testes bioquímicos para bactérias Gram-positivas.

| Amostra | Manito I | Sacaro se | SIM | GOF | UR E | ESC | Agente |
|-----------|-------------|--------------|-----|--------|---------|-----|--|
| Pulmão | + | + | *NR | *NR | *NR | *NR | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa MRS** |
| Pulmão | *NR | *NR | - | Inerte | - | - | <i>Lactobacillus</i> sp. |
| Intestino | + | + | *NR | *NR | *NR | *NR | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa MRS** |
| Intestino | *NR | *NR | - | Inerte | - | - | <i>Lactobacillus</i> sp. |
| Intestino | *NR | *NR | - | F | - | - | Sugestivo de <i>Actinomicetos</i> *** |
| Fígado | + | + | *NR | *NR | *NR | *NR | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa MRS** |
| Fígado | *NR | *NR | - | - | - | - | <i>Corynebacterium</i> sp. |

*Não realizado. ***Staphylococcus* Resistente à Meticilina. ***Não foi possível determinar o gênero com base fenotípica.

TABELA 03 - Testes de bioquímicos para bactérias Gram-negativas.

| Amostra | TSI | GOF | SIM | CIT | URE | LAC | ESC | Agente |
|-----------|------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------------------------|
| Intestino | **Ác.Ác +H ₂ S | ***F | -++ | - | - | + | *NR | <i>Escherichia</i> <i>coli</i> |



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

| | | | | | | | | |
|----------------|------------------------------|---------------------------|-----|---|---|-----|-----|---------------------------------------|
| Fígado | **Ác.Ác | Inerte | - | + | - | #SC | - | <i>Acinetobacter</i> sp. |
| Suabe retal | **Ác.Ác | ***F | +++ | + | - | + | *NR | <i>Stenotrophom</i> <i>ona</i> sp. |
| Suabe retal | **Ác.Ác +H ₂ S | ***F | +++ | - | + | - | *NR | <i>Proteus</i> sp. |
| Suabe retal | **Ác.Ác +H ₂ S | ***F+ H ₂ S | +++ | + | - | - | *NR | Sugestivo de <i>Salmonella</i> sp. |

* Não realizado. **Ácido. ***Fermentativa. #Sem crescimento no MacConkey (Kasvi®).

A leitura das placas de XLD e HE seguiam o descrito por Silva et al. (2017) no ágar XLD, as colônias de *Salmonella* sp. se apresentavam cor de rosa escuro, com centro preto e uma zona avermelhada, algumas cepas produtoras de H₂S (Sulfeto de hidrogênio) podem produzir colônias com centro preto grande e brilhante (Figura 03). Já ágar HE apresentavam colônias transparentes, verde-azuladas, podendo ou não ter o centro preto, cepas com produção acentuada de H₂S são capazes de produzir colônias com centro preto grande e brilhante, ou mesmo completamente pretas (Figura 04). Tais características corroboram o crescimento da amostra analisada no LABAC.



Figura 03: Ágar XLD com presença de colônias pretas e brilhantes, típicas de *Salmonella* sp. Fonte: Do autor, 2023.

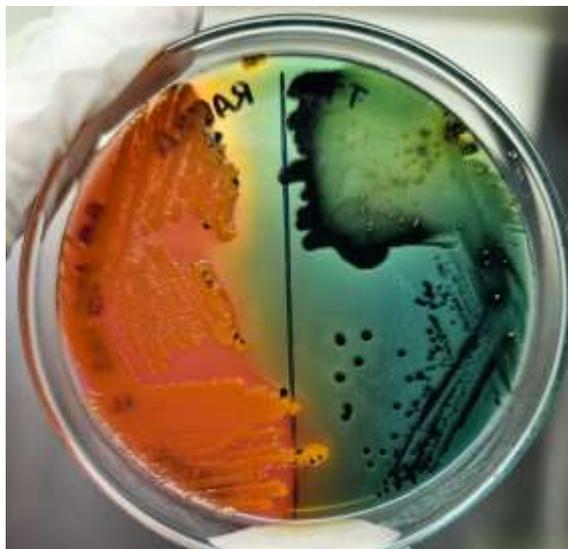


Figura 04: Ágar HE com presença de colônias verde-azuladas, indicativo de *Salmonella* sp. Fonte: Do autor, 2023.

Após a leitura do meio seletivo diferencial para *Salmonella* sp., realizava os testes bioquímicos para a confirmação do gênero, utilizando-se a técnica de difusão através da inoculação em caldos Maltose (MAL) (Dinâmica®), Lisina (LIS)



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
 Vol 3, 2024
 ISSN 2764-9199

(Vetec®), Ornitina (ORN) (Dinâmica®), Arabinose (ARA) (Vetec®), Glicose (GLI) (Synth®), Xilose (XIL) (Vetec®), Vermelho de metila (VM) (Synth®), Voges proskauer (VP) (Kasvi®) e Nitrato de Potássio (KNO₃) (Belga®), sendo incubados a 37°C por 18 a 24 horas, os resultados estão descritos na tabela 04.

TABELA 04 - Identificação para *Salmonella* sp.

| Testes diferenciais | MAL | LIS | XIL | ORN | ARA | GLI | VM | VP | KNO ₃ |
|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|------------------|
| <i>Salmonella</i> sp. | + | + | + | + | + | + | + | - | + |

Após a confirmação do gênero bacteriano procedia-se o Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (TSA), pelo método de disco-difusão de Kirky-Bauer, que consistia em adicionar uma porção de bactéria em Müller Hinton Caldo (Kasvi®) a fim de se obter uma turvação correspondente a escala de Mcfarland a 0,5 e com auxílio de suabe estéril, inoculado em placa contendo ágar Müller Hinton (Newprov®), a seguir, com uma pinça estéril os discos foram pressionados suavemente contra o ágar a fim de adquirir maior contato com a superfície.

A escolha dos discos de antibióticos para testar em cada bactéria foi de acordo as tabelas de ponto de corte (M2-A8 e M7) do *Veterinary Microbiology Laboratory Standards* (CLSI) e/ou Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST), sendo eles, gentamicina (GEN), cefovecin (CVN), ceftiofur (CTF), amicacina (AMI), norfloxacin (NOR), tobramicina (TOB), marbofloxacin (MRB), enrofloxacin (ENO), doxiciclina (DOX), sulfazotrim (SUT), ciprofloxacina (CIP), azitromicina (AZI), penicilina (PEN), cefoxitina (CFO), oxacilina (OXA), polimixina B (POL), tetraciclina (TET) e eritromicina (ERI). Em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 18 a 24h. Posteriormente, media-se o diâmetro do halo de inibição em milímetro, e assim,



classificados em resistentes, intermediários ou sensíveis, conforme consta na tabela 05.

TABELA 05 - Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA).

| Amostra | Sensível | Resistente | Intermediário | Agente |
|----------------|---|--|----------------------|--|
| Intestino | CIP; MRB; ENO; NOR. | CTF; AMI; TOB; GEN; DOX; SUT. | *NO | <i>Escherichia coli</i> |
| Intestino | TOB; GEN; ENO; SUT; CIP; MRB; AZI. | DOX; PEN; CFO; OXA; TET; POL. | ERI | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa MRS** |
| Fígado | MRB; TOB; GEN; POL. | OXA; AZI; SUT; PEN; ERI; TET; CFO; DOX. | ENO; CIP. | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa MRS** |
| Fígado | AZI; GEN; MRB; ENO; SUT; CIP; POL. | OXA; CFO; TET; TOB; DOX; PEN. | ERI | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa MRS** |
| Pulmão | MRB; POL. | AZI; DOX; ERI; GEN; SUT; TET; TOB; CFO; PEN. | ENO; CIP. | <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa MRS** |
| Suabe retal | CIP; MRB; AMI; NOR; ENO. | CTF; SUT; DOX; GEN. | TOB | <i>Salmonella</i> sp. |
| Suabe retal | *NO | SUT | *NO | <i>Stenotrophomonas</i> sp. |
| Suabe retal | GEN; CVN; CTF; AMI; | DOX; SUT. | *NO | <i>Proteus</i> sp. |



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

NOR; TOB;

MRB; ENO;

CIP.

*Não obteve. ***Staphylococcus* Resistente à Meticilina.

As principais bactérias isoladas nas amostras foram *Staphylococcus* coagulase negativa MRS e *Salmonella* sp., mas sabe-se que a determinação da causa da morte será dada pelo veterinário clínico, que além dos exames microbiológicos apresenta histórico do animal e dados epidemiológicos. Em decorrência da importância desses dois agentes serão descritos os testes bioquímicos.

As espécies bacterianas possuem propriedades metabólicas para obtenção de energia distintas umas das outras (VERMELHO et al., 2019). Tal diferenciação é estabelecida pela combinação da análise morfológica das células e das colônias, juntamente com os testes bioquímicos (PROCOP 2018), como foi realizado no caso relatado.

Da forma que isolou-se diversas bactérias nas amostras analisadas, necessitou-se da utilização de inúmeros testes bioquímicos. Para as bactérias catalase negativa, foram submetidas ao teste de esculina, a ponto de diferenciar as bactérias que possuem a capacidade de hidrolisar a esculina para esculetina e glicose (Figura 05) (TELLES, 2023).



Figura 05: No tubo da esquerda, com inoculação de *Enterococcus* sp., indicando reação positiva. Tubo da direita, reação negativa, característica de *Corynebacterium* sp. Fonte: Do autor, 2023.

Para a caracterização de *Staphylococcus* coagulase negativa usou-se manitol e sacarose, resultados apresentados na tabela 02. E para *Salmonella* sp., caldos maltose, xilose, arabinose e glicose resultados na tabela 04. Quando a bactéria altera a coloração do meio, indica o desdobramento de carboidratos com produção de substâncias ácidas, através do indicador de pH vermelho de fenol que está presente no meio de cultura, alterando a coloração do caldo, tornando uma reação positiva quando o meio se torna amarelado, e negativa quando permanece avermelhado (Figura 06) (MORAES; FERREIRA, 2013).

O Ministério da Saúde (2011) recomenda a utilização dos meios de cultura manitol, manose, ramnose, sorbitol, trealose e dulcitol para melhor caracterização da *Salmonella* sp., porém não foi possível realizar com a cepa isolada no LABAC. Outro método para avaliar o metabolismo da glicose para a produção de energia, é a partir do o Ágar OF Basal Medium (GOF), nele avalia-se o processo oxidativo da utilização de glicose na presença de oxigênio (Figura 07 C) e fermentativo na

ausência de oxigênio (Figura 07 A e B). A bactéria pode ser considerada inerte, quando não utilizava a glicose (Figura 07 D) (SILVA et al., 2017). Resultados demonstrados na tabela 03.



Figura 07: A e B) Bactéria fermentativa de glicose, característica de *Salmonella* sp. C) Bactéria oxidativa, característica de *Pseudomonas* sp. D) Bactérias inerte a utilização de glicose, característica de *Lactobacillus* sp. Fonte: Do autor, 2023.

O Sulfeto Indol Motilidade (SIM) é um teste bioquímico usado para diferenciar os microrganismos que produzem ou não o H_2S . Gary (2018) esclarece que os sais de ferro quando incorporados ao meio de cultura reagem com o H_2S e provoca o escurecimento do ágar (Figura 08 D). Ainda no meio de cultura SIM, pode ser avaliado o Indol, que é a transformação do triptofano, através da triptofanase. O indol é detectado pela adição do Reativo de Kovacs, que quando for positivo forma um anel rosa na superfície do meio (Figura 08 B) (SILVA et al., 2017). A motilidade pode ser avaliada no meio SIM, bactérias que crescem e se espalham pelo meio, além dos limites do inóculo, provocando

turvação do meio, são consideradas motilidade positiva (Figura 08 B, C e D), deste modo, as bactérias imóveis crescem apenas nas delimitações da sementeira (Figura 08 A) (FADER, 2021).

Manieri (2017) aponta que a motilidade em meios líquidos, semi-sólidos e superfícies promove rotação flagelar e ocorre uma diferenciação como o aumento do números de flagelos e comprimento celular.

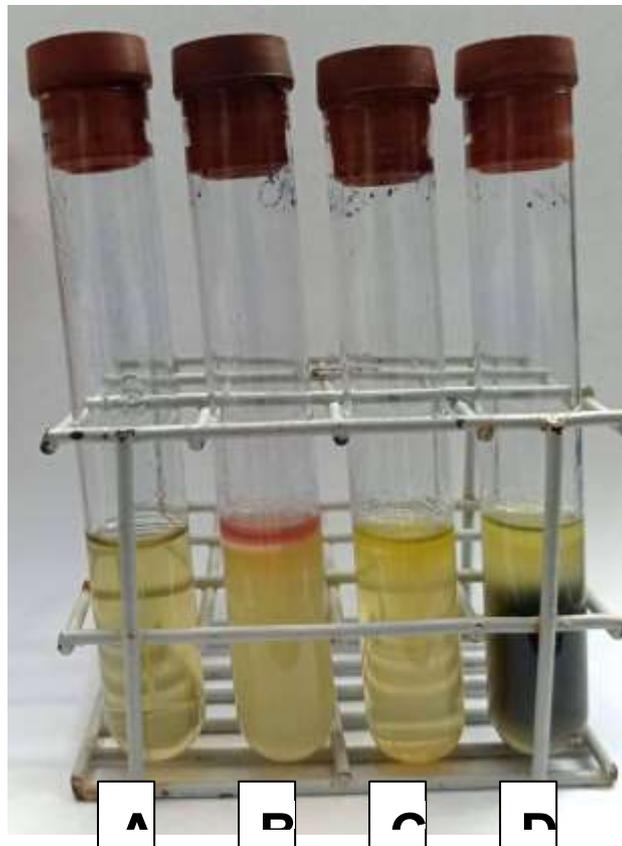


Figura 08: A) Bactéria com motilidade negativa, particularidade de *Corynebacterium* sp. . B) Indol e motilidade positivos, particularidade de *E. coli*. C) Indol negativo e motilidade positiva de *Proteus mirabilis* . D) Produção de H₂S, indol negativo e motilidade positiva característica de *Salmonella* sp. Fonte: Do autor, 2023.

Procop (2018) afirma que a utilização do meio de cultura Ágar Citrato de Simmons, tem como finalidade determinar a capacidade da bactéria em usar

citrato de sódio como única fonte de carbono para metabolismo e crescimento (Figura 09).

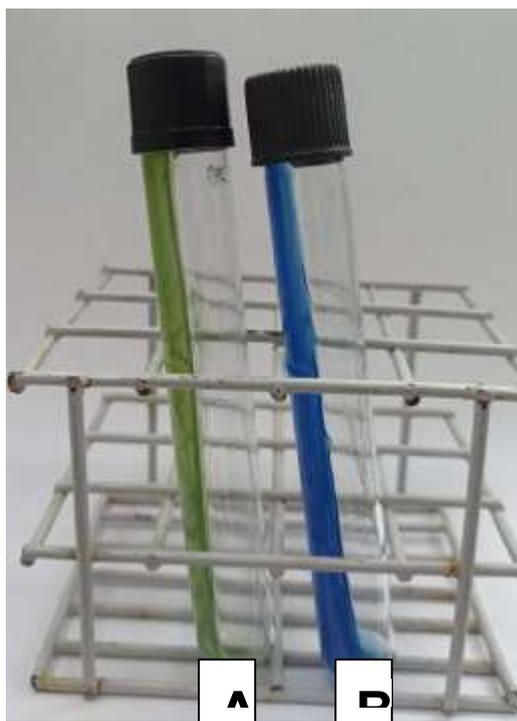


Figura 09: A) Citrato negativo, coloração do meio permanece a mesma, característica de *Escherichia coli*. B) Citrato positivo, mudança da coloração do meio, particularidade de *Stenotrophomonas* sp. Fonte: Do autor, 2023.

O ágar Triple Sugar Iron (TSI) é composto por lactose, glicose e sacarose, com concentrações crescentes, respectivamente. O ápice do meio, está em maior contato com o oxigênio, tornando um ambiente aeróbio, já a base fica protegida do ar e é relativamente anaeróbia (PROCOP, 2018). As reações que acontecem no ápice tornam o meio alcalino, alterando o meio que originalmente é laranja para a cor rosa (Figura 10 D e E), isso devido a não utilização de sacarose e lactose como fonte de carboidratos, porém quando a bactéria utiliza a sacarose e lactose o meio se torna ácido, mudando para a cor amarelo (Figura 10 C). Na base do meio quando a cepa não utiliza glicose, o meio torna-se alcalino, mudando a cor para rosa e o meio torna-se ácido trocando de cor para amarelo,

indicando a utilização de glicose (Figura 10 C, D, E e F). Pode ocorrer produção de H_2S , onde o meio escurece na base (Figura 10 B e F), sendo que algumas cepas produzem gás, onde o meio se eleva ou formam bolhas (Figura 10 C) (SILVA et al., 2017). Resultados apresentados na tabela 03.

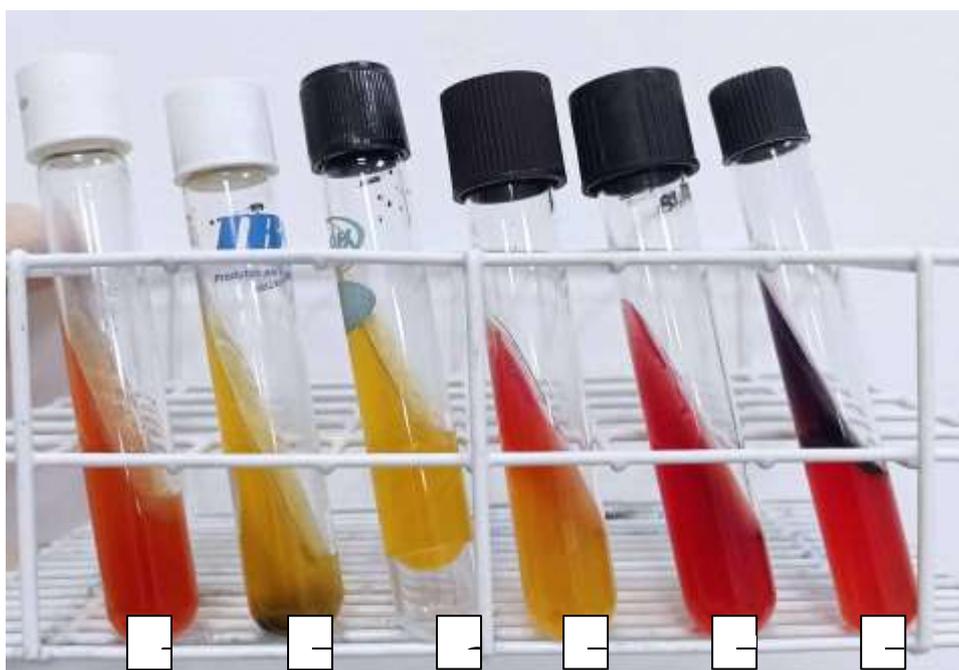


Figura 10: A) Meio sem inoculação. B) Ápice alcalina e base com produção de H_2S . C) Ápice ácida e base ácida com produção de gás característica de *Escherichia coli*. D) Ápice alcalina e base ácida. E) Ápice e base alcalina. F) Ápice com produção de H_2S e base alcalina . Fonte: Do autor, 2023.

Outra prova bioquímica utilizada é a urease, que tem como princípio, analisar se a bactéria produz a enzima urease, responsável por desdobrar a ureia em amônia e CO_2 (Figura 11) (SILVA et al., 2017).

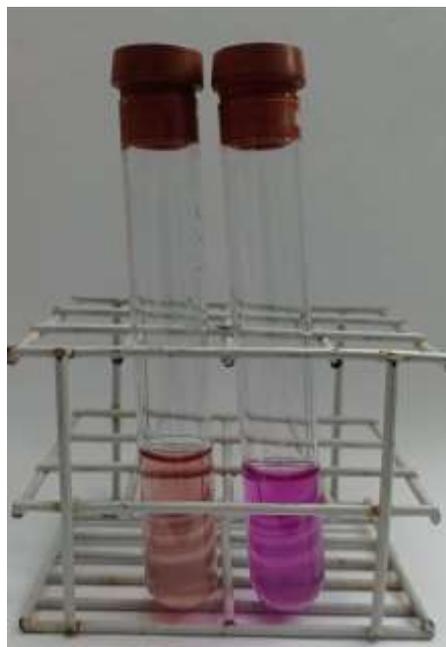


Figura 11: Tubo da esquerda, meio permanece na cor original, característica de *Salmonella* sp. Tubo da direita, mudança da coloração do meio, particularidade de *Proteus mirabilis*. Fonte: Do autor, 2023.

Para a caracterização de *Salmonella* sp., utilizou-se os aminoácidos lisina e ornitina, onde ocorre ação da enzima descarboxilase, onde a descarboxilação da lisina e ornitina, as transforma, respectivamente, em cadaverina e putrescina, quando o meio permanece da cor original (roxo) indica o desdobramento dos aminoácidos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Resultados constam na tabela 04. Outros testes complementares para a identificação de *Salmonella* sp. usados foram o Teste de vermelho de metila (VM) que confirmava a fermentação de glicose e a produção de substâncias ácidas, gerando butilenoglicol (butano-diol) como produto final de fermentação da glicose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Resultados apresentados na tabela 04.

E por fim, o último teste para caracterização de *Salmonella* sp., foi o Nitrato de Potássio (KNO_3), onde verificou-se a capacidade da bactéria de reduzir o nitrato a nitrito ou a gás nitrogênio livre. O nitrito pode ser observado após a



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

adição dos reagentes α -naftilamina e ácido sulfanílico, tornando o meio rosa, que originalmente é amarelo (FADER, 2021). Resultados demonstrados na tabela 04. Dentre os patógenos isolados a partir das amostras recebidas do potro neonato, a que apresenta maior importância clínica e saúde pública é *Salmonella* sp., já que se trata de uma bactéria zoonótica com crescente ocorrência de cepas altamente resistentes aos antibióticos impossibilitando o controle e tratamento (BRAGA et al., 2023).

A transmissão intestinal da bactéria para outros órgãos, depende do estado imunológico do hospedeiro, da carga infectante, virulência e sorotipo de *Salmonella* spp. (LUCAS, 2012).

Como mencionado anteriormente, a cepa de *Salmonella* sp. foi identificada a partir de diversos testes fenotípicos. Procop (2018) ressalta que a sorotipagem de algumas cepas de *Salmonella* sp., pode ser realizado por teste de aglutinação em lâmina com antissoros específicos para cada tipo ou grupo.

A sua extensa distribuição ambiental, resistência às condições adversas e a presença de portadores assintomáticos torna *Salmonella* sp. uma bactéria de fácil disseminação, já os 2.500 sorovares, a viabilidade intracelular, a produção de citotoxinas, a presença de endotoxinas dificultam a sua identificação (FREITAS-NETO et al., 2010; LUCAS, 2012; BRAGA et al., 2023).

O isolamento de *Staphylococcus coagulase negativa* Resistente à Meticilina (MRS) no presente trabalho, se torna importante, visto que a cepa apresenta resistência à maioria dos antibióticos β -lactâmicos, a penicilinas (metilina e/ou oxacilina) e a cefalosporinas. Este mecanismo ocorre devido à expressão do gene *mecA*, responsável por codificar a proteína ligadora de penicilina 2a (PBP2a), tal proteína expõe baixa afinidade pelos antibióticos β -lactâmicos (OLIVO, 2016).

Em decorrência do alto valor monetário de equinos, a presença de uma cepa MRS é preocupante, em virtude da relação direta entre humanos e animais, e o seu isolamento em um potro advindo de um haras, aciona o alerta da



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

possibilidade de contaminação nosocomial (WEESE et al., 2005; OLIVO, 2016; RIEDEL et al., 2023).

Galdino et al. (2023) evidenciaram uma cepa de *Staphylococcus coagulase negativa*, proveniente de hemocultura, apresentando 70% de resistência aos antibióticos, que assim como o estudo realizado gera alerta e preocupação com a disseminação de bactérias multirresistentes.

A atualização frequente dos valores de referência para sensibilidade a antimicrobianos devem seguir critérios de organizações de renome internacional, sendo elas CLSI, *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) ou BrCAST (MORAES; FERREIRA, 2013).

CONCLUSÃO

A relevância do isolamento de uma cepa altamente resistente a antimicrobianos, como *Staphylococcus MRS*, de origem nosocomial, poderá resultar em sérios problemas clínicos e graves consequências na saúde pública, visto que não haverá alternativa terapêutica disponível no tratamento de infecções estafilocócicas.

Destaca-se a importância do diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp. em potros neonatos com distúrbios gastrointestinais, por se tratar de um patógeno zoonótico.

A importância de um bom vínculo entre o médico veterinário clínico com o médico veterinário microbiologista, é necessário pelo fato de que a microbiologia envolve etapas interpretativas para muitos exames, principalmente que envolvem mucosas, ou no caso de agentes específicos em que são indispensáveis à escolha de meios seletivos, uso de meios enriquecedores, ampliação do tempo de cultivo, a variação na temperatura de incubação e etc, no qual essas etapas se não seguidas corretamente, dependendo do agente, podem influenciar no diagnóstico.

Por fim, o diagnóstico clínico em conjunto ao diagnóstico laboratorial das



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

zoonoses vem ganhando espaço na Medicina Veterinária, a fim de estabelecer medidas de biossegurança nos locais onde os animais se encontram, e bem como, cuidados intensivos de pessoas que lidam diretamente com os animais enfermos. O uso racional de antimicrobianos deve ser estabelecido para que se diminuam as mutações das bactérias e os tratamentos sejam efetivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, P; BASSO, R; MARTINS, L; RIBEIRO, M; AMARANTE, A; CASA, M; NASSAR, A; PEREIRA, J; PNTOJA, J; CERRI, F; POSSEHON, F; OLIVEIRA-FILHO, J; BORGES, A. **Ocorrência de Salmonella spp. em amostras fecais de potros com e sem diarreia no estado de São Paulo: diagnóstico microbiológico, perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos e detecção molecular.** Pesquisa Veterinária Brasileira. v. 43, 2023.

FADER, C. Burton - **Microbiologia para as Ciências da Saúde.** 2021. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527737302/>. Acesso em: 30 out. 2023.

FREITAS-NETO O.C.; PENHA FILHO R.A.C.; BARROW P.; BERCHIERI JUNIOR A. **Sources of human non-typhoid salmonellosis: a review.** Braz. J. Poult. Sci. v.12, n.1, p.1-11, 2010.

GALDINO, C; BARBOSA, C; DA SILVA, M; DA SILVA, A; DE MELO, J; CARVALHO, E. **Avaliação da prevalência de infecção hospitalar e o perfil de resistência bacteriana das cepas isoladas na UTI neonatal da maternidade Escola de Valença-RJ.** Revista Saber Digital. v. 16, n. 2. 2023.

LUCAS, T. M. **Ocorrência e investigação de fatores de virulência em enteropatógenos de origem bacteriana em potros até três meses de idade, com e sem diarreia, criados no interior do estado de São Paulo.** Botucatu, 2012. 90p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

MANIERI, Fernanda Zani. **Estudo da motilidade bacteriana e o papel do flagelo na função da proteína VisP durante a sinalização química e patogênese de Salmonella enterica sorovar Typhimurium.** Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. São Paulo. Araraquara. 2017.

Ministério da Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella.** Distrito Federal, Brasília. 2011.

MORAES, L; FERREIRA, W. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Autoimunes**, 3ª edição. Grupo GEN, 2013. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2308-4/>. Acesso em: 30 out. 2023.

OLIVO, G. **Estudo clínico e etiológico da diarreia em potros.** 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. São Paulo. Botucatu. 2013.

OLIVO, G. **Prevalência de Staphylococcus spp. resistente a metilina (mrs) em equinos no ambiente hospitalar e humanos contactantes.** 2016. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. São Paulo. Botucatu. 2016. 27

PROCOP, Gary W. **Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas, 7ª edição**. Grupo GEN, 2018. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527734516/>. Acesso em: 29 out. 2023.

ROSA, J. D. O.; DE MOURA, J; PALOS, M; GIR, E; REIS, C; KIPNIS, A; CANINI, S; BELISSIMO-RODRIGUES, F; PIMENTA, F. **Detecção do gene mecA em estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina isolados da saliva de profissionais da enfermagem.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v. 42, p. 398-403, 2009.



Revista Inovação – Centro Universitário Fai
Vol 3, 2024
ISSN 2764-9199

RIEDEL, S; MORSE, A; MIETZNER, A. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg**. Grupo A, 2022. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786558040170/>. Acesso em: 01 nov. 2023.

DA SILVA, N; JUNQUEIRA, A; SILVEIRA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher, 2017. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521212263/>. Acesso em: 29 out. 2023.

TELLES, Ester Roepcke. **Caracterização de mastite clínica em vacas leiteiras de descarte abatidas em frigorífico**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC. 2023.

VERMELHO, A; PEREIRA, A; COELHO, R; SOUTO-PADRÓN, T. **Práticas de Microbiologia**. Grupo GEN, 2019. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527735575/>. Acesso em: 30 out. 2023.

WEESE, J.S.; ARCHAMBAULT, M; WILLEY, B; DICK, H; HEARN,P; KREISWIRTH, B; SAID-SALIM, B; MCGEER, A; LIKHOSHVAY, Y; PRESCOTT, J; LOWT, D. **Methicillin resistant Staphylococcus aureus in horses and horse personnel, 2000–2002**. Emerging Infectious Diseases. 11:430-435, 2005.