

MEIO MODIFICADO DE CULTURA PARA CARACTERIZAÇÃO DE *SALMONELLA* LACTOSE POSITIVA

Deise Pasetto Falcão*

RSPU-B/300

FALCÃO, D. P. — Meio modificado de cultura para caracterização de *Salmonella* lactose-positiva. **Rev. Saúde públ., S. Paulo, 10:65-73, 1976.**

RESUMO: Foi desenvolvido um meio modificado de cultura para isolamento e caracterização de enterobactérias, visando especialmente salmonelas fermentadoras da lactose. No chamado "Meio modificado" as colônias das duas estirpes de *Salmonella* (lactose positivas e lactose negativas) apresentam a morfologia idêntica, o que não ocorre quando são empregados os meios rotineiros à base de lactose, para isolamento de enterobactérias. Esse meio é uma modificação do meio de Hektoen Enteric Agar, do qual retirou-se lactose e adicionou-se xilose e L-lisina. Foi verificado que há possibilidade de diferenciar-se os diversos grupos de enterobactérias, empregando um meio de cultura sem lactose e usando como sistema diferenciador xilose e L-lisina. O meio modificado foi também avaliado quantitativamente comparando o seu poder enriquecedor ou inibitório, ao dos meios de Hektoen Enteric Agar, Brilliant Green Agar e SS Agar para diferentes grupos de enterobactérias.

UNITERMOS: Enterobactérias. *Salmonella* lactose-positiva. Meio de cultura.

INTRODUÇÃO

No trabalho de rotina de caracterização de enterobactérias, o critério inicial para isolamento de *Salmonella* é a separação de colônias fermentadoras e não fermentadoras de lactose. Somente a partir de colônias lactose negativas realizam-se provas para identificação e caracterização de *Salmonella*.

Edwards e Ewing⁴ e Kauffmann⁹, ao definirem o gênero *Salmonella* afirmam que o mesmo é constituído por bactérias não fermentadoras da lactose.

Estirpes lactose positivas de *Salmonella* são consideradas raras. Em 1966, Ewing e Ball⁶ observaram que apenas 0,8% de

amostras de *Salmonella* estudadas no Center for Disease Control (USA) eram lactose positivas, sendo que duas dessas amostras eram de sorotipo *tennessee* e a outra era *typhimurium*. Em trabalho posterior, Ewing⁵ (1968) relata que apenas 0,3% das amostras de *Salmonella* estudadas no mesmo Centro eram lactose positivas. Outros autores têm descrito o isolamento de estirpes lactose positivas de *Salmonella*. Assim Saphra e col.¹⁴ isolaram o sorotipo *newington* de fezes; Seligmann e Saphra¹⁵ isolaram o mesmo sorotipo de um caso fatal de meningite; Falkow e Baron⁷ relatam o isolamento do

* Da Disciplina de Microbiologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara - Rua Expedicionários do Brasil, 1.621 Araraquara, SP Brasil.

sorotipo *typhi* de fezes; Bulmash e cols.³ referem o isolamento do sorotipo *tennessee* também de fezes; Kunz e Ewing¹² do sorotipo *typhi* de sangue e urina; Gonzales⁸ do sorotipo *tennessee* de um caso de septicemia, todas lactose positivas. Mais recentemente Blackburn e Ellis² (1973), observaram que 15,6% de *Salmonella* isoladas de leite em pó eram lactose positivas e pertenciam aos sorotipos *anatum*, *tennessee* e *newington*.

Na cidade de São Paulo, Brasil, à partir de 1971 essa variedade lactose positiva de *Salmonella* tem sido considerada endêmica. Pessoa¹³, em 1972, descreve o isolamento de 313 amostras de lactose positivas de *Salmonella typhimurium*, var. *Copenhagen*. Também em São Paulo, Almeida e Trabulsi¹, relatam que, durante o ano de 1973, 56% de amostras de *Salmonella* isoladas de materiais clínicos diversos eram do sorotipo *typhimurium*, fermentadoras de lactose.

As colônias de *Salmonella* lactose-positivas são idênticas às colônias de *E. coli* nos meios de cultura à base de lactose, tornando impossível distinguir colônias de *Salmonella* lactose-positivas das colônias de *E. coli* em tais meios de cultura.

O presente trabalho tem por objetivo desenvolver um meio de cultura isento de lactose, empregando outro carboidrato como indicador de fermentação, a fim de que as estirpes lactose positivas e lactose negativas de *Salmonella* apresentem a mesma morfologia colonial, procurando desse modo evitar-se que estirpes lactose positivas de *Salmonella* deixem de ser identificadas por serem confundidas com aquelas de *E. coli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Hektoen Enteric Agar Modificado

Foi desenvolvido um meio à partir de uma modificação do meio de Hektoen Enteric Agar (King e Metzger^{10, 11}), retirando a lactose e introduzindo xilose e

L-lisina, baseando-se na experiência de Taylor¹⁷.

A presente fórmula foi definida depois de estudadas e testadas algumas variações:

L-lisina	5 g
Xilose	5 g
Sacarose	12 g
Salicina	2 g
Bile Salts n.º 3	15 g
Cloreto de sódio	5 g
Proteose peptona	12 g
Extrato de carne	3 g
Ágar-Ágar	15 g
Água	1000 ml

Aquecer até a ebulição. Acertar o pH a 7,5 e adicionar:

Solução de azul de bromo timol a 0,4%	16 ml
Indicador de Andrade	20 ml

Ferver novamente e adicionar asepticamente 20 ml de solução A e 20 ml de solução B.

Solução A:

Desoxicolato de sódio	10 g
Água	100 ml

Solução B:

Tiosulfato de sódio	34 g
Citrato de ferro amoniacal	4 g
Água	100 ml

Esterilizar as soluções A e B a 60°C por uma hora em banho maria.

O mecanismo do Meio Modificado é assim explicado:

Para *Salmonella*: todas as salmonelas com exceção da *S. paratyphi A* e algumas amostras de *S. typhi*, *S. anatum* e *S. newington*, fermentam a xilose; todas descarboxilam a lisina (com exceção da *S. para-*

typhi A). Havendo acidificação da xilose, o pH cai. Entretanto como há descarboxilação da lisina, o pH reverte de ácido para alcalino, e as colônias adquirem a aparência de não fermentadoras. Aparece também cor preta no centro porque todas as salmonelas (com exceção de *S. paratyphi* A, *S. sendai*, *S. berta* e algumas de *S. typhi*), produzem H₂S.

Para *Citrobacter*: esses germes fermentam a xilose, não descarboxilam a lisina e produzem H₂S. Portanto suas colônias são típicas ácidas com centro preto.

Para *Shigella*: esses germes não fermentam a xilose, a salicina e raramente o fazem com sacarose, não descarboxilam lisina e não produzem H₂S. Suas colônias são típicas não fermentadoras.

Para *Coliformes*: a grande maioria de *E. coli* bem como outros coliformes são xilose positivas. Também grande parte dos coliformes fermentam a sacarose e a salicina. Verificamos assim que quase todos os germes desse grupo acidificam um ou todos esses açúcares, produzindo colônias ácidas típicas. Não produzem H₂S. A fim de que não haja reversão de pH devido aos germes lisina-positivos, adicionamos sacarose e salicina em excesso. O ácido em excesso produzido por esses açúcares, impede a reversão do pH daqueles coliformes lisina-positivos.

Para *Proteus*: essas bactérias podem ou não fermentar a xilose, salicina e sacarose, não descarboxilam a lisina, produzindo ou não H₂S. Não apresentam comportamento colonial típico no Meio Modificado, como no caso das outras enterobactérias estudadas.

Outros Meios Avaliados:

Juntamente com o Meio Modificado foram avaliados outros meios usados no isolamento de enterobactérias: SS Agar, Brilliant Green Agar (B.G.A.), Hektoen Enteric Agar, todos da marca Difco e Hektoen Enteric Agar preparado no laboratório.

O trabalho foi desenvolvido em 2 fases:

Numa primeira fase as bactérias foram semeadas no Meio Modificado para verificação do comportamento e caracterização colonial. Nessa fase trabalhou-se com as seguintes bactérias:

17 amostras de *Salmonella typhimurium* lactose positivas.

25 amostras de *Salmonella* lactose negativas, dos diversos grupos sorológicos.

12 amostras de *Shigella* (3 *S. sonnei*, 6 *S. flexneri*, 1 *S. boydi*, 2 *dysenteriae*).

35 amostras de *Proteus* (15 *P. mirabilis*, 8 *P. vulgaris*, 2 *P. rettgeri*, 10 *P.morganii*).

23 amostras de *Citrobacter*.

60 amostras de *Coliformes*.

Numa segunda fase realizamos um estudo quantitativo comparativo entre o Meio Modificado e outros meios empregados para isolamento de enterobactérias. Os germes escolhidos (*Salmonella* lactose positiva e lactose negativa, *Shigella*, *Proteus* e Coliformes, foram diluídos seriamente em salina a 0,85% (10⁻¹ a 10⁻¹⁰). Semeou-se 0,1 ml de cada diluição em SS Agar, Brilliant Green Agar, Hektoen Enteric Agar, (Difco); Hektoen Enteric Agar preparado no laboratório e no Meio Modificado. Após incubação a 37°C durante 24 horas, foi feita a contagem do número de colônias.

RESULTADOS

A descrição da morfologia colonial das diversas enterobactérias estudadas, no Meio Modificado, pode ser observada na Tabela 1.

A contagem comparativa do número de colônias, nos diferentes meios estudados, pode ser observada nas Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6.

TABELA 1

Morfologia colonial de algumas enterobactérias no "Meio Modificado"

Germe	Caracterização
<i>Salmonella</i> lactose positiva	Colônias convexas, circulares, transparentes, de tamanho médio, de cor verde com centro preto.
<i>Salmonella</i> lactose negativa	Colônias convexas, circulares, transparentes, de tamanho médio, de cor verde com ou sem centro preto.
<i>Citrobacter</i>	Colônias altas, opacas, grandes, de cor amarelo-salmão, com centro preto.
<i>Shigella</i>	Colônias convexas, circulares, transparentes, pequenas, de cor verde.
Coliformes	Colônias altas, opacas, grandes, de cor amarelo-salmão.
<i>Proteus</i>	Colônias convexas, circulares, transparentes, de tamanho médio, de cor verde com ou sem centro preto.

Nota: No Meio Modificado as colônias de *Pseudomonas* apresentam-se de cor verde ou marron, com bordos irregulares, são altas e grandes.

TABELA 2

Contagem do número de colônias de estirpes lactose-negativas de *Salmonella* nos meios de cultura estudados

N.º da amostra	Germe	SS Agar	B.G.A.	Meio Modificado	Hektoen Difco	Hektoen Lab.
10	<i>S. typhimurium</i>	34x10 ⁸	40x10 ⁷	52x10 ⁸	66x10 ⁸	43x10 ⁸
48	<i>S. bovis morbificans</i>	35x10 ⁹	30x10 ⁸	34x10 ⁹	37x10 ⁹	34x10 ⁹
53	<i>S. typhi</i>	37x10 ⁹	30x10 ⁸	35x10 ⁹	35x10 ⁹	36x10 ⁹
2	<i>S. paratyphi A</i>	90x10 ⁹	37x10 ⁸	85x10 ⁹	97x10 ⁹	93x10 ⁹
43	<i>S. vejle</i>	82x10 ⁹	90x10 ⁹	78x10 ⁹	80x10 ⁹	77x10 ⁹
81	<i>S. carrau</i>	30x10 ⁸	88x10 ⁷	30x10 ⁸	30x10 ⁸	31x10 ⁸
60	<i>S. berta</i>	98x10 ⁸	103x10 ²	30x10 ⁸	31x10 ⁸	31x10 ⁸
132	<i>S. mississippi</i>	131x10 ⁸	100x10 ⁸	145x10 ⁸	123x10 ⁸	156x10 ⁸
70	<i>S. zanzibar</i>	43x10 ¹⁰	35x10 ¹⁰	42x10 ¹⁰	45x10 ¹⁰	41x10 ¹⁰
96	<i>S. meleagridis</i>	80x10 ⁹	41x10 ⁸	39x10 ⁹	47x10 ⁹	30x10 ⁹
90	<i>S. rubislaw</i>	41x10 ⁹	58x10 ⁷	57x10 ⁹	46x10 ⁹	31x10 ⁹
66	<i>S. give</i>	173x10 ⁸	98x10 ⁸	54x10 ⁷	30x10 ⁷	50x10 ⁷
78	<i>S. aberdeen</i>	57x10 ⁹	0	58x10 ⁹	50x10 ⁹	78x10 ⁹

TABELA 3

Contagem do número de colônias de estirpes positivas de *Salmonella* nos meios de cultura estudados

N.º da amostra	Germe	SS Agar	B.G.A.	Meio Modificado	Hektoen Difco	Hektoen Lab.
H2SM	<i>S. typhimurium</i>	60x10 ⁷	35x10 ⁷	43x10 ⁷	30x10 ⁷	44x10 ⁷
1314	<i>S. typhimurium</i>	30x10 ⁶	30x10 ⁷	132x10 ⁷	101x10 ⁷	132x10 ⁷
1918	<i>S. typhimurium</i>	30x10 ⁸	180x10 ⁸	205x10 ⁸	209x10 ⁸	210x10 ⁸
1917	<i>S. typhimurium</i>	31x10 ⁸	150x10 ⁸	250x10 ⁸	261x10 ⁸	290x10 ⁸
1760	<i>S. typhimurium</i>	50x10 ⁸	182x10 ⁸	198x10 ⁸	201x10 ⁸	193x10 ⁸
1892	<i>S. typhimurium</i>	57x10 ⁸	30x10 ⁸	30x10 ⁹	25x10 ⁹	30x10 ⁹
1882	<i>S. typhimurium</i>	33x10 ⁸	58x10 ⁸	40x10 ⁹	37x10 ⁹	41x10 ⁹

TABELA 4

Contagem do número de colônias de *Shigella* nos meios de cultura estudados

N.º da amostra	Germe	SS Agar	B.G.A.	Meio Modificado	Hektoen Difco	Hektoen Lab.
219	<i>S. sonnei</i>	35x10 ⁵	0	36x10 ⁸	30x10 ⁸	44x10 ⁸
107	<i>S. sonnei</i>	52x10 ⁵	0	35x10 ⁸	44x10 ⁸	106x10 ⁸
266	<i>S. sonnei</i>	30x10 ⁵	0	157x10 ⁸	64x10 ⁸	148x10 ⁸
310	<i>S. flexneri</i>	104x10 ⁸	0	222x10 ⁸	141x10 ⁸	224x10 ⁸
16	<i>S. flexneri</i>	69x10 ⁸	0	50x10 ⁸	65x10 ⁸	59x10 ⁸
663	<i>S. flexneri</i>	70x10 ⁸	0	81x10 ⁸	65x10 ⁸	71x10 ⁸
8	<i>S. flexneri</i>	36x10 ⁹	0	35x10 ⁹	38x10 ⁹	37x10 ⁸
670	<i>S. boydi</i>	106x10 ⁹	0	30x10 ⁹	30x10 ⁹	172x10 ⁸
342	<i>S. dysenteriae</i>	30x10 ⁹	0	36x10 ⁹	35x10 ⁹	34x10 ⁹
3	<i>S. dysenteriae</i>	40x10 ⁹	0	39x10 ⁹	41x10 ⁹	38x10 ⁹

TABELA 5

Contagem do número de colônias de coliformes nos meios de cultura estudados

N.º da amostra	Germe	SS Agar	B.G.A.	Meio Modificado	Hektoen Difco	Hektoen Lab.
667	<i>E. coli</i>	100x10 ⁶	0	30x10 ⁹	30x10 ⁹	30x10 ⁹
554	<i>E. coli</i>	93x10 ⁷	0	34x10 ⁷	53x10 ⁷	52x10 ⁷
459	<i>E. coli</i>	200x10 ⁷	50x10 ⁴	130x10 ⁸	136x10 ⁸	152x10 ⁸
295	<i>E. coli</i>	35x10 ⁷	0	34x10 ⁷	92x10 ⁷	65x10 ⁷
694	<i>E. coli</i>	30x10 ⁸	0	31x10 ⁹	30x10 ⁹	30x10 ⁹
709	<i>E. coli</i>	190x10 ⁸	0	62x10 ⁹	135x10 ⁹	152x10 ⁹
701	<i>E. coli</i>	150x10 ⁴	0	70x10 ⁷	42x10 ⁸	32x10 ⁸
34	<i>E. coli</i>	87x10 ⁸	0	32x10 ⁸	73x10 ⁸	148x10 ⁸
556	<i>E. coli</i>	75x10 ⁴	0	80x10 ⁸	126x10 ⁸	148x10 ⁸
674	<i>Klebsiella</i>	84x10 ⁸	150x10 ⁷	138x10 ⁸	102x10 ⁸	280x10 ⁸

TABELA 6

Contagem do número de colônias de *Proteus* nos meios de cultura estudados

N.º da amostra	Germe	SS Agar	B.G.A.	Meio Modificado	Hektoen Difco	Hektoen Lab.
43	<i>P. mirabilis</i>	36x10 ¹⁰	0	42x10 ¹⁰	30x10 ¹⁰	43x10 ¹⁰
42	<i>P. mirabilis</i>	175x10 ⁹	0	228x10 ⁹	118x10 ⁹	130x10 ⁹
48	<i>P. mirabilis</i>	37x10 ¹⁰	0	40x10 ¹⁰	42x10 ¹⁰	39x10 ¹⁰
50	<i>P. mirabilis</i>	35x10 ¹⁰	0	39x10 ¹⁰	30x10 ¹⁰	30x10 ¹⁰
51	<i>P. mirabilis</i>	286x10 ⁹	0	136x10 ⁹	158x10 ⁹	141x10 ⁹
26	<i>P. vulgaris</i>	290x10 ⁹	0	211x10 ⁹	135x10 ⁹	181x10 ⁹
2	<i>P. vulgaris</i>	54x10 ⁸	0	90x10 ⁸	30x10 ⁸	59x10 ⁸
78	<i>P. vulgaris</i>	32x10 ¹⁰	0	33x10 ¹⁰	35x10 ¹⁰	34x10 ¹⁰
102	<i>P. rettgerii</i>	38x10 ⁹	0	30x10 ⁹	31x10 ⁹	30x10 ⁷
103	<i>P. rettgerii</i>	30x10 ¹⁰	0	31x10 ¹⁰	30x10 ¹⁰	30x10 ¹⁰

DISCUSSÃO

Através dos resultados obtidos observamos que o Meio Modificado mostrou-se muito eficaz para o isolamento de *Salmonella*, atingindo o objetivo desejado, isto é, fazer com que todas as amostras de *Salmonella* apresentem morfologia colonial idêntica, eliminando desse modo a possibilidade de confundir-se as colônias lactose-positivas com colônias de *E. coli*. Todas as estirpes de *Salmonella* (lactose-positivas e lactose-negativas), apresentam colônias típicas não ácidas, com centro preto, exceto é claro, aquelas não produtoras de H₂S. Na maioria das vezes a quantidade de H₂S é tão intensa que as colônias se mostram quase que inteiramente negras, com apenas um halo verde.

O Meio Modificado também é considerado bom para o isolamento de *Citrobacter*, pois suas colônias apresentam-se perfeitamente diferenciadas das de *Salmonella* devido à acidificação da xilose e não se confundem com as coliformes, pois o meio propicia uma perfeita evidenciação de H₂S.

Shigella também apresentam colônias bem características nesse meio, isto é, não fermentadoras.

Os coliformes também apresentam colônias típicas amarelo-salmão, diferenciando-se dos *Citrobacter* pela não produção de H₂S.

No entretanto os germes do grupo *Proteus*, podem ser confundidos quer com *Salmonella*, quer com *Shigella*. Através de dados de um estudo sobre *Proteus*, realizado por Suassuna¹⁶, verificamos que a maioria dessas bactérias fermentam pelo menos um dos carboidratos existentes no Meio Modificado (xilose, sacarose e salicina). Sabemos também que os *Proteus* não descarboxilam a lisina. Teoricamente, pois, esses germes deveriam apresentar no Meio Modificado, quase sempre morfologia colonial típica de bactérias fermentadoras. Acreditamos que esse comportamento colonial diferente do esperado, seja devido a uma alcalinização intensa do

meio por processo outro que o da descarboxilação da lisina, que irá neutralizar os ácidos formados pela fermentação dos carboidratos.

Analisando pois o Meio Modificado em relação a sua capacidade de caracterizar as colônias de enterobactérias, verificamos que os resultados foram bastante satisfatórios, a não ser em relação aos *Proteus*, os quais não apresentaram colônias típicas. No entretanto, todos os outros meios de cultura para isolamento de enterobactérias à base de lactose, como carboidrato diferenciador, também apresentam essa falha, isto é, confundem as colônias de *Proteus* com as de *Salmonella* ou *Shigella*.

Pudemos também observar através da morfologia colonial apresentada pelas enterobactérias no Meio Modificado, que a lactose pode ser perfeitamente substituída pelo sistema indicador xilose L-lisina.

Em relação à contagem comparativa do número de colônias no Meio Modificado e nos outros meios estudados, observando-se as Tabelas 2, 3, 4, 5 e 6, verifica-se que a contagem foi muito uniforme no Meio Modificado e no meio de Hektoen Enteric Agar, quer o adquirido comercialmente, quer o preparado no laboratório, para todos os germes estudados. Verificamos também que as contagens nesses meios, de um modo geral, foram superiores às apresentadas nos de Brilliant Green Agar, para as *Salmonella* lactose-positivas. Para as *Salmonella* lactose-negativas, a contagem foi ligeiramente inferior no meio de Brilliant Green Agar.

As amostras de *Shigella* estudadas foram totalmente inibidas no meio de Brilliant Green Agar. No meio de SS Agar as amostras de *Shigella sonnei* sofreram inibição, sendo que as outras espécies apresentaram contagens bastantes semelhantes às observadas nos meios modificado e de Hektoen Enteric Agar (duas variedades).

De um modo geral as amostras de *E. coli* foram inibidas no meio de Brilliant Green Agar, o mesmo não ocorrendo com a

amostar de *Klebsiella*. O meio do SS Agar mostrou-se de um modo geral mais inibitório que o meio modificado e o de Hektoen Enteric Agar para os coliformes.

Os *Proteus* apresentaram contagens uniformes nos meios de SS Agar, Modificado e Hektoen Enteric Agar. Foram totalmente inibidos no Brilliant Green Agar.

Após este estudo quantitativo, concluímos que o Meio Modificado, ao lado de possibilitar uma caracterização uniforme das duas estirpes de *Salmonella*, bem como perfeita caracterização e diferenciação colonial dos outros gêneros de enterobactérias, não foi inibitório para as amostras estudadas.

Observamos também igualdade de comportamento bacteriano no Hektoen Enteric Agar, quer o adquirido comercialmente, quer o preparado no laboratório.

Ressaltamos que esses resultados foram obtidos com bactérias de coleção e que o Meio Modificado será testado na rotina de isolamento de enterobactérias. Apesar de havermos trabalhado apenas com bactérias de coleção, acreditamos que os resultados foram bastante satisfatórios de modo a sugerir a introdução do Meio Modificado na rotina de isolamento de enterobactérias, com referência especial à *Salmonella*.

RSPU-B/300

FALCÃO, D. P. — [A modified culture medium for the characterization of positive lactose strains of *Salmonella*]. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 10: 65-73, 1976.

SUMMARY: A modified culture medium was developed for the purpose of isolating and characterizing the enterobacterias, giving special attention to the *Salmonella* strains that ferment lactose. In this "Modified Medium" the colonies of the two strains of *Salmonella* show a morphological similarity. This does not occur with other culture media of enterobacteria, in which the basic carbohydrate is lactose. The Modified Medium is a modification of the Enteric Agar in which the lactose was substituted by xilose and L-lisine. It was verified that there is a possibility of differentiating between the different groups of enterobacteria by using a culture medium with no lactose and using xilose L-lisina as a differentiating system. The Modified Medium was also evaluated quantitatively comparing its enriching or inhibiting power with the Hektoen Enteric Agar, Brilliant Green Agar and the SS Agar media in relation to the different groups of enterobacteria.

UNITERMS: *Enterobacterias*. *Salmonella*. *positive lactose*. *Culture medium*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, P. C. A. & TRABULSI, L. R. — Características culturais, bioquímicas e virulência de amostras de *Salmonella typhimurium* fermentadoras da lactose. *Rev. Microbiol.*, 5: 27-35, 1974.
2. BLACKBURN, B. O. & ELLIS, B. M. — Lactose fermenting *Salmonella* from dried milk and milk-drying plants. *Appl. Microbiol.*, 26:672-4, 1973.
3. BULMASH, J. M.; FULTON, M. & JIRON, J. — Lactose and sulfide reactions of an aberrant *Salmonella* strain. *J. Bacteriol.*, 89:259, 1965.
4. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H. — Identification of enterobacteriaceae. 3rd ed., Minneapolis, Burgess Publishing Co., 1972.

FALCÃO, D. P. — Meio modificado de cultura para caracterização de *Salmonella* lactose-positiva. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 10:65-73, 1976.

5. EWING, W. H. — Differentiation of enterobacteriaceae by biochemical reactions. Atlanta, Center for Disease Control, 1968.
6. EWING, W. H. & BALL, M. M. — The biochemical reactions of members of the genus *Salmonella*. Atlanta, Center for Disease Control, 1966.
7. FALKON, S. & BARON, L. S. — Episomic element in a strain of *Salmonella typhosa*. *J. Bacteriol.*, 84:581-9, 1962.
8. GONZALES, A. B. — Lactose fermenting *Salmonella*. *J. Bacteriol.*, 91:1661-2, 1966.
9. KAUFFMANN, F. — The bacteriology of enterobacteriaceae 3rd ed. Copenhagen, Munksgaard, 1966.
10. KING, S. & METZGER, W. — A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. I. — Hektoen enteric agar. *Appl. Microbiol.*, 16: 577-8, 1968.
11. KING, S. & METZGER, W. — A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II — Comparison of Hektoen enteric agar — with SS agar and EMB agar. *Appl. Microbiol.*, 16:579-81, 1968.
12. KUNZ, L. J. & EWING, W. H. — Laboratory infection with a lactose fermenting strain of *S. typhi*. *J. Bacteriol.*, 89:1629, 1965.
13. PESSÓA, G. V. A. — Sobre a ocorrência de uma variante *Salmonella typhimurium* fermentadora da lactose. São Paulo, 1972. Tese — Univ. São Paulo.
14. SAPHRA, I. & SELIGMANN, E. — Coliforms with complet *Salmonella* antigen, or lactose-fermenting *Salmonella*? *J. Bacteriol.*, 54:270-1, 1947.
15. SELIGMANN, E. & SAPHRA, I. — A coliform bacterium with the complete antigen of *Salmonella newington*. *J. Immunol.*, 54:275-82, 1946.
16. SUASSUNA, I. — Estudo sobre o gênero *Proteus*. Rio de Janeiro, 1963. (Tese Faculdade de Ciências Médicas do Estado da Guanabara).
17. TAYLOR, W. I. — Isolation of *Shigella*. I — Xilose lysina agars; new media for isolation of enteric pathogens. *Reg. med. Technol.*, 35:471-5, 1965.

Recebido para publicação em 28/11/1975

Aprovado para publicação em 05/01/1976