

IMPLICAÇÕES PARA A SAÚDE PÚBLICA DE AMOSTRAS DE SALMONELLA COM RESISTÊNCIA MÚLTIPLA INFECCIOSA A DROGAS ISOLADAS DE ANIMAIS *

Maria Luiza Palmeira ** e Cecília Maria Gonçalves Camacho ***

Com a finalidade de verificar se a ocorrência de Salmonelas isoladas de animais, com resistência múltipla infecciosa a drogas, influencia a situação epidemiológica no homem, testaram-se 136 amostras de Salmonella isoladas de suínos normas. Das culturas testadas, 18,3% foram portadoras desse tipo de resistência, em evidente oposição aos dados encontrados entre as amostras de origem humana, em que num total de 70 amostras (67,1%) apresentaram resistência a uma e a várias drogas.

Limita-se o presente trabalho a avaliar a resistência múltipla infecciosa a drogas em *Salmonella*, enterobactérias de significação específica para animais.

Fizemos um levantamento com a finalidade de confirmar a existência de fatores R em *Salmonella* isoladas de suínos e, conseqüentemente, determinar até que ponto a ocorrência dessas amostras resistentes, nestes animais, e em meio ambiente, poderá influir no tocante às condições epidemiológicas no homem.

A constatação de resistência a drogas em *Salmonella*, verdadeiramente uma real ameaça à saúde humana, tem sido descrita com os realces dos perigos advindos da existência desses microrganismos no alimento humano, porém a presença de fatores R nessas amostras poderá, sem dúvida, constituir-se num problema imprevisível para a Saúde Pública.

Muitas das recentes descrições científicas sobre o uso de antibióticos, nas rações

alimentares de animais, resultam da descoberta da transferência epissomática a drogas, daí ser grande a preocupação quanto ao consumo de carne proveniente de animais alimentados à base de antibióticos, tendo em vista a possibilidade de que certas bactérias, que se encontram no conduto intestinal, possam desenvolver resistência aos antibióticos ministrados.

Nos Estados Unidos, nenhum problema de saúde pública parece atribuível ao uso de antibióticos em animais na década anterior e posterior à descoberta desse tipo de resistência. Na Grã-Bretanha, entretanto, houve certo alarma, por volta de 1965, causado por um surto de toxinfecção provocado por *Salmonella typhimurium* resistente, provindo de gado, supondo-se que a disseminação de tais germens seja devida às más condições sanitárias aliadas a uma grande dispersão dos animais infectados. Alimentos contendo antibióticos não foram assinalados.

* Trabalho do Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

** Pesquisador em Biologia.

*** Bolsista do Instituto Oswaldo Cruz.

Recebido para publicação em 22-4-1974.



Fig. 1 — Resistência a Tc St, Su e St-Su em amostras de *Salmonella* isoladas de porcos no período 1968-1972.

* No ano de 1971 não foi possível obter amostras.

TABELA I

Comportamento das amostras, segundo os tipos de resistência

Origem	Número de amostras						Total
	Snsíveis		Resistência cromossomial		Resistência epissomática Fator R		
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
Humana	23	32,8	—	—	47	67,1	70
Animal	23	16,9	88	34,7	25	18,3	136

No Brasil, estudos realizados (1,11) indicam ser grande a incidência de amstras de *Salmonella* isoladas, de animais, principalmente porcos e aves; neste sentido, resolvemos investigar a presença de fatores R, ou da resistência múltipla infecciosa a drogas, em amostras recebidas em nosso Laboratório cujos resultados, no entanto, chegaram a 18,3% de positividade para a ocorrência.

MATERIAL E MÉTODO

1 — Amostras bacterianas

A — Foi analisado um total de 109 amostras de diferentes sorotipos de *Salmonella*, isoladas de gânglios linfáticos superficiais e profundos de suínos, oriundas de animais abatidos no matadouro Municipal de Salvador — Bahia, e mais 27 amostras fornecidas pelo Matadouro de Santa Cruz — Guanabara (11).

B — Outrossim, foram estudadas 70 amostras de *Salmonella* provenientes de coproculturas de indivíduos com síndrome diarreica.

2 — Meios de cultura

A — Meios líquidos — Caldo Penasay (Difco)

B — Meios sólidos — Agar simples extrato de carne;
Agar lactosado com azul de metileno eosina (Levine)
Meio de Mueller Hinton contendo 4 ml % de uma solução a 0,2% de azul de bromotimol e 2% de lactose.

3 — Antibióticos e quimioterápicos

- Tc — coridrato de tetraciclina (Cyanamide Co)
- Cl — cloranfenicol (Parke-Davis)
- St — sulfato de estreptomicina (Fontoura-Wyeth)
- Kn — sulfato de kanamicina ((Laborterápica Bristol S.A.)
- He — hetacilina (Laborterápica Bristol S.A.)
- Am — Ampicilina (Laborterápica Bristol S.A.)
- AN — ácido nalidixico (Winthrop Products Inc)
- Su — sulfadiazina (Spofa United Pharmaceutical Norks Praha)

Os métodos de cultivo, a determinação dos níveis de resistência, as condições de conjugação e método de seleção de clones, que receberam fatores de resistência, são os mesmos já descritos em trabalhos anteriores (5,6).

RESULTADOS

As 136 amostras de *Salmonella* testadas, de origem animal, revelam os seguintes resultados: 25 são portadores de fatores R (18,3%); 88 apresentam resistência de origem cromossomial; 23, sensíveis às oito drogas estudadas (Tabela I.)

A resistência para um único antibiótico predominou em 59 amostras, das quais 21,4% foram capazes de transferi-la para uma amostra de *E. coli* K₁₂ F⁻, mas resistência para dois antibióticos foi tão somente encontrada em 9,4% das respectivas amostras, com predomínio do modelo St-Su, em 21,4% das culturas. Finalmente, resistências para três ou mais drogas não foi detectada, o mesmo se verificando com relação a Cl e a Kn (Tabela II.)

Com relação às amostras de origem animal, os resultados obtidos em nosso laboratório indicam não ter havido aumento significativo de patógenos, com resistência infecciosa a drogas nesses animais, nos

TABELA II

Distribuição numérica dos modelos de resistência

Modelos Resistência Transferidos	Origem	
	Humana	Animal
Su	8	9
St	5	10
Tc	2	2
Kn	—	—
Cl	—	—
Su-St	5	4
Su-St-Tc	8	—
Su-Am-He	1	—
Su-St-Tc-Cl-Kn-Am-He	17	—
Su-St-Tc-Cl-Kn-Am-He-AN	1	—

últimos anos, com exceção da resistência simples para Su e para St-Su, que vem sofrendo um aumento gradativo a partir de 1968. Por sinal, nesse ano, foi observado um fenômeno curioso de acentuada predominância de amostras resistentes a St (Figura 1).

Das 70 amostras de *Salmonella* testadas, de origem humana, 67,1% apresentaram resistência infecciosa a uma ou várias drogas e, em sua grande maioria, tornaram-se capazes de transferir seus gens de resistência para a amostra de *Escherichia coli* receptora, nos experimentos de conjugação.

O espectro de resistência mais comum encontrado nessas amostras foi para St-Tc-Cl-Kn-Am-He-Su em 17 amostras, to-

das pertencentes ao sorotipo *typhimurium* (Tabela II)

DISCUSSÃO

Pelo fato de serem os mesmos antibióticos usados em medicina humana e animal, não há margem para identificar fatores R individuais, podendo-se, em alguns casos, traçar o caminho de certas bactérias entéricas patogênicas, de animais para o homem, por meio de fagotipagem e métodos correlatos.

Embora os animais sejam fonte de bactérias com fatores R, principalmente em países como a Grã-Bretanha e Estados Unidos, nos quais rotineiramente a suplementação de rações é feita com antibióticos e quimioterápicos, é indiscutível que o

trato intestinal humano seja portador e responsável pela dispersão dessas bactérias com fatores R, principalmente em regiões onde não se pratica aquela suplementação.

Esse fato, assim confirmado, leva-nos a concluir que, em nosso meio, bactérias com fatores R estão, à larga disseminadas entre a população humana, as quais, acredita-se, possuem condições próprias de formação desses fatores (7), isto é, sem nenhuma ajuda de componentes bacterianos de outras espécies animais. Com base em semelhantes elementos, é aceitável conjecturar que, na maioria dos casos, as bactérias intestinais de origem animal podem alcançar os grupos humanos através de ingestão de alimentos, como a carne e o leite, não representando, no entanto, esta vinculação um papel decisivo na montagem dos fatores R nos referidos grupos.

A baixa percentagem de *Salmonella* de origem suína, com resistência múltipla infecciosa a drogas, encontrada na ordem de 18,1%, é bem mais baixa que aquela obtido por Smith e Halls 70% (8), e Walton 85% (10), nos levantamentos feitos por estes autores, entre amostras de *Escherichia coli* isoladas das fezes de porcos narmais, na Grá-Bretanha; pode ser ela explicada com base em três aspectos:

1º — Smith, Halls e Walton usaram, em seus experimentos, amostras de *Escherichia coli*, provando ser bastante alta a percentagem de resistência infecciosa a drogas nessas amostras; porém, o ponto mais importante desses estudos foi a possibilidade de relacionar a ingestão de alimentos com antibióticos por animais, e o isolamento de coliformes intestinais com resistência específica para essas drogas incorporadas ao alimento.

2º — Como explicação, também, da baixa percentagem de amostras de *Salmonella* portadoras de fatores R, está o fato, já descrito por Smith (9), de que a transferência de resistência para amostras de *Salmonella*, no trato intestinal dos suínos, é um evento raro. Igualmente, Jarolmen (2,3), em trabalhos recentes, demonstrou que a transferência de fatores R "in vivo" da microflora normal de porcos para *Salmonella choleraesuis* é, também rara, mas, quando esses fatores R são transferidos, eles freqüentemente passam à forma rugosa, avirulenta. Conclui ainda Jarolmen

que essas raras classes de receptoras, quando não perdem a virulência, aparentemente apresentam uma desvantagem competitiva com a forma parental sensível a droga.

3º — A ausência de pressão seletiva de antibióticos em níveis terapêuticos e nutricionais, na população animal, é outro fator decisivo na baixa percentagem de amostras de origem animal com fatores R em nosso meio, isto porque não é de uso corrente, entre nós, suplementar a ração dos animais com antibióticos, rotina já há algum tempo adotada nos Estados Unidos e Europa, considerando-se ademais que a maioria das amostras de *Salmonella* foi isolada de animais procedentes de regiões de baixo nível econômico. Quanto à população humana, em que os antibióticos são usados, indiscriminadamente, a seleção ambiente, as drogas e a colonização dos organismos resistentes, são de grande expressão epidemiológica, bem maior do que a transferência desses fatores no trato gástro-intestinal (8).

Da observação dos modelos de resistência bacteriana apresentados pelas amostras de *Salmonella* em animais (Tabella II), vê-se o predomínio da resistência a um único antibiótico; no entanto, a resistência a uma droga não implica que, necessariamente, ela seja transmissível, como ocorreu com 78,6% dessas amostras, indicando, talvez, serem elas uma resultante de mutações cromossomiais. Semelhantes resistências devem, evidentemente, distinguir-se daquelas conferidas por fatores R, cujos determinantes de resistência se acredita estarem situados extracromossomalmente e capazes de serem transferidos para outras bactérias por conjugação.

Com relação à alta percentagem de amostras resistentes a St, em 1968 (Fig. 1), pode ser interpretada como um fato isolado que ocorreu nesses animais devido, é bem provável, a uma utilização maior, terapêutica ou não, desse antibiótico, e conseqüentemente, determinando o predomínio dessas formas na microflora, já que a maioria das amostras St resistentes procede de animais abatidos num matadouro do Estado da Bahia.

Pouco se conhece relativamente no Brasil, sobre o papel desempenhado pela resistência infecciosa a drogas em *Salmonella* de origem animal no que toca à saúde

pública, bem como pouco se sabe sobre a freqüência dessas bactérias em alimentos consumidos pelo homem, a não ser os trabalhos de Moreno e cols. (4, 5), em São Paulo, acerca da presença de fatores R em amostras de enterobactérias isoladas de animais.

Isto posto, com referência às amostras de *Salmonella* com fator infeccioso de resistência, isoladas de animais, particularmente entre as amostras de *Salmonella typhimurium*, cuja taxa de resistência ao clorofenicol permanece em baixo nível, po-

demos concluir que, até o presente, a resistência infecciosa a drogas é, pois, um incidente a mais a registrar-se no complicado problema de higiene alimentar.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Ernesto Hofer, por sua valiosa contribuição, sobretudo no fornecimento das amostras bacterianas e aos técnicos da Seção de Enterobactérias de nosso Laboratório, Srs. José Caetano Alves, Sebastião Januário da Silva Filho e a Srta. Rosemary Ribeiro pela ajuda prestada.

S U M M A R Y

In order to verify the occurrence of Salmonella with a multiple resistance to drugs, transmissible, isolated from animals, and its influence on the epidemiological situation in man, 136 samples of Salmonella isolated from healthy swine were tested; only 18,3% were bearers of this type of resistance, in clear opposition to the situation found among samples of human origin, in which, from 70 tested samples, 76,3% showed resistance to one and various antibiotics.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, G.A.; HOFER, E.; COSTA M.P.M.; HAGE DA SILVA, J.; DOS SANTOS, J.V., & DÓRIA, J.P. — Sobre o isolamento de *Salmonella* de gânglios linfáticos de suínos abatidos no matadouro da cidade de Salvador — Bahia — Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 70: 417-431, 1972.
2. JAROLMEN, H. & KEMP, G. — R. factor transmission *in vivo* — J. Bacteriol. 99: 487-490, 1969.
3. JAROLMEN, H. — Experimental transfer of antibiotic resistance in swine. Ann. of the New York Acad. of Science. 182: 72-79, 1971.
4. MORENO, G. — Resistência a drogas em amostras de *Escherichia coli* isoladas de animais. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 32: 63-68, 1972.
5. MORENO, G., GIORGI, W. & MAGALHÃES LOPES C.A. — Resistência a drogas em *Salmonella* isoladas de animais. Arq. Inst. Biol., São Paulo, 40: 39-43, 1973.
6. PALMEIRA, M.L. — Capacidade receptora de *Salmonella typhi* a fatores R. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 70: 89-95, 1972.
7. PALMEIRA, M.L., & GONÇALVES DA SILVA, C.M. — Bactérias Gram-negativas com fator infeccioso de resistência a drogas isoladas de crianças em dois hospitais do Rio de Janeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1973.
8. SMITH, H.W. & HALLS, S. — Observation on infective drug resistance in Britain. Brit. M.J. 1: 266-269, 1966.
9. SMITH, H.W. — Transfer of antibiotic resistance from animal and human strains of *Escherichia coli* to resident *E. coli* in the alimentary tract of man. Lancet, 1: 1174-1176, 1969.

10. WALTON, J. R. — Infection drug resistance in *Escherichia coli* isolated from healthy farm animals. *Lancet*, 2: 1300-1302, 1966.
11. ZEBRAL, A. A., FREITAS, C. A. & HO-
FER, E. — Ocorrência de *Salmonella* em gânglios linfáticos de suínos aparentemente normais abatidos no matadouro de Santa Cruz, cidade do Rio de Janeiro-GB. Em impressão nas Mem. Inst. Oswaldo Cruz.