

RESISTÊNCIA A DROGAS EM AMOSTRAS DE SALMONELAS ISOLADAS DE GALINHAS E PERUS REPRODUTORES¹

EDIR NEPOMUCENO DA SILVA², OSMANE HIPÓLITO² E DIÓGENES SANTIAGO SANTOS³

ABSTRACT.- Silva E.N., Hipólito O. & Santos D.S. 1984. [Drug resistance in *Salmonella* isolated from chicken and turkey breeder flocks.] Resistência a drogas em amostras de salmonelas isoladas de galinhas e perus reprodutores. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 4(4): 143-145. Fac. Med. Vet. Zootec., USP, Av. Corifeu de Azevedo Marques 2720, São Paulo, SP 05340, Brazil.

Studies were conducted to determine drug resistance in *Salmonella* isolated using the plate dilution method. The following drugs were used: ampicillin, sulphadiazine, oxytetracycline, kanamycin, chloramphenicol, gentamicin, polymixin B, nalidixic acid, dehydrostreptomycin and nitrofurazone. Twentyfour *Salmonella* strains isolated from apparently healthy chicken and turkey breeder flocks were examined. The following strains were tested: Eleven *S. typhimurium*, two *S. saintpaul*, two *S. eimsbuettel* and nine *S. arizonae* 18:z4,z32:- (Ar. -7:1, 7, 7:-). All these strains presented a resistance level below 2 µg of the base per ml of the culture medium when following drugs were used: gentamicin, ampicillin, kanamycin, polymyxin. A resistance level of 2 or 5 µg/ml was found with the following: streptomycin, chloramphenicol, nalidixic acid and oxytetracycline. The strain isolated from turkeys showed a resistance level of 5 µg/ml with nitrofurazone while those isolated from chickens showed a resistance of 10 µg/ml. The only exception was *S. typhimurium* strain 185 which showed resistance to 20 µg/ml of the same drug. All these strains tested were resistant to sulphadiazine.

INDEX TERMS: Drug resistance, *Salmonella*, chicken, turkey.

SINOPSE.- Utilizando-se o método de diluição em placa, foram determinados os níveis de resistência de amostras de *Salmonella* isoladas de galinhas e perus às seguintes drogas: ampicilina, sulfadiazina, oxitetraciclina, sulfato de canamicina, cloranfenicol, sulfato de gentamicina, poliximina B, ácido nalidíxico, sulfato de diidroestreptomicina e nitrofurazona. Foram analisadas 24 amostras de salmonelas isoladas de espécimens colhidas de um lote de perus e de outro de galinhas reprodutoras aparentemente normais. Foram usadas as seguintes amostras: onze *S. typhimurium*, duas *S. saintpaul*, duas *S. eimsbuettel* e nove *S. arizonae* 18: z4,z32:- (Ar. 7-1,7,8:-). Todas as amostras apresentaram níveis de resistência inferiores a 2 µg/ml frente às seguintes drogas: gentamicina, ampicilina, canamicina, polimixina; e níveis de 2 ou 5 µg/ml, frente às seguintes: estreptomicina, cloranfenicol, ácido nalidíxico, e oxitetraciclina. As amostras isoladas de perus apresentaram níveis de 5 µg/ml à nitrofurazona, enquanto que naquelas oriundas de galinhas, os níveis alcançaram até 10 µg/ml. A única exceção foi apresentada por *S. typhimurium* 185 que se mostrou resistente a 20 µg/ml da mesma droga.

Todas as amostras estudadas foram resistentes à sulfadiazina.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Resistência a drogas, salmonelas, galinhas, perus.

INTRODUÇÃO

Os antibióticos e quimioterápicos são utilizados para fins terapêuticos e como promotores de crescimento em aves. Neste último caso, as drogas são usadas continuamente na ração em pequenas doses (Lopes 1978).

Entre todas as espécies animais, indubitavelmente, as galinhas e perus constituem as espécies que mais recebem antibióticos e quimioterápicos, em doses tanto terapêuticas como subterapêuticas (Sojka & Hudson 1976).

Lamentavelmente, a utilização indiscriminada de antimicrobianos na produção de alimentos de origem animal tem contribuído, de maneira decisiva, para aumentar o espectro de resistência de bactérias intestinais (Dovadola et al. 1970, Lakhotia & Stephens 1972, 1973, Moreno 1972, Pantaleón et al. 1975, Sojka & Hudson 1976).

Nossa intenção foi verificar os níveis de resistência frente a 10 drogas antimicrobianas em amostras de salmonelas isoladas de perus e de galinhas reprodutoras, aparentemente normais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 24 amostras de *Salmonella* isoladas de dois lotes de

¹ Aceito para publicação em 2 de julho de 1984.

² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Corifeu de Azevedo Marques 2720, São Paulo, SP 05340.

³ Escola Paulista de Medicina, Rua Botucatu 862, São Paulo, SP 04023.

aves: um de perus e outro de galinhas reprodutoras, aparentemente normais. O lote de perus recebeu, durante a fase do experimento, 110 g de furazolidona por tonelada de ração enquanto que nenhuma droga antimicrobiana foi utilizada no lote de galinhas.

As amostras eram distribuídas da seguinte maneira: 11 amostras de *S. typhimurium*, sendo 6 e 4 isoladas de fezes cecais de galinhas e perus, respectivamente e, uma amostra isolada de embriões de galinha. Duas amostras de *S. saintpaul* isoladas, uma de cada, de fezes cecais de galinhas e perus. Duas *S. eimsbuettel* e *S. arizonae* 18:z4,z32:-(Ar.-7:1,7,8:-) isoladas de embriões de perus.

Os níveis de resistência foram determinados pelo método de diluição em placa utilizando-se tubos de ensaio de 16x160 mm contendo 2 ml de caldo TSB - Tryptic Soy Broth (Difco) e placas de Petri de 10 cm de diâmetro contendo cada uma 20 ml de meio de Mueller-Hinton para a sulfadiazina e, para os antibióticos, o DST Agar Base (Difco). As seguintes drogas foram utilizadas: ampicilina (AP), sulfadiazina (Su), oxitetraciclina (T), sulfato de canamicina (K), da Laborterápica Bristol S.A.; cloranfenicol levógiro (Cl), do Parke-Davis; sulfato de gentamicina (G), da Schering; polimixina B (Po), da Pfizer; ácido nalidíxico (An), da Winthrop S.A.; sulfato de diidroestreptomicina (S), da Fontoura-Wyeth S.A. e nitrofurazona (F) do Laboratório Henrifarma.

Cada uma das drogas foi utilizada nas concentrações de 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 e 1000 µg/ml de meio de cultura. As soluções estoque foram preparadas no momento do uso, nos diluentes recomendados. Os aminoglicosídeos (estreptomicina, canamicina, gentamicina) foram diluídos em água destilada; cloranfenicol e tetraciclina em álcool metílico, tendo, depois, o volume completado com tampão fosfato 0,01M; ácido nalidíxico e sulfadiazina em NaOH 0,002 N; polimixina e ampicilina em água destilada; nitrofurazona em ATPEG 400 (polietileno glicol 400) para a primeira diluição (100 mg/ml) e as demais diluições em água destilada estéril pH 7,0.

A inoculação das placas foi feita utilizando-se uma alça de "nichrome" de 1,5 mm de diâmetro carregada da cultura diluída a 1:100 em salina estéril. Estas culturas foram previamente incubadas a 37°C de 18-24 horas em 2ml de caldo TPB.

Foram investigadas 20 culturas por placa de Petri; as placas eram preparadas colocando-se a concentração desejada do antimicrobiano no

fundo delas e adicionando-se sobre este ágar fundido e resfriado a 45-50°C, efetuando-se em seguida a homogeneização.

As placas eram secadas em estufa a 37°C, antes do uso. Simultaneamente com a determinação do nível de resistência, investigou-se a viabilidade das amostras em estudo, semeando-as numa placa de meio, isenta das drogas.

Considerou-se nível de resistência a concentração mais alta da droga que permitiu crescimento de 50% ou mais da amostra em estudo, comparando-se com o seu crescimento na placa de controle de viabilidade, após incubação a 37°C por 24 horas; e resistente, a amostra que cresceu na concentração igual ou superior a 20 µg/ml do meio de cultura.

RESULTADOS

Os níveis de resistência a drogas das amostras de salmonelas testadas constam do Quadro 1. De maneira geral, todas as amostras apresentaram níveis inferiores a 2 µg/ml frente às seguintes drogas: gentamicina, ampicilina, canamicina, polimixina; e níveis de 2 ou 5 µg/ml para: estreptomicina, cloranfenicol, ácido nalidíxico e tetraciclina. Caracteristicamente, todas as amostras isoladas de perus apresentaram resistência a 5 µg/ml de nitrofurazona, enquanto que as amostras isoladas de galinhas apresentaram níveis de 10 µg/ml, com exceção de uma amostra de *S. typhimurium* que se mostrou resistente a 20 µg/ml. Todas as amostras estudadas foram resistentes à sulfadiazina.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados da determinação dos níveis de resistência nos surpreenderam. Com exceção da sulfa, todas as amostras foram sensíveis às drogas usadas. Levando-se em consideração o uso, até certo ponto abusivo, de drogas na avicultura e, consi-

Quadro 1. Níveis de resistência a drogas em amostras de salmonela isoladas de galinhas e perus reprodutores aparentemente normais

Sorotipo	Origem	Nº de amostras	Antimicrobianos (a)										
			G	S	Ap	Cl	Su	An	K	T	Po	F	
<i>S. typhimurium</i>	Fezes cecais	perus	2	-(b)	5	-	5	20	2	-	2	-	10
		galinhas	2	-	5	-	2	50	2	-	-	-	10
	Embriões	galinhas	3	-	5	-	5	20	2	-	2	-	10
		perus	1	-	5	-	5	200	2	-	2	-	10
		galinhas	1	-	5	-	5	100	2	-	-	-	20
		perus	1	-	5	-	5	50	-	-	2	-	10
<i>S. saintpaul</i>	Fezes cecais	galinhas	1	-	5	-	5	20	-	-	2	-	10
		perus	1	-	5	-	2	50	2	-	-	-	10
<i>S. eimsbuettel</i>	Embriões	perus	1	-	5	-	5	50	2	-	2	-	10
		perus	1	-	5	-	5	50	2	-	2	-	5
<i>S. arizonae</i> 18:z4,z32:- (Ar.7:1, 7, 8:-)	Embriões	perus	3	-	2	-	2	20	2	-	2	-	5
		perus	1	-	5	-	2	200	2	-	2	-	5
		perus	4	-	2	-	2	50	2	-	2	-	5
			1	-	2	-	2	20	2	-	2	-	5

(a) Níveis de resistência determinados em µg/ml da base por ml do meio de cultura:

G - gentamicina Cl - cloranfenicol K - Canamicina F - nitrofurazona
S - estreptomicina Su - sulfadiazina T - oxitetraciclina
Ap - ampicilina An - ácido nalidíxico Po - polimixina B

(b) Não houve crescimento na placa de menor concentração da droga.

derando que trabalhos recentes (Lakhotia & Stephens 1973, Pantaleón et al. 1975, Sojka & Hudson 1976, Stephan et al. 1976) têm demonstrado percentuais de 24,4%, 44,3%, 46,0% e 46,8% de amostras de salmonelas isoladas de aves, resistentes a uma ou mais drogas, esperava-se encontrar um espectro de resistência maior. Por outro lado, deve ser considerado que as amostras usadas para a determinação de resistência, pela maioria dos pesquisadores, foram isoladas de aves com alguma suspeita de infecção e que, invariavelmente, estavam submetidas a uma pressão seletiva pelo uso de drogas. Lopes (1978) observou muito bem que a utilização, em frangos de corte, de ração suplementada com cloranfenicol, promoveu uma rápida seleção da população de *Escherichia coli* resistente e que após 15 dias da remoção do antibiótico da ração, verificou-se uma acentuada queda dos níveis de resistência, registrando-se valores nunca superiores a 50 µg/ml. O fenômeno acentuou-se aos 30 dias após retirada da droga, revelando microorganismos com resistência inferior a 2,5 µg/ml.

Neste experimento, nenhuma droga foi usada durante a colheita dos espécimens para isolamento, a não ser a furazolidona no lote de perus na dosagem de 110 g por tonelada de ração. Isto pode justificar os baixos níveis de resistência a drogas entre as amostras de salmonela testadas. Segundo Lopes (1978), parece que a utilização de antibióticos em galinhas causa um desequilíbrio na flora intestinal, com possibilidade de predominância de amostras resistentes durante o período de uso da droga, e uma reversão da flora após a supressão.

Nas condições deste experimento, amostras de salmonelas isoladas de galinhas e perus reprodutores aparentemente nor-

mais apresentaram baixos níveis de resistência a drogas antimicrobianas.

REFERÊNCIAS

- Dovadola E., Bersani G. & Fachin E. 1970. Metodo di profilassi dell'infezione de *Paracolon arizona* nel tacchino. I. Prove de sensibilitá in vitro di ceppi *Paracolon arizona* isolati da uova e da tacchionitti nei confronti di alcuni antibiotici. Atti Soc. Ital Sci. Vet. 24: 686-690.
- Lakhotia R.L. & Stephens J.F. 1972. Transferable drug resistance among *Salmonella* and *Arizona* isolated from turkeys, chickens and feed. Poul. Sci. 51:1827-1828.
- Lakhotia R.L. & Stephens J.F. 1973. Incidence of drug resistance and R factor among *Salmonellae* isolated from poultry. Poul. Sci. 52:2266-2270.
- Lopes C.A.M. 1978. Drogas antimicrobianas em nutrição de aves; ganho de peso, conversibilidade alimentar e níveis de resistência de *Escherichia coli*. Tese de Livre-Docência, Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola do "Campus de Botucatu", Botucatu, São Paulo. 106 p.
- Moreno G. 1972. Resistência a drogas em amostras de *Escherichia coli* isoladas de animais. Revta Inst. Adolfo Lutz, S. Paulo, 32:63-68.
- Pantaleón J., Gledel J. & Corbion B. 1975. Répartition et antibiorésistance de 6.200 souches de *Salmonella* d'origine animale. Bull. Acad. Nat. Méd., Paris, 159:748-751.
- Sojka W.A. & Hudson E.B. 1976. A survey of drugs resistance in *Salmonella* isolated from animals in England and Wales during 1972. Brit. Vet. J. 132:95-104.
- Stephan R., Bulling E. & Steinbeck A. 1976. Die Entwicklung der Antibiotikaresistenz von Salmonellabakterien tierischer Herkunft der Bundesrepublik Deutschland einschliesslich Berlin (West). 4. Mitteilung: Jahresbericht 1973. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. A 234:27-45.