

RESISTÊNCIA INFECCIOSA A DROGAS EM AMOSTRAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE ANIMAIS (1)

INFECTIOUS DRUG RESISTANCE IN *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED FROM ANIMALS

GILBERTI MORENO (2)

SUMMARY

MORENO, G. — Infectious drug resistance in *Escherichia coli* strains isolated from animals. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 47-55, 1972.

Drug resistance of 375 strains of *Escherichia coli* originated from animals source to tetracycline, kanamycin, cephalotin, hetacylin and to streptomycin were determined.

The verification of infectious drug resistance expressed by the organisms used as donors were done by means of conjugation with the recipient strains of *Escherichia coli* K 12 (K12, 712R, and K12, J5F⁻).

The analysis of the results showed that almost all *Escherichia coli* strains examined appeared to be simultaneously resistant to two or three of these related drugs, arising clearly with higher incidence the last one's.

However, the most founded R factor in *Escherichia coli* strains originated from animal sources, were mainly integrated by resistance markers for sulphadiazine, chloramphenicol, and for tetracycline.

Moreover, none of multiple drug resistant strains with its R — factors carrying resistance markers for hetacylin, cephalotin and kanamycin, and those that appeared to be single drug resistant with resistance marker only for sulphadiazine, chloramphenicol or tetracycline, were all enable to act as transmissible strains for this purpose.

In addition, those cultures who had been characterized for drug resistance to two or three of the above mentioned drugs, were capable to transfer its resistance markers to the receipient strains, remaining the S—C resistant strains enable to do so.

INTRODUÇÃO

Após OCHIAI *et alii*¹⁴ e AKIBA *et alii*¹ terem demonstrado que a resistência múltipla a drogas, em amostras de *Escherichia coli* isoladas do homem, poderia ser transferida em bloco para uma *Shigella* sensível, e que para este acontecimento, era necessário o contacto direto da célula doadora com a célula receptora, ficou definitivamente provada a existência de um novo fenômeno no campo da bacteriologia, fenômeno este que diferia da então conhecida resistência cromossômica. Esta resistência múltipla foi posteriormente

designada “resistência infecciosa” em virtude da facilidade com que se transferia, e o bloco formado pelos gens de resistência e pela partícula de transferência, fator R (Resistance). Por outro lado, a partícula de transferência foi designada RTF (Resistance Transfer Factor^{11,21}). Recentemente, este último componente foi ainda denominado fator t (CHABERT & LE MINOR⁵) e TF (Transference Factor³).

Com a descoberta desse fator controlador da resistência extracromossômica, grupos de investigadores como WATANABE¹⁹ e MITSUHASHI *et alii*^{1,2}, no Japão;

(1) Realizado no Departamento de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, SP.
(2) Do Departamento de Patologia da F.C.M.B.B.

CHABBERT & LE MINOR^{5,6}, na França; ANDERSON & DATTA⁴ na Inglaterra; KABIN & COHEN⁹, nos Estados Unidos; FERNANDES⁷, FERNANDES & TRABULSI⁸, no Brasil, estudaram, de maneira pormenorizada, diferentes aspectos da resistência infecciosa a drogas. Inclue esta análise a natureza molecular do fator R, sua classificação e distribuição, os mecanismos bioquímicos da resistência, a frequência da transferência da resistência, drogas comprometidas e modelos de resistência, a estabilidade e a perda da transmissibilidade da resistência, a coexistência da resistência infecciosa e da cromossômica.

Considerando que os estudos sobre resistência infecciosa a drogas em amostras de *Escherichia coli* isoladas de animais constitui uma colaboração ao aspecto de problema até o momento ainda não investigado entre nós, relatamos no presente trabalho os resultados obtidos com 375 linhagens de *Escherichia coli*, relativamente à frequência com que são encontrados os fatores de resistência nessas amostras.

No desejo de tornar mais fácil a redação do trabalho, representaremos as drogas pelas siglas assim caracterizadas:

- S = Sulfadiazina
- T = Tetraciclina
- E = Estreptomina
- Cl = Cloranfenicol
- C = Cefalotina
- K = Kanamicina
- H = Hetacilina

MATERIAL E MÉTODOS

1. Amostras doadoras

O presente estudo foi realizado com 375 amostras de *Escherichia coli* obtidas de animais. De acordo com a origem, estas amostras foram classificadas como aviárias, bovinas, eqüinas, ovinas e suínas, pertencendo a cada grupo de animais 75 amostras. A seleção das linhagens doadoras ficou subordinada a uma determinação preliminar de seus níveis de resistência à sulfadiazina, ao sulfato de estreptomina, ao cloranfenicol, à cefalotina sódica, à

(*) Oxoid

hetacilina potássica, ao cloridrato de tetraciclina e ao sulfato de kanamicina, variando-se as concentrações das drogas de 1 a 1 000 µg/ml. Nessas condições, consideramos resistentes e, obviamente, doadoras as amostras que proliferaram em 20 µg/ml ou mais das drogas empregadas.

2. Amostras receptoras e indicadoras

Foram utilizadas, como receptoras, as seguintes linhagens:

2.1 *Escherichia coli* K 12, 712 R, não fermentadora da lactose, resistente a 1 000 µg/ml de estreptomina e sensível a 1 µg/ml de cloranfenicol, sulfadiazina, tetraciclina, kanamicina, cefalotina e hetacilina;

2.2 *Escherichia coli* K 12, J-5, F⁻, fermentadora da lactose, auxotrófica para prolina e metionina, sensível a 5 µg/ml de cloranfenicol e 1 µg/ml de sulfadiazina, estreptomina, ao cloranfenicol, à cefalotina sódica, à 50 µg/ml de ácido nalidíxico.

Foram empregadas, como indicadoras, as seguintes linhagens:

2.3 *Escherichia coli* K 12, 712 R (conforme descrita em 2.1);

2.4 *Escherichia coli* 0111:B4 resistente a 1 000 µg/ml de kanamicina;

2.5 *Escherichia coli* 0111:B4, sensível a 5 µg/ml de sulfadiazina.

3. Verificação da transferência da resistência

Foram empregados dois tipos de receptores:

3.1 *Escherichia coli* K 12, J-5, para as amostras resistentes à estreptomina (conforme 2.2).

3.2 *Escherichia coli* K 12, 712 R, para as amostras sensíveis à estreptomina (conforme 2.1).

3.3 Preparo das linhagens doadoras e receptoras.

Para este fim utilizou-se o Brain-Heart Infusion^(*), onde as linhagens doadoras e receptoras foram, cultivadas por 20 horas a 37°C. A seguir pipetou-se 0,1 ml de cada cultura, misturando-se as mesmas em 10 ml do meio acima referido. Estas manobras tinham como finalidade precípua desencadear o pro-

cesso de conjugação. Todos os tubos inoculados foram colocados em estufa durante quatro horas a 37°C.

3.4 Seleção das linhagens receptoras que receberam resistência:

O meio escolhido para esta seleção foi o MacConkey Agar nº 3(*), onde 0,1 ml da cultura mista foi semeado. Nos cruzamentos entre *Escherichia coli* isoladas de animais e *Escherichia coli* K 12, J-5 (conforme 2.2), as placas seletoras, além das drogas a serem testadas, continham, ainda, ácido nalidíxico na concentração de 25 µg/ml.

Quando do emprego da linhagem K 12, 712 R, adicionaram-se às placas de Petri 25 µg/ml de estreptomina. As concentrações de cada droga nas placas seletoras foram de: 20 µg/ml de tetraciclina, estreptomina, cloranfenicol, kanamicina, cefalotina, hetacilina e sulfadiazina. A possível atividade antagonista entre as linhagens doadoras e receptoras foi despistada através de inoculação da cultura mista em placas de Petri, contendo MacConkey Agar nº 3(*), sem droga. Todas as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Obtida a purificação das amostras receptoras que receberam a resistência, cinco colônias de cada placa foram isoladamente semeadas em Brain-Heart Infusion(*), procedendo-se a seguir à determinação do nível de resistência recebido. Para tanto, a incubação das amostras em estudo foi o conteúdo de alça de platina, de 2 mm de diâmetro, retirado de cultura de 20 horas a 37°C em Brain-Heart Infusion(*) e diluída a 1/1 000, no mesmo meio.

Em cada placa semearam-se 15 amostras de culturas receptoras e empregou-se, como controle da atividade das drogas, uma linhagem indicadora, cujos níveis de resistência foram previamente determinados. Assim, utilizou-se a linhagem descrita em 2.3 como controle de: tetraciclina, cefalotina, hetacilina, cloranfenicol e estreptomina; a descrita em 2.4, como controle de kanamicina; e a descrita em 2.5, como controle de sulfadiazina. Usou-se ainda uma placa testemunha da viabilidade das culturas, contendo somente o meio de cultivo. Os resultados foram registrados após 20 horas de incubação a 37°C e considerou-se como con-

centração inibitória aquela que impedia o desenvolvimento do microrganismo. A concentração imediatamente inferior, que permitia o crescimento das culturas em estudo, indicava o nível de resistência recebido.

RESULTADOS

As linhagens doadoras monorresistentes e as polirresistentes, cruzadas com as linhagens *Escherichia coli* K 12, J-5 (conforme 3.1) e *Escherichia coli* K 12, 712 R (conforme 3.2) oferecem as informações contidas no quadro I. É nítida aí a competência das amostras S-C1-T, S-C1-T-E, S-T-E, S-C1 e S-T, no que concerne à transferência de resistência. Nota-se, ainda, que 192 amostras transferiram resistência (51,20%), não o fazendo 183 amostras (48,80%). Nenhuma das amostras contendo em seus modelos marcadores para kanamicina transferiu resistência, o mesmo ocorrendo com as amostras monorresistentes para a sulfadiazina, o cloranfenicol e a tetraciclina.

No quadro II ordenaram-se especificamente as 192 amostras que transferiram resistência. Verifica-se que a transferência de resistência foi constante para as diferentes espécies animais, isto é, a transferência não variou em função da espécie. O teste utilizado foi o qui-quadrado e encontrou-se o valor de $X^2=2,635$ que, comparado com o valor crítico desta estatística para $\alpha=0,05$ (teste bicaudal) e quatro graus de liberdade, mostrou-se não significante.

O quadro III fornece as informações suficientes para realçar a competência das amostras com marcadores de resistência para S-C1-T, S-C1-T-E, S-T-E, S-T, S-C1, C1-T, S-C1-E. Embora algumas amostras tenham dado origem a vários tipos de descendentes — segregantes, uns, e outros com transferência parcial — contribuíram também com o maior número de unidades que transferiram totalmente seus marcadores. Este fato ocorreu com 80 amostras S-C1-T, 21 S-C1-T-E, 10 S-T, 9 S-C1, 5 S-T-E, 2 C1-T e uma S-C1-E. Relativamente aos modelos S-C1-T-E, S-C1-T e S-T, a transferência total diferiu significativamente ao nível adota-

(*) Oxoid

QUADRO I

Escherichia coli, em 375 amostras, isoladas das espécies animais estudadas e conjugadas com *Escherichia coli* K 12, 712 R e *Escherichia coli* K 12, J-5, ácido nalidíxico resistente, segundo o modelo e a natureza da transferência da resistência. São Paulo, 1972

| Espécie | Modelo de Resistência | Número de Amostras | Transferência | |
|-------------------------|-----------------------|--------------------|---------------|----------|
| | | | Positiva | Negativa |
| | | | Nº | Nº |
| <i>Escherichia coli</i> | S-C1-T-E-C-H | 1 | 1 | 0 |
| " " | S-C1-T-C-E | 2 | 0 | 2 |
| " " | S-C1-T-C-H | 1 | 1 | 0 |
| " " | S-C1-T-E | 45 | 25 | 20 |
| " " | S-C1-T-C | 9 | 4 | 5 |
| " " | S-C1-T-K | 2 | 0 | 2 |
| " " | S-C1-T-H | 2 | 0 | 2 |
| " " | S-C1-H-C | 1 | 0 | 1 |
| " " | S-C1-T | 132 | 126 | 6 |
| " " | S-C1-E | 10 | 1 | 9 |
| " " | S-C1-C | 4 | 0 | 4 |
| " " | S-T-E | 16 | 8 | 8 |
| " " | S-C1-H | 2 | 2 | 0 |
| " " | S-C1 | 50 | 11 | 39 |
| " " | S-T | 52 | 11 | 41 |
| " " | C1-T | 19 | 2 | 17 |
| " " | S-C | 1 | 0 | 1 |
| " " | S | 3 | 0 | 3 |
| " " | C1 | 20 | 0 | 20 |
| " " | T | 3 | 0 | 3 |
| Total | 20 | 375 | 192 | 183 |

QUADRO II

Transferência de resistência em 375 amostras de *Escherichia coli*, segundo a espécie animal. São Paulo, 1972

| Espécie Animal | Número de Amostras | Amostras que transferiram resistência | | Amostras que não transferiram resistência | |
|----------------|--------------------|---------------------------------------|------|---|------|
| | | Nº | % | Nº | % |
| Aves | 75 | 38 | 50,7 | 37 | 49,3 |
| Bovinos | 75 | 43 | 57,3 | 32 | 42,7 |
| Equínos | 75 | 34 | 45,3 | 41 | 54,7 |
| Ovinos | 75 | 33 | 44,0 | 42 | 56,0 |
| Suínos | 75 | 44 | 58,7 | 31 | 41,3 |
| Total | 375 | 192 | 51,2 | 183 | 48,8 |

QUADRO III

Escherichia coli, em 192 amostras, isoladas das espécies animais, de acordo com o modelo e o grau de transferência de resistência. São Paulo, 1972

| Modelo de Resistência | Número de Amostras | Transferência Parcial | | Transferência Total | | Segregação | | X ² |
|-----------------------|--------------------|-----------------------|-------|---------------------|-------|------------|-------|----------------|
| | | Nº | % | Nº | % | Nº | % | |
| S-C1-T-E-C-H | 1 | 1 | 0,52 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0,0 |
| S-C1-T-C-H | 1 | 1 | 0,52 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0,0 |
| S-C1-T-E | 25 | 0 | 0,00 | 21 | 10,94 | 4 | 2,08 | 10,24 |
| S-C1-T-C | 4 | 4 | 2,08 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 2,25 |
| S-C1-T | 126 | 20 | 10,43 | 80 | 41,66 | 26 | 13,55 | 8,64 |
| S-C1-E | 1 | 0 | 0,00 | 1 | 0,52 | 0 | 0,00 | 0,0 |
| S-T-E | 8 | 1 | 0,52 | 5 | 2,60 | 2 | 1,04 | 0,12 |
| S-C1-H | 2 | 2 | 1,04 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0,50 |
| S-C1 | 11 | 2 | 1,04 | 9 | 4,69 | 0 | 0,00 | 3,27 |
| S-T | 11 | 1 | 0,52 | 10 | 5,21 | 0 | 0,00 | 5,82 |
| C1-T | 2 | 0 | 0,00 | 2 | 1,04 | 0 | 0,00 | 0,50 |
| Total | 192 | 32 | 16,67 | 128 | 66,66 | 32 | 16,67 | |

QUADRO IV

Número de amostras de *Escherichia coli* que transferiram totalmente seus marcadores, segundo o modelo e a espécie animal. São Paulo, 1972

| Modelo | Total de Amostras | Ave Nº | Bovino Nº | Eqüino Nº | Ovino Nº | Suíno Nº | X ² |
|----------|-------------------|--------|-----------|-----------|----------|----------|----------------|
| S-C1-T-E | 21 | 2 | 2 | 3 | 2 | 12 | 18,3 |
| S-C1-T | 80 | 18 | 20 | 10 | 8 | 24 | 11,5 |
| S-T-E | 5 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 20,0 |
| S-C1-E | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4,0 |
| S-T | 10 | 2 | 0 | 8 | 0 | 0 | 24,0 |
| S-C1 | 9 | 3 | 6 | 0 | 0 | 0 | 16,0 |
| C1-T | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 8,0 |

QUADRO V

Número de amostras de *Escherichia coli* que transferiram resistência segundo a droga considerada e a espécie animal, em 128 amostras que transferiram totalmente seus marcadores. São Paulo, 1972

| Drogas | Ave | Bovino | Eqüino | Ovino | Suíno | Total | X ² |
|------------------|-----|--------|--------|-------|-------|-------|----------------|
| | Nº | Nº | Nº | Nº | Nº | | |
| Sulfadiazina | 25 | 28 | 26 | 10 | 37 | 126 | 15,0 |
| Tetraciclina | 22 | 24 | 26 | 10 | 36 | 118 | 14,7 |
| Cloranfenicol | 23 | 30 | 13 | 10 | 37 | 113 | 22,7 |
| Estreptomomicina | 2 | 2 | 8 | 2 | 13 | 27 | 18,3 |

QUADRO VI

Modelos de amostras doadoras competentes que transferiram parte de seus marcadores. São Paulo, 1972

| Modelos de Resistência | Número de Amostras | Transferência | | | |
|------------------------|--------------------|---------------|----|----------|----|
| | | Positiva | | Negativa | |
| | | Modelos | Nº | Modelos | Nº |
| S-C1-T-E-C-H | 1 | S-C1-T-E | 1 | C-H | 1 |
| S-C1-T-C-H | 1 | S-C1-T | 1 | C-H | 1 |
| S-C1-T-C | 4 | S-C1-T | 4 | C | 4 |
| S-C1-T | 20 | S | 14 | T | — |
| | | C1 | 6 | — | 20 |
| S-T-E | 1 | S-T | 1 | E | 1 |
| S-C1-H | 2 | S-C1 | 2 | H | 2 |
| S-C1 | 2 | S | 2 | C1 | 2 |
| S-T | 1 | S | 1 | T | 1 |

do de $\alpha = 0,05$ da transferência parcial ou segregação, sendo que nos modelos citados predominou a transferência total. O teste empregado foi o qui-quadrado, com um grau de liberdade.

Distribuíram-se, no quadro IV, as 128 amostras correspondentes aos sete modelos que foram totalmente transferidos. Este quadro demonstra que os modelos S-C1-T-E, S-C1-T, S-T-E, S-T e S-C1 apresentaram transferências totais que variaram de acordo com a espécie animal. Os modelos S-C1-E e C1-T, ao contrário, apresentaram transferências que não variaram em função da espécie animal. No quadro V observa-se que somente quatro drogas foram transferidas, verificando-se, ainda, que a transferência variou para as diferentes espécies animais, quaisquer que tenham sido as drogas empregadas. A análise estatística dos quadros IV e V foi realizada através do teste do qui-quadrado, com quatro graus de liberdade, e $\alpha = 0,05$ como nível de rejeição, sendo o teste bicaudal. Reuniram-se, no quadro VI, as 32 amostras que transferiram parcialmente a resistência.

Observou-se evidente variação nos níveis de resistência das culturas doadoras. Para as diferentes drogas, esses valores oscilaram entre 1 000 e 20 $\mu\text{g/ml}$, para a sulfadiazina; entre 1 000 e 50 $\mu\text{g/ml}$, para o cloranfenicol; entre 500 e 20 $\mu\text{g/ml}$, para tetraciclina; entre 200 e 20 $\mu\text{g/ml}$, para a estreptomina. Além disto,

permitiu revelar que 126 amostras transferiram resistência à sulfadiazina, 113 ao cloranfenicol, 118 à tetraciclina e 27 à estreptomina.

DISCUSSÃO

Reconhecemos que a utilização abusiva e indiscriminada de antibióticos e quimioterápicos na produção de alimentos de origem animal tem contribuído, de maneira decisiva, para aumentar o espectro de resistência das bactérias intestinais^{15,16,17}.

Este fenômeno provavelmente decorre da facilidade com que os germes entéricos adquirem fatores R e do desequilíbrio ecológico provocado por essas drogas, ao eliminarem os competidores naturalmente sensíveis. A problemática do assunto complica-se ainda mais quando existe a possibilidade de bactérias comensais transferirem seus fatores de resistência para microrganismos patogênicos, vindo estes, por sua vez a ter condições para alcançar o homem como um hospedeiro secundário. Esta última consequência foi sugerida por ANDERSON & DATTA⁴ ao verificarem que linhagens de *Salmonella thyphimurium* resistentes à ampicilina e à tetraciclina, isoladas do homem, deveriam ter-se originado de suínos que consumiram alimentos suplementados com penicilina e tetraciclina, porque linhagens do mesmo fagotipo e com o mesmo espectro de resistência foram obtidas de suínos durante o mesmo período. ANDER-

SON², em recente revisão sobre resistência a drogas em enterobactérias, assinala ser um erro aceitar que o único perigo para o homem permaneça na transmissão de organismos patogênicos resistentes, como a *Salmonella typhimurium*, pois grande parte desse perigo provém da *Escherichia coli* não patogênica, a qual deve manter a comunicação homem-animal em grande escala. Embora aceitando a validade de tais informações, não foi possível assemelhar os nossos resultados aos obtidos a partir de enterobactérias isoladas do homem^{7, 18, 22}, por existirem diferenças quantitativas e qualitativas nos espectros de resistência às diferentes drogas. É provável que os resultados obtidos por ANDERSON & DATTA⁴ e ANDERSON², no que diz respeito à possível transferência de clones resistentes das amostras bacterianas de origem animal para as humanas, sejam válidas apenas para as linhagens por eles estudadas.

Lamentavelmente não foi possível comparar devidamente nossos resultados quanto à frequência dos fatores R com os de outros autores, em virtude da existência de poucos trabalhos semelhantes ao nosso. MITSUHASHI, HASHIMOTO & SUZUKI¹², investigando fatores R em 332 linhagens de *Escherichia coli*, isoladas de suínos (278 amostras) e de aves (54 amostras), relativamente ao cloranfenicol, à tetraciclina, à dihidroestreptomicina e à sulfadiazina, assinalam, para ambas as espécies, a maior frequência do modelo S-T-E. Encontram ainda fatores transferíveis em 40 e 22% das amostras isoladas de suínos e aves, respectivamente. Nossos dados acusam, para as espécies indicadas, fatores R transferíveis em 58,7% e 50,7% (quadro II), com predominância do modelo S-C1-T, seguido do S-C1-T-E, para ambas as espécies. Mesmo com relativas variações nos valores percentuais, os fatores R por nós caracterizados como S-C1-T-E, S-T-E, S-T e S-C1 foram também assinalados no Japão, em suínos e aves¹².

Ainda com relação aos prováveis fatores R caracterizados, indicamos no quadro I, a ocor-

rência dos modelos tetra (S-C1-T-E, S-C1-T-C, S-C1-T-K, S-C1-T-H e S-C1-H-C), penta (S-C1-T-C-H e S-C1-T-C-E) e hexarresistentes (S-C1-T-E-C-H), nos quais são notórias a homogeneidade e a constância dos gens marcadores para S-C1-T, obtendo estes a prevalência quase absoluta nos modelos com multiresistência. Tal fato é, provavelmente, justificado pela eleição destas drogas como suplemento de rações e decorrente de seu uso sistemático em terapêutica veterinária.

A análise do quadro I e o confronto deste com o quadro III satisfazem plenamente à afirmativa de que as linhagens com resistência para duas drogas apresentaram-se com competência semelhante à daquelas com três e quatro marcadores, fazendo exceção à regra o modelo S-C, em que não ocorreu o fenômeno da transferência. Queremos ainda chamar a atenção para o fato de que amostras com marcadores para S-C1-T-C-E, S-C1-E e C1-T, em aves; S-C1-T-H, S-C1-H-C, S-C1-C, em bovinos; S-C1-T-H, S-C1-T-C, S-C1-E, S-T-E, S-C1 e C1-T, em ovinos; S-C1-T-K, em eqüinos; S-C1-T-C, S-C1-C, S-C1, S-T, em suínos, embora não tivessem transferido resistência, possuíam marcadores que foram transferidos pelas culturas competentes. Desta maneira, não encontramos outra possibilidade de explicar tal fenômeno a não ser pela ausência de um elemento transferidor nessas linhagens. Linhagens resistentes e desprovidas do fator de transferência têm sido assinaladas por ANDERSON³, LEWIS¹⁰, WATANABE²¹ e FERNANDES⁷.

No que diz respeito à dinâmica da transferência de resistência, torna-se difícil explicar a segregação por parte de modelos competentes como os apresentados no quadro III. Nota-se, neste quadro, que determinado número de linhagens com marcadores para S-C1-T, S-C1-T-E e S-T-E, que obtiveram considerável porcentagem na transferência total, também segregaram. Em outras palavras, esses

modelos foram transferidos totalmente e separadamente, oferecendo, neste último caso, uma série de descendentes. Assim sendo, só podemos justificar os presentes fatos por uma fragmentação do bloco que contém os gens marcadores ou, ainda, como decorrência de dois ou mais fatores R com diferentes marcadores de resistência em uma só cultura. Esta última justificativa tem sido provada por ANDERSON³ e CHABBERT & LE MINOR^{5,6}. Outra informação obtida a partir do quadro VI é a que refere o fato de 24 culturas (20 S—C1—T, uma S—T—E, duas S—C1 e uma S—T) deixarem de transferir os marcadores T ou E e C1, transferindo os demais. A ausência de transferência para esses marcadores sugere que nas culturas doadoras havia, possivelmente, coexistência de resistência infecciosa e cromossômica, pois, sendo linhagens competentes, não haveria razão para transferirem somente parte de seus marcadores.

Não pudemos observar diferenças significantes entre *Escherichia coli* K 12, J-5 e *Escherichia coli* K 12, 712R, no que diz respeito à transferência de resistência. Esses receptores comportaram-se com homogeneidade em relação ao fenômeno, oferecendo níveis de resistência inferiores ou iguais aos das culturas doadoras. FERNANDES⁷ encontra em *Escherichia coli* níveis inferiores, iguais ou superiores aos de shigelas doadoras. Não observa, porém o mesmo fenômeno quando do cruzamento entre linhagens de *Escherichia coli*. Para estas, os níveis expressos pela receptora foram semelhantes aos das doadoras. Não se conhece convenientemente a influência do hospedeiro no fenômeno da transferência de resistência.

RESUMO

MORENO, G. — Resistência infecciosa a drogas em amostras de *Escherichia coli* isoladas de animais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 47-55, 1972.

Determinaram-se os níveis de resistência à sulfadiazina, cloranfenicol, tetraciclina, kanamicina, cefalotina, hetacilina e estreptomina de 375 amostras de *Escherichia coli* obtidas de animais. A verificação de resistência infecciosa, nas amostras doadoras, foi feita através

de cruzamento com linhagens de *Escherichia coli* K 12 (K 12, 712 R e K 12, J-5 F⁻).

A análise dos resultados demonstrou que a maioria das amostras de *Escherichia coli* comportou-se com resistência simultânea a duas drogas, predominando as amostras resistentes a três drogas. Em todas as espécies animais estudadas, o fator R predominante, em *Escherichia coli* fez-se representar pelo modelo S—C1—T. Nenhuma das amostras com marcadores para hetacilina, cefalotina ou kanamicina transferiu resistência, o mesmo ocorrendo com as amostras monoresistentes para sulfadiazina, cloranfenicol e tetraciclina. As amostras com resistência simultânea para duas drogas comportaram-se com competência semelhante à daquelas com três e quatro marcadores de resistência, fazendo exceção o modelo S—C, onde não ocorreu o fenômeno de transferência de resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKIBA, T.; KOYAMA, K.; ISHIKI, Y.; KIMURA, S. & FUKUSHIMA, T. On the mechanism of the development of multiple drug-resistance clones of *Shigella*. *Jap. J. Microbiol.*, 4: 219-227, 1960. Apud WATANABE²¹
2. ANDERSON, E. S. — The ecology of transferable drug resistance in the enterobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.*, 22: 131-180, 1968.
3. ANDERSON, E.S. — Facteurs de transfert et résistance aux antibiotiques chez les entérobactériens. *Annls Inst. Pasteur (Paris)*, 112: 547-563, 1967.
4. ANDERSON, E.S. & DATTA, N. — Resistance to penicillins and its transfer in *Enterobacteriaceae*. *Lancet*, 1: 407-409, 1965.
5. CHABBERT, Y.A. & LE MINOR, L. — Transmission de la résistance a plusieurs antibiotiques chez les entérobactériaceae. I. Définition — Bactériologie générale du transfert. *Presse Méd.*, 74 (47): 2407-2410, 1966.
6. CHABBERT, Y.A. & LE MINOR, L. — Transmission de la résistance a plusieurs antibiotiques chez les entérobactériaceae. II. Bactériologie générale de la résistance (suite). Rôle clinique. *Presse Méd.*, 74(48): 2479-2484, 1966.

7. FERNANDES, M.R.F. — *Resistência infecciosa a drogas em culturas de Shigella*. São Paulo, 1968. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo]
8. FERNANDES, M.R.F. & TRABULSI, L.R. — Infectious resistance in pathogenic enteric organisms isolated in São Paulo, Brazil. (Preliminary report). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 10:52-53, 1968.
9. KABIN, S.A. & COHEN, S. — Resistance transfer factor in *Enterobacteriaceae*. *New Engl. J. Med.*, 275:248-252, 1966.
10. LEWIS, M.J. — Transferable drug resistance and other transferable agents in strains of *Escherichia coli* from two human populations. *Lancet*, 1: 1389-1393, 1968.
11. MITSUHASHI, S. — Transmissible drug-resistance factor R. *Gunma J. Med. Sci.*, 14: 169-209, 1965.
12. MITSUHASHI, S.; HASHIMOTO, H.; EGAWA, R.; TANAKA, T. & NAGAY, Y. Drug resistance of enteric bacteria. IX. Distribution of R factors in gram-negative bacteria from clinical sources. *J. Bact.*, 93(4): 1242-1245, 1967.
13. MITSUHASHI, S.; HASHIMOTO, H. & SUZUKI, K. — Drug resistance of enteric bacteria. XIII. Distribution of R factors in *Escherichia coli* strains isolated from livestock. *J. Bact.*, 94(4): 1166-1169, 1967.
14. OCHIAI, K.; YAMANAKA, T.; KIMURA, K. & SAWADA, O. — Studies on inheritance of drug resistance between *Shigella* strains and *Escherichia coli* strains. *Nippon Iji Shimpo*, 1861: 34-46, 1959. Apud WATANABE, T.²¹.
15. , RENAUT, L. & MAIRE, C.L. — Evolution de l'antibiosensibilité des sources pathogènes d'*Escherichia coli* d'origine porcine et aviaire. *Cah. Med. Vét.*, 38: 197-203, 1969.
16. SMITH, D.H. — Veterinary implication for transfer activity. In: WOLSTENHOLME G.E.W. & O'CONNOR, M., ed. — *Bacterial episomes and plasmids*. London, Churchill, 1969. p. 213 - 216. [Ciba Foundation Symposium].
17. SMITH, H.W. & CRABB, W.E. — The effect of the continuous administration of diets containing low levels of tetracyclines on the incidence of drug-resistant *Bacterium coli* in the faeces of pigs and chickens: the sensitivity of the *Bacterium coli* to other chemotherapeutic agents. *Vét. Rec.*, 69: 24-30, 1957.
18. TRABULSI, L.R. & ZULIANI, M.E. — Estudos sobre a *E.coli* 0111:B4. III. Sensibilidade "in vitro" à sulfadiazina e a seis antibióticos. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 11: 323-324, 1969.
19. WATANABE, T. — Infectious drug resistance. *Scient. Am.*, 217(6): 19-27, 1967.
20. WATANABE, T. — Infectious drug resistance in enteric bacteria. *New Engl. J. Med.*, 275: 888-894, 1966.
21. WATANABE, T. — Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bact. Rev.*, 27: 87-115, 1963.
22. ZULIANI, M.E. & TRABULSI, L.R. — Sensibilidade "in vitro" à sulfadiazina e a 5 antibióticos de 166 amostras de *Shigella* isoladas em São Paulo. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 10: 70-77, 1968.

Recebido para publicação em 26 de maio de 1972.

