

BIOTIPOS ANTIMICROBIANOS E TIPOS DE COLICINA: POTENCIAIS MARCADORES EPIDEMIOLÓGICOS DE *SALMONELLA AGONA*

CLAUDE ANDRÉ SOLARI, ELIANE MOURA FALAVINA DOS REIS & ERNESTO HOFER

Com o intuito de se obter marcadores epidemiológicos, foram analisadas 240 amostras de *S. agona* isoladas de diferentes fontes (humana, alimentar e ambiental) oriundas de cinco Estados brasileiros (MG, SP, RJ, PE e RS). O estudo da sensibilidade a 15 antimicrobianos e codificação numérica dos perfis de resistência propiciou o reconhecimento de 56 biotipos antimicrobianos, enquanto foram evidenciadas 40 amostras produtoras de colicina, pertencentes aos tipos: Ia (55%); B (32,5%); Ib (10%) e não tipável (2,5%). A aplicação desses elementos numa diferenciação intra-sorotipo é discutida.

A análise dos dados ofertados pelos sistemas de vigilância de *Salmonella* permite surpreender a evolução de certos sorotipos considerados exóticos. Assim, *Salmonella agona*, primeiramente isolada de material proveniente de bovino em Gana, caracterizada antigenicamente (4, 12: fgs: -) por Guinée, Kampelma-cher & Willems (1961), saiu da obscuridade e disseminou-se, no início da década de 70, de forma explosiva, nos Estados Unidos, Reino Unido, Holanda e Israel (Clark, Kaufmann & Gangarosa, 1973). Em cada um desses países, a partir de um isolamento inicial em farinha de peixe peruana, observou-se a veiculação, implantação e propagação de *S. agona* em diferentes espécies animais de abate, atingindo subseqüentemente, a espécie humana. Do mesmo modo, prosseguiu sua escalada internacional (WHO, Wkly Epidem. Rec. n° 51/52, 1974b; n° 52, 1975; n° 27, 1977; CDC. *Salmonella* surveillance. Annual summary, 1979 e CDC MMWR vol. 30, n° 31, 1981) galgando posição de destaque em inúmeros países, inclusive no Brasil (Ferreira, 1976; Pessoa et al., 1978; Miranda et al., 1978 e Martins, 1979).

De relevante significado são os vários surtos hospitalares registrados (WHO, *Salmonella* surveillance, 1974 a; Bartolozzi et al., 1976; Popovici et al., 1979; WHO, Wkly Epidem. Rec. n° 27, 1977; n° 4, 1979 e Anusz, 1979), comprovando a perfeita adaptação desse sorotipo ao homem.

Objetivando o rastreamento epidemiológico desta importante salmonelose, avalia-se o biotipo antimicrobiano e o tipo de colicina como possíveis marcadores epidemiológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem das amostras: foram estudadas 240 amostras isoladas, no período de 1973 a 1980, em cinco Estados brasileiros (Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Pernambuco e Rio Grande do Sul), distribuídas nas seguintes fontes de isolamento: humana (90), alimentar (73), água do mar (24), água de esgoto (47) e fômites (6) (Tabela I).

TABELA I

Distribuição das amostras de *S. agona*, segundo as fontes de isolamento

| Estados | Material humano | | Alimentos | | Água do mar | | Água de esgoto | | Fômites * | | Total |
|---------------------|-----------------|-------|-----------|-------|-------------|------|----------------|-------|-----------|------|-------|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | |
| Pernambuco (PE) | 19 | 7,91 | 45 | 18,75 | — | — | 6 | 2,50 | 6 | 2,50 | 76 |
| São Paulo (SP) | 26 | 10,83 | 14 | 5,83 | 13 | 5,41 | — | — | — | — | 53 |
| Minas Gerais (MG) | 8 | 3,33 | 12 | 5,00 | — | — | 27 | 11,50 | — | — | 47 |
| Rio de Janeiro (RJ) | 19 | 7,91 | 2 | 0,83 | 11 | 4,58 | 14 | 5,83 | — | — | 46 |
| Rio G. do Sul (RS) | 18 | 7,50 | — | — | — | — | — | — | — | — | 18 |
| Total | 90 | 37,48 | 73 | 30,41 | 24 | 9,99 | 47 | 19,58 | 6 | 2,50 | 240 |

Fômites: equipamentos de matadouro.

Antibiograma: o teste de sensibilidade a 15 antibióticos e quimioterápicos baseou-se no método de difusão por discos em Agar Mueller-Hinton, recomendado pelo Food and Drug Administration dos EUA, em 1981, representando uma pequena modificação do processo original desenvolvido por Bauer et al. em 1966. Foram empregados os seguintes discos das marcas Difco e Cecon, cujos controles foram efetuados

com a cepa padrão *E. coli* ATCC 25922: Ácido Nalidíxico (NA); Amicacina (BB); Ampicilina (AM); Cefalotina (CR); Cefoxitina (FOX); Cloranfenicol (C); Estreptomina (S); Gentamicina (GM); Canamicina (K); Nitrofurantoina (FD); Sisomicina (SIS); Sulfametoxazol + Trimetoprim (SXT); Tetraciclina (TE); Polimixina B (PB) e Fosfomicina (FO).

Codificação dos perfis de resistência: no sentido de facilitar a interpretação dos resultados, os 15 testes foram divididos em cinco grupos de três. Foram consideradas leituras positivas aquelas representadas como sensível (S) e moderadamente sensível (MS) e, negativa a correspondente a resistente (R), atribuindo-lhes valores apropriados. Desta maneira o valor 1 refere-se ao 1º resultado de cada tríade (NA, CR, S, FD e TE); valor 2 para o 2º resultado de cada tríade (BB, FOX, GM, SIS e PB) e o valor 4 representa o 3º resultado de cada tríade (AM, C, K, SXT e FO). Pautados nesse critério, obtém-se um código numérico de cinco algarismos em que cada um deles poderia variar de 0 a 7. Exemplificando, o caso de uma cultura que apresentou o seguinte resultado:

| 1ª Tríade | | | 2ª Tríade | | | 3ª Tríade | | | 4ª Tríade | | | 5ª Tríade | | |
|-----------|----|----|-----------|-----|---|-----------|----|---|-----------|-----|-----|-----------|----|----|
| NA | BB | AM | CR | FOX | C | S | GM | K | FD | SIS | SXT | TE | PB | FO |
| S | R | R | S | S | S | R | R | R | S | R | MS | R | S | S |
| + | - | - | + | + | + | - | - | - | + | - | + | - | + | + |
| 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | 2 | 4 |
| 1 | | | 7 | | | 0 | | | 5 | | | 6 | | |

Ter-se-ia pela conversão baseada na codificação exposta, um biotipo antimicrobiano com o perfil 17056.

Colicinotipia: a propriedade colicinogênica foi pesquisada em Agar Nutriente através da técnica de dupla camada, descrita por Ozeki, Stocker & Smith (1962), utilizando-se as cepas de referência *E. coli* 22 R 80 e *E. coli*: 20 R 675, 20 R 676, 22 R 81, 22 R 82, 22 R 83, 20 R 914 e 20 R 915, respectivamente, reveladora e indicadores de colicina, originárias do Central Public Health Laboratory de Colindade, Inglaterra (Tabela II).

TABELA II

Linhagens de *E. coli* indicadoras de colicina

| Linhagem indicadora | Designação | Colicinas | | | | | | | | |
|---------------------|-------------------------|-----------|----|----|----|----|----|---|---|---|
| | | B | E1 | E2 | E3 | Ia | Ib | K | V | |
| 22 R 80 | K 12-RCW * | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| 20 R 675 | K 12-Col E1 | S | R | S | S | S | S | S | S | S |
| 20 R 676 | K 12-Col E2 | S | S | R | S | S | S | S | S | S |
| 22 R 81 | K 12-Col I | S | S | S | S | R | R | S | R | R |
| 22 R 82 | K 12-Col Ia | S | S | S | S | R | S | S | S | S |
| 22 R 83 | K 12-Col Ib | S | S | S | S | S | R | S | S | S |
| 20 R 914 | K 12-ROW-K ^I | S | S | S | S | S | S | R | S | S |
| 20 R 915 | K 12-V ^I | R | S | S | S | S | S | S | S | R |

* Linhagem padrão colicina sensível
S = sensível R = resistente

RESULTADOS

Aplicando-se o processo de codificação numérica dos perfis de resistência, no cômputo geral foram evidenciados 56 códigos ou biotipos antimicrobianos. Observa-se, nos resultados apresentados na Tabela III, que no Rio de Janeiro foram caracterizados 20 biotipos antimicrobianos, sendo de maior expressividade os códigos 16013, nas amostras humanas; 77777, em água de esgoto e 77773, em água de mar.

Em São Paulo, entre os 19 biotipos reconhecidos, destacam-se os códigos 36012, nas amostras humanas; 77773, em alimentos e 77777, em água de mar (Tabela IV).

Nas amostras de origem humana e de água de esgoto provenientes de Minas Gerais (Tabela V), sobressai o biotipo 77777, entre os 12 códigos detectados.

No que concerne às amostras de Pernambuco (Tabela VI) salientam-se os códigos 77773 e 77777 quando isolados de alimentos e, 77777 naquelas de procedência humana, considerando-se os 18 biotipos antimicrobianos definidos.

Por outro lado, para o Rio Grande do Sul (Tabela VII) observa-se uma maior concentração no biotipo antimicrobiano 77773 entre os 9 códigos encontrados.

Em relação à evidenciação de colicina, 16,6% das cepas apresentaram atividade colicinogênica (Tabela VIII), destacando-se a produção de colicina dos tipos Ia e Ib nas estirpes de fontes não humanas e a do tipo B naquelas de procedência humana. Curiosamente, a colicina Ia só foi reconhecida nas amostras oriundas de Pernambuco.

Nas Tabelas IX e X, faz-se uma tentativa de relacionar o tipo de colicina com o biotipo antimicrobiano, que todavia não demonstrou detalhes passíveis de uma maior correlação de natureza epidemiológica.

TABELA III

Biotipos antimicrobianos encontrados no Estado do Rio de Janeiro (RJ)

| Códigos | Fontes | | | | Total | |
|---------|--------|----------------|-------------|-----------|-------|-------|
| | Humana | Água de esgoto | Água de mar | Alimentos | Nº | % |
| 06053 | 2 | — | — | — | 2 | 4,34 |
| 06056 | 1 | — | — | — | 1 | 2,17 |
| 06057 | 2 | — | — | — | 2 | 4,34 |
| 16013 | 6 | 2 | — | — | 8 | 17,39 |
| 16017 | 2 | — | — | — | 2 | 4,34 |
| 16052 | 1 | — | — | — | 1 | 2,17 |
| 16056 | — | — | 1 | — | 1 | 2,17 |
| 16057 | 2 | — | — | — | 2 | 4,34 |
| 17053 | — | 1 | — | — | 1 | 2,17 |
| 17056 | 1 | — | — | — | 1 | 2,17 |
| 27257 | 1 | — | — | — | 1 | 2,17 |
| 37317 | 1 | — | — | — | 1 | 2,17 |
| 37777 | — | — | 1 | — | 1 | 2,17 |
| 76752 | — | 1 | — | — | 1 | 2,17 |
| 77752 | — | — | 1 | — | 1 | 2,17 |
| 77753 | — | 1 | 3 | — | 4 | 8,69 |
| 77772 | — | 2 | 1 | 1 | 4 | 8,69 |
| 77773 | — | 2 | 4 | — | 6 | 13,04 |
| 77776 | — | 1 | — | — | 1 | 2,17 |
| 77777 | — | 4 | — | 1 | 5 | 10,86 |
| Total | 19 | 14 | 11 | 2 | 46 | 99,90 |

TABELA IV

Biotipos antimicrobianos encontrados no Estado de São Paulo (SP)

| Códigos | Fontes | | | Total | |
|---------|--------|-------------|-----------|-------|-------|
| | Humana | Água de mar | Alimentos | Nº | % |
| 16152 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 16312 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 32112 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 36012 | 9 | — | 1 | 10 | 18,86 |
| 36052 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 36112 | 2 | — | — | 2 | 3,77 |
| 36312 | 1 | — | 1 | 2 | 3,77 |
| 36352 | 2 | — | — | 2 | 3,77 |
| 36412 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 36512 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 37012 | — | — | 1 | 1 | 1,88 |
| 37777 | — | — | 1 | 1 | 1,88 |
| 76353 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 77733 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 77757 | 1 | — | — | 1 | 1,88 |
| 77772 | — | — | 1 | 1 | 1,88 |
| 77773 | 2 | 4 | 6 | 12 | 22,64 |
| 77776 | — | 1 | — | 1 | 1,88 |
| 77777 | 1 | 8 | 3 | 12 | 22,64 |
| Total | 26 | 13 | 14 | 53 | 98,68 |

DISCUSSÃO

Considerando-se que o ponto de partida do processo evolutivo de *S. agona* esteve representado pela contaminação de farinha de peixe peruana nos países em que foi inicialmente detectada, é importante frisar que este produto representa apenas de 2 a 10% dos ingredientes componentes da ração animal (Clark, Kaufmann & Gangarosa, 1973), o que faz supor que outros fatores devem ter concorrido para a propagação desta salmonela.

Assim, pode-se admitir os seguintes aspectos atuando, concomitantemente ou não, na amplitude do nível de contaminação: 1 — o desenvolvimento de infecções inaparentes ou assintomáticas dos animais, decorrentes da ingestão de rações contendo um número discreto de salmonelas viáveis (Smith, 1960); 2 —

TABELA V

Biotipos antimicrobianos encontrados no Estado de Minas Gerais (MG)

| Códigos | Fontes | | | Total | |
|--------------|----------|----------------|-----------|-----------|--------------|
| | Humana | Água de esgoto | Alimentos | Nº | % |
| 37672 | — | — | 1 | 1 | 2,12 |
| 57752 | — | — | 1 | 1 | 2,12 |
| 57773 | — | — | 1 | 1 | 2,12 |
| 57776 | — | 1 | — | 1 | 2,12 |
| 73672 | — | — | 1 | 1 | 2,12 |
| 73677 | — | — | 1 | 1 | 2,12 |
| 77677 | — | — | 1 | 1 | 2,12 |
| 77753 | 1 | 4 | 1 | 6 | 12,75 |
| 77772 | — | — | 2 | 2 | 4,25 |
| 77773 | 2 | 8 | 2 | 12 | 25,53 |
| 77776 | — | 3 | — | 3 | 6,38 |
| 77777 | 5 | 11 | 1 | 17 | 36,17 |
| Total | 8 | 27 | 12 | 47 | 99,92 |

TABELA VI

Biotipos antimicrobianos encontrados no Estado de Pernambuco (PE)

| Códigos | Fontes | | | | Total | |
|--------------|-----------|----------------|----------|-----------|-----------|--------------|
| | Humana | Água de esgoto | Fômites | Alimentos | Nº | % |
| 37377 | 1 | — | — | — | 1 | 1,31 |
| 37776 | 1 | — | — | 1 | 2 | 2,63 |
| 56653 | — | — | — | 1 | 1 | 1,31 |
| 67777 | 1 | — | — | — | 1 | 1,31 |
| 73676 | 1 | — | — | — | 1 | 1,31 |
| 73772 | — | — | — | 2 | 2 | 2,63 |
| 73773 | — | 1 | — | — | 1 | 1,31 |
| 77373 | 1 | — | — | — | 1 | 1,31 |
| 77663 | 1 | — | — | — | 1 | 1,31 |
| 77673 | 2 | — | — | — | 2 | 2,63 |
| 77677 | 2 | — | — | — | 2 | 2,63 |
| 77752 | — | — | — | 1 | 1 | 1,31 |
| 77753 | — | 1 | — | — | 1 | 1,31 |
| 77763 | — | — | — | 2 | 2 | 2,63 |
| 77772 | 1 | 2 | — | 5 | 8 | 10,52 |
| 77773 | 3 | 2 | — | 19 | 24 | 31,57 |
| 77776 | — | — | 3 | 3 | 6 | 7,89 |
| 77777 | 5 | — | 3 | 11 | 19 | 25,00 |
| Total | 19 | 6 | 6 | 45 | 76 | 99,92 |

TABELA VII

Biotipos antimicrobianos encontrados nas amostras humanas do Estado do Rio Grande do Sul (RS)

| Códigos | Total | |
|--------------|-----------|--------------|
| | Nº | % |
| 37676 | 1 | 5,55 |
| 37773 | 1 | 5,55 |
| 73256 | 1 | 5,55 |
| 77676 | 1 | 5,55 |
| 77752 | 1 | 5,55 |
| 77772 | 1 | 5,55 |
| 77773 | 7 | 38,88 |
| 77776 | 2 | 11,11 |
| 77777 | 3 | 16,66 |
| Total | 18 | 99,96 |

TABELA VIII

Produção de bacteriocinas nas 240 culturas de *S. agona* segundo as fontes de isolamento

| Fontes | Tipos de bacteriocinas | | | | | | | | Não produtoras de bacteriocina | | Total | |
|----------------|------------------------|-------------|-----------|-------------|----------|-------------|----------|-------------|--------------------------------|--------------|------------|------------|
| | B | | Ia | | Ib | | N. T.* | | Nº | % | Nº | % |
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | | | | |
| Humana | 12 | 13,33 | — | — | 1 | 1,11 | 1 | 1,11 | 76 | 84,44 | 90 | 100 |
| Água de esgoto | — | — | 2 | 4,25 | — | — | — | — | 45 | 95,74 | 47 | 100 |
| Água de mar | 1 | 4,16 | — | — | — | — | — | — | 23 | 95,83 | 24 | 100 |
| Alimentos | — | — | 15 | 20,54 | 3 | 4,10 | — | — | 55 | 75,34 | 73 | 100 |
| Fômites | — | — | 5 | 83,33 | — | — | — | — | 1 | 16,66 | 6 | 100 |
| Total | 13 | 5,41 | 22 | 9,16 | 4 | 1,66 | 1 | 0,41 | 200 | 83,33 | 240 | 100 |

* N. T. – Não tipável

TABELA IX

Relação entre origem, fonte, número de amostras, bacteriocina e biotipo antimicrobiano das culturas de *S. agona* isoladas nos Estados do Rio de Janeiro (RJ), São Paulo (SP), Minas Gerais (MG) e Rio Grande do Sul (RS)

| Origem | Fonte | Número de amostras | Bacteriocina | Biotipo antimicrobiano | | | | | | | | | | |
|--------|-------------|--------------------|--------------|------------------------|----|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|--|
| RJ | Humana | 6 | B | 16013 | BB | AM | CR | S | GM | K | SIS | SXT | FO* | |
| | Humana | 2 | B | 16017 | BB | AM | CR | S | GM | K | SIS | SXT | | |
| | Humana | 1 | B | 17056 | BB | AM | S | GM | K | SIS | TE | | | |
| | Humana | 1 | B | 37317 | AM | K | SIS | SXT | | | | | | |
| | Água de mar | 1 | B | 16056 | AM | CR | S | GM | K | SIS | TE | | | |
| SP | Humana | 1 | NT** | 36012 | AM | CR | S | GM | K | SIS | SXT | TE | FO | |
| | Alimentos | 1 | Ib | 77772 | TE | FO | | | | | | | | |
| MG | Alimentos | 1 | Ib | 73672 | C | S | TE | FO | | | | | | |
| | Alimentos | 1 | Ib | 73677 | C | S | | | | | | | | |
| RS | Humana | 1 | B | 37773 | AM | FO | | | | | | | | |
| | Humana | 1 | Ib | 77777 | — | | | | | | | | | |

*Perfil de resistência

**Não tipável

TABELA X

Relação entre fonte, número de amostras, bacteriocina e biotipo antimicrobiano das culturas de *S. agona* isoladas no Estado de Pernambuco (PE)

| Fonte | Número de amostras | Bacteriocina | Biotipo antimicrobiano | | | |
|----------------|--------------------|--------------|------------------------|-----|----|----|
| Humana | 1 | B | 37377 | AM | K | * |
| Água de esgoto | 1 | Ia | 77772 | TE | FO | |
| Água de esgoto | 1 | Ia | 77773 | FO | | |
| Alimentos | 1 | Ia | 37776 | AM | TE | |
| Alimentos | 2 | Ia | 73772 | C | TE | FO |
| Alimentos | 1 | Ia | 77752 | SIS | TE | FO |
| Alimentos | 3 | Ia | 77772 | TE | FO | |
| Alimentos | 1 | Ia | 77773 | FO | | |
| Alimentos | 2 | Ia | 77776 | TE | | |
| Alimentos | 5 | Ia | 77777 | — | | |
| Fômites | 3 | Ia | 77776 | TE | | |
| Fômites | 2 | Ia | 77777 | — | | |

* Perfil de resistência

promiscuidade, entre os animais portadores e sãos, existente em áreas de criação intensiva, nos deslocamentos pelos sistemas de transporte e, finalmente, nos matadouros (Hansen et al., 1964 e Haddock, 1970); 3 — fatores estressantes que ocorrem, principalmente, durante a fase de transporte dos animais até as áreas de beneficiamento (Williams & Newell, 1970); 4 — implantação de salmonelas no ambiente do matadouro, originárias de animais aparentemente normais (Chung & Frost, 1969; Groves, Fish & Barnum, 1970; Costa

et al., 1972 e Zebral, Freitas & Hofer, 1974); 5 – contaminação de carcaças (Galton et al., 1974); 6 – eliminação de microrganismo para o meio exterior através de efluentes residuais dessas indústrias (Leclerc & Oger, 1975).

Desse modo é fácil denotar a gama de elementos de diversas naturezas envolvidos, direta ou indiretamente, nesta complexa cadeia de transmissão de *Salmonella*.

Por outro lado, quando Darwin & Wallace (apud Watson, 1973) propuseram a teoria da evolução biológica, fundamentaram-se na seleção natural exercida sobre os seres vivos mais aptos para a sobrevivência, consignando que os diferentes indivíduos não perpetuam plenamente todas as suas características, sofrendo por conseguinte gradativas alterações impostas por vários mecanismos.

O mundo microbiano não foge a esta regra pois os seus constituintes revelam, em espaço de tempo relativamente curto, as influências exercidas pelas variações fenotípicas e genotípicas ou mutação, ressaltando-se, principalmente os fenômenos de transferência genética, englobando as propriedades de conjugação, transdução, conversão lisogênica e ação de plasmídios. A intervenção de um dos mecanismos assinalados na célula bacteriana é capaz de conferir novas características para uma população, através da adição ou modificação de elementos estruturais.

Uma das primeiras facetas explícitas desse problema reside no uso indiscriminado de drogas com propriedades antibióticas, aplicadas em várias circunstâncias no homem, animais e alimentos, implicando desta forma na ação dinâmica de seleção natural exercida por estes indutores sobre alguns constituintes de populações bacterianas.

Com base nesta premissa, a etapa inicial da investigação concentrou-se em analisar os perfis da sensibilidade e resistência da amostragem de *S. agona* frente a 15 antimicrobianos, elaborando-se, em seguida, um sistema de codificação numérica que evidenciasse, de forma imediata, os resultados obtidos, o que permitiu o reconhecimento de 56 códigos em biotipos antimicrobianos.

As Tabelas III a VII retratam esta codificação, correlacionando-a com os locais e as fontes de isolamento. Dentre os aspectos mais oportunos de um enfoque neste campo, assinalam-se as maiores frequências dos perfis 77773 (25,41%) e 77777 (21,25%) ocorrendo na maioria das fontes de isolamento e origens, e traduzindo, respectivamente, apenas resistência à Fosfomicina e sensibilidade total aos antimicrobianos.

Sobressaindo a este resultado, enfatizam-se os perfis que parecem estar intrinsecamente relacionados, seja a fonte e/ou região de isolamento. Neste sentido, no Rio de Janeiro (Tabela III) se observa, em comparação aos demais resultados apresentados nas Tabelas IV a VII, a peculiaridade da frequência do perfil 16013 (17,39%) incidindo basicamente nas amostras de origem humana.

Nas estirpes provenientes do Estado de São Paulo (Tabela IV) destaca-se também a origem humana, revelando o código 36012 com percentual de 18,86.

No tocante a Minas Gerais (Tabela V) pode-se valorizar o código 77753 (12,75%), incidente nas amostras provenientes de fonte humana, água de esgoto e alimentos, detectado também, com certo destaque, em águas de mar e esgoto do Rio de Janeiro (Tabela III).

O código 77772, nas *S. agona* isoladas em Pernambuco (Tabela VI) é aquele que apresenta uma relação mais íntima com o local de isolamento, considerando como base a taxa obtida (10,52%) abrangendo três fontes analisadas: humana, água de esgoto e alimentos.

Na Tabela VII, correspondendo às culturas de origem humana, originárias do Estado do Rio Grande do Sul, se particulariza o código 77776 (11,11%), cujo perfil não foi detectado em material humano proveniente de outros Estados mas apenas nas demais fontes (Tabela III a VI).

A evidência de numerosos códigos favorece em determinadas circunstâncias a tipificação regionalizada, algumas vezes associada a nível de fonte de isolamento, constituindo-se desta forma um elemento de considerável valor no critério de rastreamento epidemiológico de *S. agona*.

Outro marcador epidemiológico adicional escolhido, correspondeu à pesquisa de colicina (Tabela VIII). Como primeiro enfoque, ressalta-se que 16,6% das culturas de *S. agona* foram bacteriocinogênicas, resultado este concordante com aquele obtido por Barker, Old & Tyc (1982). Salienta-se essa taxa em relação a outras salmonelas em que autores consideram para *S. typhimurium* um percentual correspondente a 10 e para outros sorotipos, taxas menores que 5% (Hamon & Peron, 1966) e 11,8% para *S. typhimurium* (Barker, 1980).

Quando se observa o número de culturas positivas para produção de colicina dentre os tipos identificados (Tabela VIII), é possível definir três pontos importantes, confrontando-se com resultados de Barker, Old & Tyc (1982) em *S. agona* e Barker (1980) em *S. typhimurium*: 1. reconhecimento dos mesmos tipos colicinogênicos (B, Ia e Ib); 2. inversão de taxas obtidas em relação a Ia e Ib; e 3. elevada incidência do tipo B. Assinala-se como aspecto interessante que as culturas foram obtidas de fontes semelhantes, como humana, animal e ambiental, caracterizando a existência de outro parâmetro incidente do problema, representado pela área geográfica.

Os autores citados não propõem correlações entre o tipo identificado e a fonte de isolamento, entretanto, em nosso caso nota-se uma relação de predominância do tipo B com a fonte humana, principalmente do Rio de Janeiro, e Ia e Ib com alimentos (Tabelas IX e X). A colicina Ia prevaleceu em Pernambuco, sendo reconhecida nas amostras de carne de eqüinos, fômites e água de esgoto provenientes de mata-

douros (Tabela X), enquanto que a Ib foi detectada em alimentos oriundos de Minas Gerais e São Paulo (Tabela IX).

A tentativa de estabelecer uma relação entre os biotipos antimicrobianos e a presença de colicina, não foi possível em função da heterogeneidade de resistência e mesmo sensibilidade total aos antimicrobianos, provavelmente sugerindo que os determinantes genéticos são distintos (Tabela IX e X).

Os resultados obtidos permitem afirmar que o biotipo antimicrobiano, marcador acessível aos laboratórios de rotina, e o tipo de colicina, marcador de execução em laboratórios mais especializados, se constituem, isolada ou associadamente, em instrumentos adjuvantes no rastreamento epidemiológico de *S. agona*.

SUMMARY

With the purpose of characterizing epidemiologic markers, 240 strains of *S. agona* isolated from different sources (man, food and environment) and obtained from five Brazilian States (Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Pernambuco and Rio Grande do Sul) were analysed. The susceptibility to 15 antimicrobial agents and numeric codification of the resistance profiles allowed us to recognize 56 antibiotic resistance biotypes, while 40 strains were able to produce colicine, belonging to the types: Ia (55%); B (32.5%); Ib (10%) and untypable (2.5%). The application of these elements into intra-serotype differentiation is discussed.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos a Dra. Ana Carolina Paulo Vicente, do Laboratório de Fisiologia Celular do Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela colaboração na tipagem de colicina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUSZ, Z., 1979. *Salmonella* hospital infections in Poland in the years 1972-1977. *Przegl. Epidemiol.* 33 (1) :9-27.
- BARKER, R.M., 1980. Colicinogeny in *Salmonella typhimurium*. *J. Gen. Microbiol.* 120 :21-26.
- BARKER, R.; OLD, D.C. & TYC, S., 1982. Differential typing of *Salmonella agona*: type divergence in a new serotype. *J. Hyg. Camb.*, 88 :413-423.
- BARTOLOZZI, G.; CIAMPOLINI, M.; BERNINI, G.; BOCCADORO, S. & CAROLI, G., 1976. Su un'epidemia di nuovo tipo di *Salmonella (S. agona)*. *Minerva Pediatrica* 28 (40) :2455-2470.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Path.* 45 :493-496.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL, 1979. *Salmonella* surveillance. Annual summary.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL, 1981. *Morbidity and Mortality Weekly Rep.* 30 (31) :377-379.
- CHUNG, G.T. & FROST, A.J., 1969. The occurrence of salmonellae in slaughtered pigs. *Aust. Vet. J.* 45 :350-353.
- CLARK, G.M.; KAUFMANN, A.F. & GANGAROSA, E.J., 1973. Epidemiology of an international outbreak of *Salmonella agona*. *Lancet II* (1827) :490-493.
- COSTA, G.A.; HOFER, E.; COSTA, M.D.M.; SILVA, J.A.H.; SANTOS, J.V. & DORIA, J.D., 1972. Sobre o isolamento de salmonelas de gânglios linfáticos de suínos abatidos no matadouro da cidade de Salvador - Bahia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 70 (3) :417-431.
- FERREIRA, M.D., 1976. Pesquisa de *Salmonella* em águas superficiais de Belo Horizonte. Tese apresentada ao Colegiado do Curso de Mestrado de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da U.F.M.G.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1981. Code of federal regulations. Antibiotic drugs intended for use in laboratory diagnosis of disease. 21 :721-726.
- GALTON, M.M.; SMITH, W.V.; McELRATH, H.B. & HARDY, A.B., 1974. *Salmonella* in swine, cattle and environment of abattoirs. *J. Infect. Dis.* 95 :236-245.
- GROVES, B.I.; FISH, N.A. & BARNUN, D.A., 1970. An epidemiological study of *Salmonella* infection in swine in Ontario. *Can. J. Publ. Hlth.* 61 :396-401.
- GUINÉE, P.A.M.; KAMPELMACHER, E.H. & WILLEMS, H.M.C.C., 1961. Six new *Salmonella* types isolated in Ghana (*S. volta*, *S. agona*, *S. wa*, *S. techimani*, *S. mampong* and *S. tafo*). *J. Microbiol. Serol. Antonie Van Leeuwenhoek* 27 (4) :469-472.
- HADDOCK, R.L., 1970. Asymptomatic salmonellosis in a swine herd. *Am. J. Publ. Hlth.* 60 :2345-2353.
- HAMON, Y. & PÉRON, Y., 1966. La propriété bactériocinogène dans la Tribu des *Salmonelleae*. *Ann. Inst. Pasteur* 110 (3) :389-402.
- HANSEN, R.; ROGERS, R.; EMGE, S. & JACOBS, N.J., 1964. Incidence of *Salmonella* in the hog colon as affected by handling practices prior to slaughter. *J. Am. Vet. Ass.* 145 :139-140.
- LECLERC, H. & OGER, C., 1975. Les eaux usées des abattoirs et leur importance épidémiologique. *Rev. Epidém. Med. Soc. et Santé Publ.* 23 (7-8) :429-444.
- MARTINS, M.T., 1979. *Salmonella* no ambiente aquático: significado sanitário. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da U.S.P.
- MIRANDA, J.B.N.; PESSOA, G.V.A.; IRINO, K. & CALZADA, C.L., 1978. Ocorrência de *Salmonella* em farinhas utilizadas como matéria-prima na composição de rações de animais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 38 (2) :157-160.
- OZFKI, H.; STOCKER, B.A.D. & SMITH, S.M., 1962. Transmission of colicinogeny between strains of *Salmonella typhimurium* grown together. *J. Gen. Microbiol.* 28 :671-687.

- PESSOA, G.V.A.; IRINO, K.; CALZADA, C.T.; MELLES, C.E.A. & KANO, E., 1978. Ocorrência de bactérias enteropatógenicas em São Paulo no septênio 1970-76. I – Sorotipos de *Salmonella* isolados e identificados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 38 (2) :87-105.
- POPOVICI, M.; SZEGLI, L.; SOARE, L.; NEGUT, M.; CALIN, C.; FLORESCU, N. & MANOLACHE, D., 1979. Modifications in the epidemiological evolution of some serotypes of *Salmonella*. *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.* 35 (3) :181-186.
- SMITH, H.W., 1960. The effect of feeding pigs on food naturally contaminated with salmonellae. *J. Hyg. Camb.* 58 :381-389.
- WATSON, J.D., 1973. *Biologie Moleculaire du Gene*. 2ème ed. Inter European Editions, Amsterdam.
- WILLIAMS, L.P. & NEWELL, K.W., 1970. *Salmonella* excretion in joyriding pigs. *Am. J. Publ. Hlth.* 60 :926-929.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974a. *Salmonella* surveillance. Reports received from Centers participating in the WHO Programme. *Annex. I* :10.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1974b. *Salmonella* surveillance. *Wkly. Epidem. Rec.* (51/52) :421-436.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1975. *Salmonella* surveillance. *Wkly. Epidem. Rec.* (52) :437-443.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1977. *Salmonella* surveillance. *Wkly. Epidem. Rec.* (27) :226.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1979. *Salmonella* surveillance. *Wkly. Epidem. Rec.* (4) :29.
- ZEBRAL, A.A.; FREITAS, C.A. & HOFER, E., 1974. Ocorrência de *Salmonella* em gânglios linfáticos de suínos aparentemente normais, abatidos no matadouro de Santa Cruz, Cidade do Rio de Janeiro, Guanabara. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 72 (3/4) :223-235.