

- 9) HAJEK, V. (1978).—Identification of enterotoxigenic staphylococci from sheep and sheep cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**: 264-268.
- 10) KLECK, J. L. y DONAHUE, J. A. (1968).—Production of thermostable hemolysin by cultures of *S. epidermidis*. *J. Infect. Dis.*, **181**: 317-323.
- 11) KLOOS, W. E. y SCHLEIFER, K. H. (1975).—Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II. Description of four new species: *S. uarneri*, *S. capitis*, *S. hominis* y *S. simulans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **25**: 62-79.
- 12) KLOOS, W. E., SCHLEIFER, K. H. y NOBLE, W. C. (1976).—Estimation of character parameters in coagulase negative *Staphylococcus* species. En *Staphylococci and staphylococcal diseases*, Proceedings of the IIIrd International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections, J. JELJASZEWICK (editor), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 23-41.
- 13) MOLBY, R. y WADSTROM, T. (1971).—Separation of gamma hemolysin from *S. aureus* Smith 5R. *Infect. Immun.*, **3**: 633-635.
- 14) LERNAU, H., BLAZER, R. y SOMPOLINSKY, D. (1961).—The aetiological investigation of an outbreak of staphylococcal mastitis in a flock of sheep. *Refuah vet.*, **18**: 50-51.
- 15) NAKAGAWA, M. (1958).—Studies on staphylococci from the bovine udder. I. Biological characteristics of staphylococci and some observations on the pathogenic strains. *Jap. J. Vet. Res.*, **6**: 19-34.
- 16) OEDING, P., HAJEK, V. y MARSALIK, E. (1976).—A comparison of antigenic structure and phage pattern with biochemical properties of *S. aureus* strains isolated from sheep. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B*, **84**: 61-65.
- 17) PAPAVALASSIOU, J. y DENDRINOS, Th. (1970).—Recherche de *S. aureus* dans les selles des animaux. *Arch. Inst. Pasteur Hell.*, **16**: 61-70.
- 18) ROGOLSKY, M. (1980).—Nonenteric toxins of *S. aureus*. *Microbiol. Rev.*, **43**: 320-336.
- 19) SCHLEIFER, K. H. y KLOOS, W. E. (1975).—Isolation and characterization of staphylococci from human skin. I. Amended description of *S. epidermidis* and *S. saprophyticus* and descriptions of three new species: *S. cohnii*, *S. haemolyticus* and *S. xylosum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **25**: 50-61.
- 20) SCOTT, F. M., FRASER, J. y MARTIN, W. B. (1980).—Staphylococcal dermatitis in sheep. *Vet. Rec.*, **107**: 572-574.
- 21) SMITH, M. L. y PRICE, S. A. (1938).—Staphylococcus gamma haemolysin. *J. Pathol. Bacteriol.*, **47**: 379-393.
- 22) TAMARIN, R. (1972).—A study of *S. aureus* isolated from cases of ovine mastitis. *Refuah vet.*, **29**: 132-146.
- 23) THELESTAM, M. (1976).—Effect of *S. aureus* haemolysins on the plasma membrane of cultured mammalian cells. En *Staphylococci and staphylococcal diseases*, Proceedings of the IIIrd International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections, J. JELJASZEWICK (editor), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York, 679-690.
- 24) TURNER, W. H. y PICKARD, O. J. (1980).—A new haemolysin from *S. aureus* which lyses horse erythrocytes. *J. Gen. Microbiol.*, **116**, 237-241.
- 25) WISEMAN, G. M. (1975).—The hemolysins of *S. aureus*. *Bacteriol. Rev.*, **39**: 317-344.

PRODUCCION DE GELATINASA Y DE LISOZIMA, FERMENTACION DEL MANITOL Y REACCION EN YEMA DE HUEVO EN ESTAFILOCOCOS AISLADOS DE ABSCESOS EN INSPECCION DE CARNES Y SU RELACION CON LA PRODUCCION DE COAGULASA Y DE TERMONUCLEASA

Por I. Menes,
M. L. García y
B. Moreno

INTRODUCCION

Las dificultades en el ensayo de la capacidad infectiva y enterotoxigénica de los estafilococos han sido la causa de que se hayan estudiado una serie de propiedades bioquímicas y fisiológicas de fácil determinación, en busca de posibles correlaciones positivas. En este sentido, tienen máxima importancia la producción de coagulasa y de termonucleasa, siendo mucho más problemáticas, por ejemplo, la fermentación del manitol en anaerobiosis, la producción de gelatinasa y de lisozima, y la reacción en yema de huevo. Las opiniones más actuales, sin embargo, coinciden en que la patogenicidad de los estafilococos no está relacionada con ningún enzima ni toxina concretos, sino más bien con un amplio conjunto de estas sustancias^{1 11 43}.

Algunas de las propiedades antes mencionadas han sido utilizadas también con fines taxonómicos e incluso como criterios diferenciales y diagnósticos en los propios medios de aislamiento^{2 3 6 27}. Las clasificaciones más actuales, que amplían considerablemente el número de especies en el género *Staphylococcus*^{4 23 24 25 35}, no incluyen, sin embargo, como criterios de clasificación las propiedades citadas, objeto de nuestro estudio. Tampoco se utilizan estas propiedades en la clasificación de los estafilococos en biotipos según las especies animales de procedencia¹⁸.

El objeto de este trabajo es presentar los resultados obtenidos en cuanto a la producción de gelatinasa y de lisozima, la fermentación del manitol en anaerobiosis y la reacción en yema de huevo por parte de 71 cepas de

estafilococos aisladas de abscesos de diferentes especies animales en inspección de carnes. Se relacionan también estos resultados con la clasificación en especies de las mencionadas cepas por nosotros realizada³⁰. Se estudia asimismo el grado de correlación existente entre estas propiedades y la producción de coagulasa y de DNAsa termostable.

MATERIAL Y METODOS

Cepas de estafilococos

Las 71 cepas de estafilococos cuyas propiedades enzimáticas se estudian en este trabajo habían sido aisladas por nosotros³⁰ a partir de abscesos encontrados en inspección de carnes en ganado vacuno, ovino y caprino. De estas cepas, 30 habían sido clasificadas como *S. aureus*, 2 como *S. intermedius*, 3 como *S. simulans*, 3 como *S. epidermidis*, 2 como *S. capitis*, 5 como *S. hominis*, 3 como *S. warneri*, 2 como *S. haemolyticus*, 1 como *S. saprophyticus*, 1 como *S. cohnii* y 4 como *S. xylosus*. Las 15 cepas restantes corresponden a no clasificadas.

Fermentación del manitol en anaerobiosis

Para la realización de esta prueba se siguió la técnica recomendada por el Subcommittee on Taxonomy of Staphylococci and Micrococci³⁷, cuidando de modo especial la siembra de inóculos suficientes y hasta el fondo de los tubos. Los cultivos se incubaron en una jarra para anaerobios Gas-Pak (BBL) a 37°C durante 5 días. En alguna ocasión, la incubación se prolongó durante dos semanas a fin de observar posibles cepas fermentadoras lentas¹⁹. Se consideraron como fermentadores del manitol los cultivos que presentaban un cambio al amarillo en todo el medio y como negativos aquellos en que no se apreciaba ningún cambio del color púrpura original. En un número muy reducido de casos, el viraje del color del medio era sólo parcial (rojizo-amarillento) y estas cepas fueron consideradas como fermentadoras débiles. El pH de estos últimos cultivos oscilaba entre 6,2 y 6,5.

Producción de gelatinasa

Se investigó en CHAPMAN-STONE Medium (Difco) por siembra en estría e incubación a 30°C durante 48 horas. Se consideraron como positivas las cepas que producían un halo de aclaramiento del medio mayor de 2 mm, medidos desde el borde de la estría de crecimiento, como débilmente positivas cuando aparecía una zona de aclaramiento parcial menor de 2 mm y como negativas en los casos en que no se observaba ningún aclaramiento del medio.

Producción de lisozima

Esta propiedad se ensayó por la técnica de ROSKEY y HAMDY³⁴, técnica que es una modificación de las descritas previamente por GROSSGEBAUER *et al.*¹² y JAY²⁰. Se utilizó como substrato Lisozyme Substrate (Difco). Las siembras se realizaron por estría y la incubación se llevó a cabo a 37°C durante 48 horas. En la interpretación de los resultados, se tuvo en cuenta el tamaño de la zona de lisis, así como la intensidad de la misma. Se consideraron como positivas de producción de lisozima las cepas que presentaban una lisis mayor de 2 mm, medidos desde el borde de la estría de crecimiento, siendo ésta clara en cuanto a su intensidad, como débilmente positivas aquéllas en las que el halo de lisis era menor de 2 mm, y como negativas las que no presentaban ningún aclaramiento del medio.

Reacción en yema de huevo

Se estudió en el medio de BAIRD-PARKER (Difco) conteniendo 5 % de emulsión yema de huevo-telurito potásico (Difco), en placas de Petri de fondo plano de 10 cm de diámetro con 10 ml de medio por placa. Las siembras se realizaron por depósito de un asa de un cultivo de 18 horas en caldo BHI sobre la superficie del medio. La incubación se llevó a cabo a 37°C durante 48 horas, haciéndose las lecturas a las 24 y 48 horas, refiriéndose los resultados a esta última lectura. Se consideraron como yema de huevo positivas las cepas que presentaban aclaramiento del medio o aclaramiento primero y posterior opacidad y brillo superficial, y como negativas las que no producían ninguno de estos cambios.

RESULTADOS

En la Tabla I se presentan los resultados globalizados relativos a las propiedades estudiadas. Como puede observarse, el 46,43 % de las cepas fermentaron el manitol, el 49,29 % no lo hicieron y el 4,23 % restante fueron clasificadas como fermentadoras débiles. En cuanto a la producción de gelatinasa, el 19,71 % fueron positivas, el 25,36 % débilmente positivas y el 54,93 % negativas. Por lo que se refiere a la producción de lisozima, el 43,67 % fueron clasificadas como positivas, el 22,53 % como débilmente positivas y el 33,80 % como negativas. Finalmente, en relación con la reacción en yema de huevo, el 54,92 % fueron yema de huevo positivas y el 45,08 % negativas.

Los datos referentes a todas estas propiedades en relación con la clasificación en especies de las cepas de estafilococos estudiadas se presentan en las Tablas II y III, que comprenden la primera las cepas coagulasa positivas y la segunda las coagulasa negativas.

TABLA I
Resultados de las pruebas de fermentación del manitol en anaerobiosis, de producción de gelatinasa y de lisozima, y de la reacción en yema de huevo

	Cepas positivas	Cepas debilmente positivas	Cepas negativas
Manitol	33 (46,43) ^a	3 (4,23)	35 (49,29)
Gelatinasa	14 (19,71)	18 (25,36)	39 (54,93)
Lisozima	31 (43,67)	16 (22,53)	24 (33,80)
Yema de huevo	39 (54,92) ^b		32 (45,08)

^a Las cifras entre paréntesis indican %.

^b De las cepas positivas en yema de huevo, las 39 producían aclaramiento y 31 de ellas además opacidad y brillo metálico.

TABLA II
Resultados de las pruebas de fermentación del manitol en anaerobiosis, de producción de gelatinasa y de lisozima y de la reacción en yema de huevo de las 35 cepas de estafilococos coagulasa positivos agrupados en especies

Especie	N.º	Manitol			Gelatinasa			Lisozima			Yema de huevo	
		+	D ^b	-	+	D	-	+	D	-	+	-
<i>S. aureus</i>	30	25	2	3	10	9	11	15	13	2	17	13
<i>S. intermedius</i>	2			2	2			2				2
N. C. ^a	3	2		1			3	1	1	1	1	2
Total	35	27	2	6	12	9	14	18	14	3	18	17

^a N. C. = Cepas no clasificadas.

^b D = Débilmente positivo.

TABLA III
Resultados de las pruebas de fermentación del manitol en anaerobiosis, de producción de gelatinasa y de lisozima y de la reacción en yema de huevo de las 36 cepas de estafilococos coagulasa negativos agrupados en especies

Especie	N.º	Manitol			Gelatinasa			Lisozima			Yema de huevo	
		+	D ^b	-	+	D	-	+	D	-	+	-
<i>S. simulans</i>	3	3				1	2	3			2	1
<i>S. haemoliticus</i>	2			2			2	1		1	1	1
<i>S. hominis</i>	5			5	1	1	3	3	1	1	3	2
<i>S. epidermidis</i>	3			3	1	1	1			3	2	1
<i>S. capitis</i>	2	1		1			2			2	2	
<i>S. warnei</i>	3		1	2			3			3	1	2
<i>S. xylosum</i>	4			4			4	4				4
<i>S. cohnii</i>	1			1			1			1	1	
<i>S. saprophyticus</i>	1			1			1	1				1
N. C. ^a	12	2		10		6	6	1	1	10	9	3
Total	36	6	1	29	2	9	25	13	2	21	21	15

^a N. C. = Cepas no clasificadas.

^b D = Débilmente positiva.

DISCUSION

La fermentación del manitol en anaerobiosis es una propiedad que, aún no presentándose de modo uniforme en estafilococos coagulasa positivos, es más constante en las cepas de origen humano que en las de origen animal¹⁹. En nuestro caso, de las 35 cepas coagulasa positivas estudiadas (Tabla II) 29 (82,86 %) fermentaban este azúcar, haciéndolo 2 de ellas de forma débil, y no lo fermentaban las 6 restantes (17,14 %). En la especie *S. aureus*, de las 30 cepas, 27 fueron fermentadoras y 3 carecían de esta propiedad. Un examen de la bibliografía sobre este aspecto permite evidenciar que, aún cuando existe una gran diversidad de datos, es frecuente encontrar en estafilococos de origen animal porcentajes significativos de cepas coagulasa positivas no fermentadoras del manitol. Así, los porcentajes extremos son del orden del 9 %⁵ y del 39 %⁴¹. Porcentajes en este intervalo se dan en diversos trabajos^{10 15 19 33 36}. No faltan tampoco los autores que encuentran porcentajes de cepas positivas muy elevados^{8 12 16}. En cuanto a las 2 cepas de *S. intermedius*, ambas manitol negativas, por nosotros estudiadas, cabe señalar que según DEVRIESE y HAJEK⁷ en su reciente trabajo de revisión en el que presentan un esquema para la diferenciación de los estafilococos coagulasa positivos, esta especie es considerada como no fermentadora del manitol.

Respecto a las 36 cepas coagulasa negativas estudiadas (Tabla III) 29 (80,56 %) no fueron capaces de fermentar el manitol, haciéndolo las 7 restantes (19,44 %), correspondiendo estas últimas a 3 cepas de *S. simulans*, a 1 de *S. capitis*, y a otra de *S. warnei* y a 2 no clasificadas. Aunque los estafilococos coagulasa negativos carecen, en general, de esta propiedad, como ponen de manifiesto ROSKEY y HAMDY³⁴, diversos autores encuentran porcentajes de cepas fermentadoras generalmente inferiores a los encontrados por nosotros^{5 31}.

La producción de gelatinasa por parte de las cepas coagulasa positivas se presenta en la Tabla II: 14 cepas (40,01 %) no presentaban esta actividad, mientras que 21 (59,99 %) sí la mostraban, aunque 9 de ellas de forma débil. Los resultados sobre actividad gelatinasa encontrados por otros autores con cepas de origen animal son bastante variados, desde el 100 % de cepas productoras^{15 19} hasta el 46 %²¹ ó el 47 %⁵, más coincidentes con nuestros propios resultados. Las 2 cepas de *S. intermedius* fueron gelatinasa positivas. HAJEK¹⁴ en un estudio de 50 cepas de esta especie encuentra que el 94 % producían gelatinasa. Por lo que se refiere a las cepas coagulasa negativas, solamente 2 (5,56 %) eran productoras de este enzima, mientras que otras 9 (25 %) lo producían de forma débil, careciendo 25 cepas (69,44 %) de esta propiedad.

El estudio de la capacidad de producción de lisozima por parte de cepas de estafilococos coagulasa positivos de origen animal ha sido realizado por diversos autores^{8 15 19 40 41}, quienes dan cuenta de que o bien la totalidad o la

mayoría de sus cepas producían este enzima. En nuestro caso (Tablas II y IV), los resultados son muy acordes en lo que se refiere al grupo de cepas coagulasa positivas, no así en las coagulasa negativas, ya que de las 35 cepas coagulasa positivas 32 (91,43 %) fueron lisozima positivas, si bien 14 de ellas de modo débil, careciendo de esta propiedad sólo 3 cepas (8,57 %), mientras que de las 36 cepas coagulasa negativas (Tablas III y IV), 21 (58,33 %) no producían el enzima, 13 (36,11 %) sí lo hacían y 2 (5,56 %) fueron consideradas como débiles productoras del mismo.

TABLA IV

Relación entre la producción de coagulasa y de termonucleasa con la fermentación del manitol, la producción de gelatinasa y de lisozima y la reacción en yema de huevo

	Manitol	Gelatinasa	Lisozima	Yema de huevo
35 coagulasa +	27 +	12 +	18 +	18 +
	2 ± ^a	9 D ^b	14 D	
	6 -	14 -	3 -	17 -
36 coagulasa -	6 +	2 +	13 +	21 +
	1 ±	9 D	2 D	
	29 -	25 -	21 -	15 -
45 TDNAsa +	28 +	12 +	19 +	27 +
	2 ±	15 D	14 D	
	15 -	18 -	12 -	18 -
10 TDNAsa ±	4 +	1 +	7 +	5 +
		2 D		
	6 -	7 -	3 -	5 -
16 TDNAsa -	1 +	1 +	5 +	7 +
	1 ±	1 D	2 D	
	14 -	14 -	9 -	9 -

^a ± = Fermentadora débil.

^b D = Débilmente positiva.

Por lo que se refiere al crecimiento en medio con yema de huevo, se han observado los tipos de reacción descritos por LUNDBECK y TIRUNARAYANAN²⁸ y TIRUNARAYANAN y LUNDBECK^{38 39}. Consideradas en conjunto las cepas estudiadas, 39 (54,92 %) fueron clasificadas como yema de huevo positivas y 32 (45,08 %) como negativas. En el grupo de las positivas, en 31 se observó a las 48 horas de incubación, además del aclaramiento inicial alrededor de las colonias, opacidad y brillo superficial, mientras que en las 8 restantes el aclaramiento inicial no fue seguido del mencionado fenómeno.

La reacción en yema de huevo es un carácter que se viene considerando como propio de *S. aureus* en los procedimientos de recuento en medios sólidos

con yema de huevo, tales como el de BAIRD-PARKER. Por ello, es importante referirnos a esta reacción en nuestras dos poblaciones de estafilococos coagulasa positivos y negativos. En las Tablas II y III, respectivamente, se dan estos resultados. Contra lo que cabría esperar, el porcentaje de capas yema de huevo positivas fue incluso algo superior en el grupo de estafilococos coagulasa negativos (58,33 %) que en el de coagulasa positivos (51,43 %). En nuestro propio laboratorio, se ha encontrado una correlación positiva entre la producción de coagulasa y la reacción en yema de huevo en estafilococos de origen humano⁹ y no en estafilococos aislados de leche mamílica de vaca¹⁰ y de oveja¹³. Por lo que se refiere a estafilococos de origen animal, la información con que se cuenta es muy poco coincidente. Una serie de trabajos dan cifras entre el 70 y el 80 % de cepas yema de huevo positivas en poblaciones de estafilococos coagulasa positivos^{5 15 16 19 32}. OLSON *et al.*³³ encuentran porcentajes incluso superiores. Son también muchos los trabajos que no señalan ningún tipo de correlación entre ambas propiedades^{16 18 26 29 32 42}.

TABLA V

Relación entre el grado de coagulación del plasma de conejo y la fermentación del manitol, la producción de gelatinasa y lisozima y la reacción en yema de huevo de las 35 cepas de estafilococos coagulasa positivos agrupados en especies

Especie	N.º	Grado de coagulación			Manitol			Gelatinasa			Lisozima			Yema de huevo	
		4+	3+	2+	+	D ^b	-	+	D	-	+	D	-	+	-
<i>S. aureus</i>	30	26	3	1	25	2	3	10	9	11	15	13	2	17	13
<i>S. intermedius</i>	2			2			2	2			2				2
N. C. ^a	3	2	1		2	1				3	1	1	1	1	2
Total	35	28	4	3	27	2	6	12	9	14	18	14	3	18	17

^a N. C. = Cepas no clasificadas.

^b D = Débilmente positiva.

Finalmente, de una comparación más general de los resultados sobre fermentación del manitol, producción de gelatinasa y de lisozima, y reacción en yema de huevo, con otras propiedades más utilizadas como índices de patogenicidad y enterotoxigenicidad, como son la producción de coagulasa y de termonucleasa (véanse Tablas IV, V y VI), se deduce la existencia de una correlación razonable en lo que se refiere a fermentación del manitol, mayor con la coagulasa que con la termonucleasa, y escasa o nula en cuanto a las otras tres propiedades, lo que pone de manifiesto la diversidad de resultados obtenidos con nuestra población de estafilococos en lo que se refiere a los caracteres estudiados.

TABLA VI
Relación entre la producción de DNAsa termostable, y la fermentación del manitol, la producción de gelatinasa y lisozima y la reacción en yema de huevo

Especie	N.º	TDNasa			Manitol			Gelatinasa			Lisozima			Yema de huevo	
		+	D ^b	-	+	D	-	+	D	-	+	D	-	+	-
<i>S. aureus</i>	30	30			25	2	3	10	9	11	15	13	2	17	13
<i>S. intermedius</i>	2	2					2	2					2		2
N. C. ^a	3	3			2		1			3	1	1	1	1	2
Total	35	35			27	2	6	12	9	14	18	14	3	18	17
<i>S. simulans</i>	3		3		3					1	2	3		2	1
<i>S. haemolyticus</i>	2	1	1				2				2	1	1	1	1
<i>S. hominis</i>	5		3	2			5	1	1	3	3	1	1	3	2
<i>S. epidermidis</i>	3		1	2			3	1	1	1			3	2	1
<i>S. capitis</i>	2			2	1		1			2			2	2	
<i>S. warneri</i>	3			3		1	2			3			3	1	2
<i>S. xylosus</i>	4			4			4			4	4				4
<i>S. cohnii</i>	1			1			1			1			1	1	
<i>S. saprophyticus</i>	1			1			1			1	1				1
N. C.	12	9	2	1	2		10			6	6	1	1	10	9
Total	36	10	10	16	6	1	29	2	9	25	13	2	21	21	15

^a N. C. = Cepas no clasificadas.
^b D = Débilmente positiva.

RESUMEN

En este trabajo se presenta el estudio de la capacidad de producción de gelatinasa, de lisozima y de los enzimas que intervienen en la reacción en yema de huevo, así como de fermentación del manitol, por parte de 71 cepas de estafilococos aislados a partir de abscesos encontrados en inspección de carnes en ganado vacuno, ovino y caprino. Estas propiedades se relacionan con la producción de coagulasa y de termonucleasa.

Aproximadamente la mitad de las cepas estudiadas fermentaban el manitol (50,66 %), eran productoras de gelatinosa (45,07 %) y daban reacción positiva en medio con yema de huevo (54,92 %), en tanto que un porcentaje más elevado (66,20 %) producía lisozima.

Comparando estas propiedades con la producción de coagulasa y de termonucleasa, se ha observado una correlación razonable con la fermentación del manitol y escasa o nula con las otras tres propiedades, lo que pone de manifiesto su falta de valor como criterios de patogenicidad y enterotoxigenicidad en estafilococos de origen animal.

SOME ENZYMATIC PROPERTIES IN STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM ABSCESES IN MEAT INSPECTION AND THEIR RELATION WITH THE COAGULASE AND THERMONUCLEASE PRODUCTION

SUMMARY

This work deals with the study of 71 strains of staphylococci isolated from abscesses in meat inspection with special interest in gelatinase and lysozyme production, mannitol fermentation and egg yolk reaction. The results obtained are related to the production of coagulase and thermostable DNase.

Approximately half of the studied strains fermented mannitol (50.66 %), produced gelatinase (45.07 %) and gave positive results in the egg yolk reaction (54.92 %). A higher rate (66.20 %) produced lysozyme.

It was not possible to establish any correlation among the above enzymatic properties and the coagulase and thermonuclease production. Only with mannitol fermentation the correlation was positive.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, J. C. (1976).—Mechanisms of staphylococcal virulence in relation to bovine mastitis. *Brit. Vet. J.*, **132**: 229-245.
- BAIRD-PARKER, A. C. (1962).—The performance of an egg yolk tellurite medium in practical use. *J. Appl. Bacteriol.*, **25**: 441-444.
- BAIRD-PARKER, A. C. (1963).—A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical test. *J. Gen. Microbiol.*, **30**: 409-427.
- BAIRD-PARKER, A. C. (1980).—Methods for identification of staphylococci and micrococci. En *Identification methods for microbiologists*, 2nd edition, F. A. S. SKINNER and D. W. LOVELOCK (editors). Society for Applied Bacteriology Technical Series, vol. 14, 201-210.
- BROWN, R. W., SANDVIK, O., SCHERER, R. K. y ROSE, D. L. (1967).—Differentiation of strains of *S. epidermidis* isolated from bovine udders. *J. Gen. Microbiol.*, **47**: 273-287.
- BUCHANAN, R. E. y GIBBONS, N. E. (1974).—*Bergey's manual of determinative bacteriology*, Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md., 8th edition, 483-489.
- DEVRIESE, L. A. y HAJEK, V. (1980).—Identification of pathogenic staphylococci isolated from animals and foods derived from animals. *J. Appl. Bacteriol.*, **49**: 1-11.
- DEVRIESE, L. A. y OEDING, P. (1976).—Characteristics of *S. aureus* strains isolated from different animal species. *Research Vet. Sci.*, **21** (3): 284-291.
- FRANCISCO POLLEDO, J. J. (1981).—Comunicación personal.
- GARCIA, M. L., MORENO, B. y BERGDOLL, M. S. (1980).—Characterization of staphylococci isolated from mastitic cows in Spain. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39** (3): 548-553.
- GEMMEL, C. G., THELESTAM, M. y WADSTROM, T. (1976).—Toxinogenicity of coagulase negative staphylococci. En J. JELJASZEWICK (editor) *Staphylococci and staphylococcal diseases*, *Zentralbl. Bakteriologie, Parasitenkd. Infektionskr. Hyg., Abt. 1, Suppl. 5*, 133-136.
- GROSSGEBAUER, R., SCHMIDT, B. y LANGMAACK, M. (1968).—Lysozyme production as an aid for identification of potentially pathogenic strains of staphylococci. *Appl. Microbiol.*, **16**: 1.745-1.747.
- GUTIÉRREZ, L. M. (1981).—Comunicación personal.
- HAJEK, V. (1976).—*S. intermedius* a new species isolated from animals. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **26**: 401-408.
- HAJEK, V. (1978).—Identification of enterotoxigenic staphylococci from sheep and sheep cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, **35** (2): 264-268.
- HAJEK, V. y MARSALEK, E. (1969).—A study of staphylococci of bovine origin: *S. aureus* var. *bovis*. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.*, **209**: 154-160.
- HAJEK, V. y MARSALEK, E. (1971).—The differentiation of pathogenic staphylococci and a suggestion for their taxonomic classification. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 217*, 176-182.

- 18) HAJEK, V. y MARSIALEK, E. (1976).—Staphylococci outside the Hospital. *S. aureus* in sheep. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B* 161, 455-461.
- 19) HAJEK, V. y MARSIALEK, E. (1976a).—Evaluation of classificatory criteria for staphylococci. En J. JELIASZEWICK (editor). *Zentralbl. Bakteriolog. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I, Supl.* 5, 11-21.
- 20) JAY, J. M. (1966).—Production of lysozyme by staphylococci and its correlation with three other extracellular substances. *J. Bacteriol.*, 91: 1.804-1.810.
- 21) JOSHI, H. y DALE, D. G. (1963).—Some microbiological aspects of staphylococcal mastitis. *Can. J. Comp. Med.*, 27: 61-68.
- 22) KESKINTEPE, H. (1977).—Staphylococci in animals. Characteristicse, distribution and its public health significance. *Veteriner Fakultesi Dergisi*, 24 (1): 90-98.
- 23) KLOOS, W. E. y SCHLEIFER, K. H. (1975).—Isolation and characterization of staphylococci from human skin. II. Descriptions of four new species: *S. warneri*, *S. capitis*, *S. hominis* y *S. simulans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 25: 62-79.
- 24) KLOOS, W. E. y SCHLEIFER, K. H. (1975a).—Simplified scheme for routine identification of human staphylococcus species. *J. Clin. Microbiol.*, 1 (1): 82-88.
- 25) KLOOS, W. E., SCHLEIFER, K. H. y NOBLE, W. C. (1976).—Estimation of character parameters in coagulase negative staphylococcus species. En J. JELIASZEWICK (editor) Staphylococci and staphylococcal diseases, *Zentralbl. Bakteriolog. Infektionskr. Hyg. Abt. I, Supl.* 5, 23-41.
- 26) KOKISTALS, L. D. y MILLING, M. E. (1968).—Lack of correlation between yolk reaction in Staphylococcus medium 110 supplemented with egg yolk and coagulase activity of staphylococci isolated from cheese. *Can. J. Microbiol.*, 15: 132-133.
- 27) LACHICA, V. (1980).—Accelerated procedure for the enumeration and identification of food-borne *S. aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39 (1): 17-19.
- 28) LUNDBECK, H. y TIRUNARAYANAN, M. O. (1966).—Investigations on the enzymes and toxins of staphylococci. Study of the «egg yolk reaction» using an agar plate assay method. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 68: 123-134.
- 29) MARANDON, J. L. y OEDING, P. (1966).—Investigations on animal *S. aureus* strains. I. Biochemical characteristics and phage-typing. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 67: 149-156.
- 30) MENES, I. (1981).—Caracterización y significado sanitario de los estafilococos aislados a partir de abscesos en inspección de carnes. Tesis doctoral, Facultad de Veterinaria de León.
- 31) MOSSEL, D. A. A. Attempt in classification of catalase-positive staphylococci and micrococci. *J. Bacteriol.*, 84: 1.140-1.147.
- 32) OEDING, P., MARANDON, J. L., HAJEK, V. y MARSIALEK, E. (1971).—A comparison of phage pattern and antigenic structure with biochemical properties of *S. aureus* strains isolated from cattle. *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B*, 79: 357-364.
- 33) OLSON, J. C. (Jr.), CASMAN, E. P., BAER, E. F. y STONE, J. E. (1970).—Enterotoxigenicity of *S. aureus* cultures isolated from acute cases of bovine mastitis. *Appl. Microbiol.*, 20 (4): 605-607.
- 34) ROSKEY, C. T. y HAMDY, M. K. (1972).—Bruised poultry tissue as a possible source of staphylococcal infection. *Appl. Microbiol.*, 23: 683-687.
- 35) SCHLEIFER, K. H. y KLOOS, W. E. (1975).—Isolation and characterization of staphylococci from human skin. I. Amended description of *S. epidermidis* and *S. saprophyticus* and description of three new species: *S. cohnii*, *S. haemolyticus* and *S. xylosus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 25: 50-61.
- 36) SPERBER, W. H. y TATINI, S. R. (1975).—Interpretation of the tube coagulase test for identification of *S. aureus*. *Appl. Microbiol.*, 29 (4): 502-505.
- 37) SUBCOMMITTEE ON TAXONOMY OF STAPHYLOCOCCI AND MICROCOCCI (1965).—Minutes of first meeting of Subcommittee on taxonomy of staphylococci and micrococci. *Intern. Bull. Bacteriol. Nomencl. Tax.*, 15: 107-108.
- 38) TIRUNARAYANAN, M. O. y LUNDBECK, H. (1967).—Investigations on the enzymes and toxins of staphylococci. Identification of the substrate and the products formed in the «egg-yolk reaction». *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 69: 314-320.
- 39) TIRUNARAYANAN, M. O. y LUNDBECK, H. (1968).—Investigations on the enzymes and toxins of staphylococci. Separation of lipase from phosphatase and spectrophotometric analysis of the «egg-yolk reaction». *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 73: 429-436.
- 40) UNTERMANN, F., KUSCH, D. y LUPKE, H. (1973).—Zur Bedewtung der Mastitis-Staphylokokken als Ursache von Lebensmittelvergiftungen. *Milchwissensschaft*, 28: 686-688.
- 41) WECKBACH, L. S. y LANGLOIS, B. G. (1976).—Classification by numerical taxonomy of staphylococci isolated from the bovine udder. *J. Milk Food Technol.*, 39 (4): 246-249.
- 42) WHITE, F., RATTRAY, E. A. y DAVIDSON, D. J. (1963).—Sensitivity to antibiotics and biochemical activities of serotypes of bovine staphylococci. *J. Com. Pathol.*, 73: 21-26.
- 43) WISEMAN, G. M. (1975).—The haemolysins of *S. aureus*. *Bacteriol. Rev.*, 39 (4): 317-344.

ESTADO ACTUAL EN EL DESARROLLO DE RESISTENCIAS A DIVERSOS ANTIBIOTICOS POR PARTE DE LOS ESTAFILOCOCOS AISLADOS A PARTIR DE ABSCESOS EN INSPECCION DE CARNES

Por I. Menes,
M.^a L. García y
B. Moreno

INTRODUCCION

Se ha demostrado experimentalmente de forma repetida que el amplio uso de los antibióticos como sustancias terapéuticas, en la prevención de enfermedades y como estimulantes del crecimiento animal, está dando origen a la creación en los animales de un importante reservorio de microorganismos resistentes, entre los que se encuentran los estafilococos. Está también fuera de toda duda que los estafilococos son transferidos de los animales al hombre, vía alimentos y por contacto con los propios animales²². Diversos autores^{30 32 34} dan cuenta de que la frecuencia de estafilococos antibiótico-resistentes es mayor en grupos de personas que por razones profesionales tienen contactos con animales y con alimentos de origen animal, que en la población general.

En qué medida estas cepas de estafilococos de origen animal suponen un riesgo para la salud pública es un tema, sin embargo, insuficientemente conocido. Está bien demostrada la capacidad de las cepas de origen animal de producir enterotoxinas en los alimentos y ocasionar así intoxicaciones alimentarias humanas, pero se sabe muy poco sobre la posibilidad de que estas cepas puedan adaptarse al habitat humano y producir procesos patológicos.

Un aspecto que debe ser considerado en este sentido, es el de la posibilidad de que estas cepas puedan transferir su antibiótico-resistencia a otras cepas humanas. Según WILLIAMS SMITH³⁵, esta transferencia tendría sólo una importancia reducida, ya que aunque mediada por plásmidos, únicamente puede ser transferida por transducción fágica y no por conjugación. Otro