

- 18) HAJEK, V. y MARSALEK, E. (1976).—Staphylococci outside the Hospital. *S. aureus* in sheep. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B* 161, 455-461.
- 19) HAJEK, V. y MARSALEK, E. (1976a).—Evaluation of classificatory criteria for staphylococci. En J. JELJASZEWICK (editor). *Zentralbl. Bakteriologie. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1, 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 Facultesi 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. JELJASZEWICK (editor) Staphylococci and staphylococcal diseases, *Zentralbl. Bakteriologie. Infektionskr. Hyg. Abt. 1, 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 MARSALEK, 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. xylosum*. *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 Bedeutung der Mastitis-Staphylokokken als Ursache von Lebensmittelvergiftungen. *Milchwissenschaft*, **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 haemolins 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.<sup>a</sup> 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 animales<sup>22</sup>. Diversos autores<sup>30 32 34</sup> 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 SMITH<sup>35</sup>, 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



aspecto paralelo al anterior es el de la posible transmisión de la capacidad de producción de enterotoxinas, tema éste muy poco conocido<sup>14 29 33</sup>.

En el presente trabajo se da cuenta de los resultados obtenidos en relación con uno de los aspectos mencionados, el desarrollo de resistencias a los antibióticos, en una población de estafilococos aislados a partir de abscesos encontrados en inspección de carnes. Con este trabajo se ha intentado evaluar la dinámica actual en el desarrollo de resistencias por parte de los estafilococos del mencionado origen, ya que no se cuenta con datos al respecto, y por la repercusión de este fenómeno tanto en la clínica animal como en la salud pública.

## MATERIAL Y METODOS

### Cepas

Las 71 cepas de estafilococos, cuya sensibilidad a los antibióticos se estudia en este trabajo, habían sido aisladas por nosotros<sup>24</sup> a partir de abscesos encontrados en inspección de carnes en ganado vacuno, ovino y caprino. De estas cepas, 30 correspondían a *S. aureus*, 2 a *S. intermedius*, 3 a *S. simulans*, 3 a *S. epidermidis*, 2 a *S. capitis*, 5 a *S. hominis*, 3 a *S. warneri*, 2 a *S. haemolyticus*, 1 a *S. saprophyticus*, 1 a *S. cohnii* y 4 a *S. xylosus*. Las 15 cepas restantes eran cepas no clasificadas.

### Método de difusión en medio sólido con discos

Esta prueba se llevó a cabo según la técnica de KIRBY-BAUER<sup>6</sup> con las modificaciones que indican las recomendaciones del NCCLS SUBCOMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING<sup>25</sup>. Los discos utilizados eran de la firma DIFCO y contenían los antibióticos y sulfamidas que a continuación se señalan, a las concentraciones que se indican: cefalotina (30 mcg), cloranfenicol (30 mcg), eritromicina (15 mcg), estreptomina (10 mcg), gentamicina (30 mcg), kanamicina (30 mcg), meticilina (5 mcg), neomicina (30 mcg), novobiocina (30 mcg), penicilina (10 U. I.), tetraciclina (30 mcg) y sulfadiazina (300 mcg). Estas concentraciones se eligieron a la vista de los standards de interpretación propuestos por el NCCLS SUBCOMMITTEE<sup>25</sup>.

Para obtener una medida de la precisión del método utilizado, se incluyeron con cada grupo de cepas ensayadas los controles *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922. La clasificación de las cepas en sensibles, de sensibilidad intermedia y resistentes, se realizó con ayuda de la tabla de standards del NCCLS SUBCOMMITTEE<sup>25</sup>.

### Método de dilución en medio sólido

Se llevó a cabo según la técnica descrita por BARRY<sup>3</sup>. Los antibióticos utilizados fueron los siguientes: cefalotina (sal sódica), estreptomina (sulfato),

gentamicina (sulfato), kanamicina (sulfato), penicilina G (sal sódica), tetraciclina (clorhidrato), neomicina (sulfato) y eritromicina. Las muestras valoradas correspondientes fueron suministradas por Antibióticos, S. A., Fábrica de León. Se utilizaron también cloranfenicol, suministrado por Parke-Davis, S. A., meticilina (sal sódica), por Beecham Research Laboratories, y novobiocina, por The Upjohn Company. Los diluyentes fueron los recomendados por la F. D. A.<sup>15</sup>, realizándose las diluciones según el esquema de BARRY<sup>3</sup>.

Como controles se utilizaron placas sin antibiótico, en donde se sembraba la cepa ensayada para ver su crecimiento, y por otra parte las cepas ATCC 25923 y ATCC 25922 que se incluían en las placas de cada serie a fin de comprobar su CMI. La clasificación de las cepas se realizó con ayuda de una tabla de standards de interpretación elaborada con los datos y criterios de BARRY<sup>4</sup>, excepto para la novobiocina<sup>9</sup> y la estreptomina y neomicina<sup>25</sup>.

## RESULTADOS

En la Tabla I se presentan los resultados de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos y sulfamidas por el método de difusión en medio sólido con discos. De las 71 cepas estudiadas, el 54,93 % mostraron resistencia a uno o más antibióticos, el 35,22 % fueron sensibles a todos los antibióticos ensayados y el 9,85 % restante presentó sensibilidad intermedia frente a alguno o algunos de los antibióticos. Destacan también como datos importantes las 18 (25,35 %) cepas resistentes a la estreptomina, seguidas de 14 (19,72 %) a la tetraciclina, 12 (16,91 %) a la penicilina y 9 (12,68 %) al cloranfenicol, en tanto que las resistencias a los otros antibióticos fueron más moderadas o nulas.

TABLA I  
Sensibilidad a distintos antibióticos y sulfamidas de 71 cepas de estafilococos por el método de difusión en medio sólido con discos<sup>a</sup>

| Antibiótico   | Sensibles             | De sensibilidad intermedia | Resistentes |
|---------------|-----------------------|----------------------------|-------------|
| Cefalotina    | 71 (100) <sup>b</sup> |                            |             |
| Cloranfenicol | 62 (87,32)            |                            | 9 (12,68)   |
| Eritromicina  | 64 (90,14)            | 4 (5,63)                   | 3 (4,23)    |
| Estreptomina  | 53 (74,65)            |                            | 18 (25,35)  |
| Gentamicina   | 71 (100)              |                            |             |
| Kanamicina    | 70 (98,59)            | 1 (1,41)                   |             |
| Meticilina    | 65 (91,55)            | 4 (5,63)                   | 2 (2,82)    |
| Novobiocina   | 66 (92,96)            | 4 (5,63)                   | 1 (1,41)    |
| Penicilina    | 55 (77,46)            | 4 (5,63)                   | 12 (16,91)  |
| Tetraciclina  | 57 (80,28)            |                            | 14 (19,72)  |
| Neomicina     | 71 (100)              |                            |             |
| Sulfadiazina  | 58 (81,69)            | 7 (9,86)                   | 6 (8,45)    |

<sup>a</sup> Esta clasificación ha sido realizada con la tabla de standards de interpretación del NCCLS SUBCOMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (1974).

<sup>b</sup> Las cifras entre paréntesis indican %.



Todas las cepas fueron sensibles a la cefalotina, gentamicina y neomicina. Frente a la sulfadiazina, presentaron resistencia 6 cepas (8,45 %). La clasificación de las cepas según su sensibilidad a los antibióticos, utilizando los resultados obtenidos con el método de dilución en medio sólido, resultados a los que está referida la discusión de este trabajo, se presentan en la Tabla II. Con este método se obtuvo un porcentaje de cepas resistentes del 56,3 %.

**TABLA II**  
Sensibilidad a distintos antibióticos de 71 cepas de estafilococos por el método de dilución en medio sólido<sup>a</sup>

| Antibiótico    | Muy sensibles         | Sensibles  | Resistentes | Muy resistentes |
|----------------|-----------------------|------------|-------------|-----------------|
| Cefalotina     | 71 (100) <sup>b</sup> |            |             |                 |
| Cloranfenicol  |                       | 62 (87,32) |             | 9 (12,68)       |
| Eritromicina   | 64 (90,14)            | 4 (5,63)   |             | 3 (4,23)        |
| Estreptomicina |                       | 53 (74,65) | 18 (25,35)  |                 |
| Gentamicina    | 71 (100)              |            |             |                 |
| Kanamicina     | 70 (98,59)            | 1 (1,41)   |             |                 |
| Meticilina     |                       | 69 (97,18) | 2 (2,82)    |                 |
| Novobiocina    |                       | 63 (88,73) | 8 (11,27)   |                 |
| Penicilina G   | 56 (78,87)            | 1 (1,41)   |             | 14 (19,72)      |
| Tetraciclina   | 57 (80,28)            |            | 7 (9,86)    | 7 (9,86)        |
| Neomicina      |                       | 71 (100)   |             |                 |

<sup>a</sup> Los datos se interpretaron según BARRY (1976b) excepto para la novobiocina (BUCHANAN y GIBBONS, 1974) y la estreptomina y neomicina NCCLS SUBCOMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (1974).

<sup>b</sup> Las cifras entre paréntesis indican %.

En la Tabla III se presenta un cuadro de frecuencias de las 71 cepas de estafilococos estudiadas según sus CMIs. En esta misma tabla se puede ver una evaluación de la precisión y seguridad de los resultados obtenidos por el método de dilución en medio sólido, ya que las CMIs que presentan las mayores frecuencias en las cepas sensibles coinciden o están muy próximas a la CMI de la cepa control, *S. aureus* ATCC 25923, frente a cada antibiótico.

En las Figs. 1, 2 y 3 se representa gráficamente la sensibilidad a los antibióticos de las cepas estudiadas, situando en abscisas el logaritmo en base 2 de la CMI + 9 y en ordenadas el % acumulativo de cepas.

Si referimos los resultados de sensibilidad a las distintas especies en que fueron clasificadas las 71 cepas de estafilococos estudiadas, Tablas IV y V, destaca el que del total de 14 cepas resistentes a la penicilina encontradas, 12 corresponden a *S. aureus*, al igual que 7 (de un total de 18) de las resistentes a la estreptomina, 4 (de 9) de las resistentes al cloranfenicol y 1 (de 14) de las resistentes a la tetraciclina. Las 2 cepas clasificadas como *S. intermedius* presentaron resistencia al cloranfenicol. En el resto de las especies (coagulasa

**TABLA III**  
Cuadro de frecuencias de las 71 cepas de estafilococos estudiadas según su sensibilidad a los antibióticos por el método de dilución en medio sólido

| Antibiótico   | CMI (µg/ml) <sup>a</sup> |      |      |      |      |     |    |    |    |   |    | S. aureus ATCC25923 CMI | CMI <sup>b</sup> esperada |    |    |      |      |
|---------------|--------------------------|------|------|------|------|-----|----|----|----|---|----|-------------------------|---------------------------|----|----|------|------|
|               | 0,015                    | 0,03 | 0,06 | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1  | 2  | 4  | 8 | 16 |                         |                           | 32 | 64 | 128  |      |
| Cefalotina    |                          |      | 2    | 35   | 26   | 1   | 2  | 5  |    |   |    |                         |                           |    |    | 0,12 | 0,8  |
| Cloranfenicol |                          |      |      |      |      |     |    | 5  | 18 |   |    |                         | 3                         | 6  |    | 8,0  | 8,0  |
| Eritromicina  |                          | 26   | 34   | 3    |      |     | 1  | 1  | 3  |   |    | 3                       |                           |    |    | 0,12 | 0,25 |
| Estreptomina  |                          |      |      |      | 1    | 13  | 10 | 26 | 3  |   | 4  | 1                       | 13                        |    |    | 4,0  | 4,0  |
| Gentamicina   | 5                        | 11   | 22   | 2    | 27   | 4   | 2  | 31 |    |   |    |                         |                           |    |    | 0,12 | 0,5  |
| Kanamicina    |                          |      |      |      | 12   | 19  | 2  | 5  |    |   |    |                         |                           |    |    | 2,0  | 2,0  |
| Meticilina    |                          |      |      | 1    | 5    | 14  | 44 | 5  | 1  | 1 |    |                         |                           |    |    | 2,0  | 2,0  |
| Novobiocina   |                          |      | 8    | 21   | 31   | 3   | 6  | 2  | 1  | 1 |    | 2                       | 2                         |    |    | 0,25 | 0,06 |
| Penicilina G  | 1                        | 20   | 27   | 2    | 6    | 1   | 6  | 6  | 1  |   |    | 6                       | 1                         | 2  |    | 0,06 | 0,06 |
| Tetraciclina  |                          |      |      |      |      |     |    |    |    |   |    |                         |                           |    |    | 0,12 | 0,5  |
| Neomicina     |                          |      |      |      |      |     |    |    |    |   |    |                         |                           |    |    | 0,25 | 0,25 |

<sup>a</sup> 1 µg de penicilina = 1,6 U.I.

<sup>b</sup> Estos valores han sido tomados de BARRY (1976b). Representan las CMI más frecuentes obtenidas con cepas sensibles de *S. aureus*. Cabe suponer que las cepas utilizadas para la determinación de esta CMI modal eran de origen humano.



negativas) la distribución de resistencias fue más variada destacando únicamente que en la mayoría de ellas se encontraron cepas resistentes a la tetraciclina (12 cepas) y a la estreptomycinina (11 cepas). Mostraron resistencia a la meticilina la única cepa de *S. cohnii* estudiada y otra cepa coagulasa negativa no clasificada, y a la novobiocina las cepas de *S. saprophyticus*, *S. cohnii* y *S. xylosus*, como era de esperar, además de 2 cepas coagulasa negativas no clasificadas.

**TABLA IV**  
Resistencia a diversos antibióticos de 35 cepas de estafilococos coagulasa positivos

| Antibiótico      | Especie          |    |                       |   |                    |   |
|------------------|------------------|----|-----------------------|---|--------------------|---|
|                  | <i>S. aureus</i> |    | <i>S. intermedius</i> |   | N. C. <sup>a</sup> |   |
|                  | S <sup>b</sup>   | R  | S                     | R | S                  | R |
| Cefalotina       | 30               |    | 2                     |   | 3                  |   |
| Clorafenicol     | 26               | 4  |                       | 2 | 3                  |   |
| Eritromicina     | 30               |    | 2                     |   | 3                  |   |
| Estreptomycinina | 23               | 7  | 2                     |   | 3                  |   |
| Gentamicina      | 30               |    | 2                     |   | 3                  |   |
| Kanamycinina     | 30               |    | 2                     |   | 3                  |   |
| Meticilina       | 30               |    | 2                     |   | 3                  |   |
| Neomicina        | 30               |    | 2                     |   | 3                  |   |
| Novobiocina      | 30               |    | 2                     |   | 3                  |   |
| Penicilina G     | 18               | 12 | 2                     |   | 3                  |   |
| Tetraciclina     | 29               | 1  | 2                     |   | 2                  | 1 |

<sup>a</sup> Cepas no clasificadas.

<sup>b</sup> S = sensibles; R = resistentes.

## DISCUSION

El que los mayores porcentajes de resistencias por parte de las cepas estudiadas se hayan observado frente a la estreptomycinina (23,35 %) y a la penicilina y tetraciclina (19,72 % en cada caso), Tablas I y II, se podría explicar por el hecho de ser estos los antibióticos más frecuentemente utilizados en la terapéutica habitual veterinaria<sup>7</sup>, por lo que cabe esperar que se presente una mayor incidencia de resistencias a los mismos.

El análisis detallado de las Tablas I, II y III proporciona una importante información global sobre el estado actual en el desarrollo de resistencias, tema de gran interés epidemiológico, por parte de cepas de estafilococos aisladas en inspección de carnes, ya que no existen actualmente datos al respecto. Comparando la CMI de la cepa control (*S. aureus* ATCC 25923) frente a cada antibiótico, con las CMIs de las cepas estudiadas, Tabla III, se observa que para cada antibiótico la frecuencia mayor de cepas presenta una CMI igual a la

**TABLA V**  
Resistencia a diversos antibióticos de 36 cepas de estafilococos coagulasa negativos

| Antibiótico      | <i>S. sim.</i> |   | <i>S. epid.</i> |   | <i>S. cap.</i> |   | <i>S. hom.</i> |                | <i>S. uar.</i> |   | <i>S. haem.</i> |                | <i>S. sapr.</i> |   | <i>S. cohn.</i> |   | <i>S. xyl.</i> |   | <i>N. C.<sup>a</sup></i> |   |
|------------------|----------------|---|-----------------|---|----------------|---|----------------|----------------|----------------|---|-----------------|----------------|-----------------|---|-----------------|---|----------------|---|--------------------------|---|
|                  | S              | R | S               | R | S              | R | S              | R              | S              | R | S               | R              | S               | R | S               | R | S              | R | S                        | R |
|                  | S <sup>b</sup> | R | S               | R | S              | R | S              | R              | S              | R | S               | R              | S               | R | S               | R | S              | R | S                        | R |
| Cefalotina       | 3              |   | 3               |   | 3              |   | 5              |                | 3              |   | 2               |                | 1               |   | 1               |   | 4              |   | 12                       |   |
| Clorafenicol     | 3              |   | 3               |   | 2              | 1 | 4              | 1              | 3              | 3 | 2               | 2              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 11                       | 1 |
| Eritromicina     | 3              |   | 2               | 1 | 3              | 3 | 3              | 2              | 3              | 3 | 1               | 1 <sup>c</sup> | 1               | 1 | 1               | 1 | 3              | 3 | 12                       |   |
| Estreptomycinina | 3              |   | 1               | 2 | 2              | 1 | 1              | 4              | 2              | 1 | 1               | 1              | 1               | 1 | 1               | 1 | 2              | 2 | 12                       |   |
| Gentamicina      | 3              |   | 3               |   | 3              |   | 5              |                | 3              | 3 | 2               | 2              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 12                       |   |
| Kanamycinina     | 3              |   | 3               |   | 3              |   | 4              | 1 <sup>c</sup> | 3              | 3 | 2               | 2              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 11                       | 1 |
| Meticilina       | 3              |   | 3               |   | 3              |   | 5              |                | 3              | 3 | 2               | 2              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 12                       |   |
| Neomicina        | 3              |   | 3               |   | 3              |   | 5              |                | 3              | 3 | 2               | 2              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 10                       | 2 |
| Novobiocina      | 3              |   | 3               |   | 3              |   | 5              |                | 3              | 3 | 2               | 2              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 11                       | 1 |
| Penicilina G     | 3              |   | 2               | 1 | 3              | 3 | 5              | 3              | 3              | 3 | 2               | 2              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 11                       | 1 |
| Tetraciclina     | 3              |   | 3               | 1 | 3              | 2 | 2              | 3              | 2              | 1 | 1               | 1              | 1               | 1 | 1               | 1 | 4              | 4 | 10                       | 2 |

<sup>a</sup> N. C. = no clasificadas.

<sup>b</sup> S = sensibles; R = resistentes.

<sup>c</sup> Estas cepas presentaban una CMI en el límite de la resistencia.



de la cepa control (cefalotina, kanamicina, penicilina, tetraciclina y neomicina) o bien próxima, generalmente difiriendo en una dilución hacia el lado de mayor resistencia (cloranfenicol, eritromicina, meticilina, novobiocina y estreptomina) o hacia el de mayor sensibilidad (gentamicina). Este último resultado tendría su explicación en la más reciente introducción de este antibiótico en terapéutica veterinaria.

**TABLA VI**  
Cuadro de polirresistencias (técnica de dilución en agar)

| N.º de cepas | Antibióticos |         |       |        |      |       |         |          |
|--------------|--------------|---------|-------|--------|------|-------|---------|----------|
|              | Cloranf.     | Eritro. | Kana. | Meti.- | Nov. | Peni. | Strept. | Tetraci. |
| 1            |              |         |       | X      | X    | X     |         |          |
| 4            |              |         |       |        |      |       | X       | X        |
| 1            |              |         |       |        | X    |       |         | X        |
| 1            |              |         |       |        | X    |       | X       |          |
| 5            |              |         |       |        |      | X     | X       |          |
| 1            |              | X       |       |        |      | X     | X       | X        |
| 1            | X            | X       |       |        |      |       | X       | X        |
| 1            |              |         | X     |        |      |       | X       | X        |
| 1            | X            |         |       |        |      |       | X       | X        |
| 1            | X            |         |       |        |      | X     | X       | X        |

Considerando a la cepa control como muy sensible a los antibióticos, se deduce que, exceptuados la estreptomina, la tetraciclina, la penicilina y el cloranfenicol, en líneas generales la población se mantiene sensible a los antibióticos ensayados. Tomando como valor de referencia las CMI esperadas<sup>4</sup> o CMI más frecuentemente obtenidas con cepas de *S. aureus*, lo anteriormente expuesto se ratifica, excepto para la tetraciclina, en la que la frecuencia mayor de cepas se agrupa en dos unidades de dilución por debajo de la esperada.

Es importante también destacar el hallazgo de polirresistencias en 17 de las cepas estudiadas (Tabla VI). Seis de estas cepas eran coagulasa positivas (*S. aureus*) y presentaban resistencia 5 a penicilina-estreptomina y 1 a penicilina-estreptomina-cloranfenicol-tetraciclina. Las 11 cepas restantes eran coagulasa negativas y correspondían a las especies *S. warneri* (2), *S. hominis* (3), *S. epidermidis* (1), *S. haemolyticus* (1), *S. xylosus* (1) y *S. capitis* (1), así como a 2 cepas no clasificadas, presentando diversos tipos de polirresistencias. Es interesante este dato del elevado número de polirresistencias por parte de cepas coagulasa negativas, debido al papel patógeno comprobado en el hombre de los estafilococos coagulasa negativos<sup>13 14 20 26 27</sup> y a la posible patogenicidad para los animales, de los que se aíslan cada vez con mayor frecuencia de diversos procesos<sup>8 10 11 12 17 18 23 28</sup>.

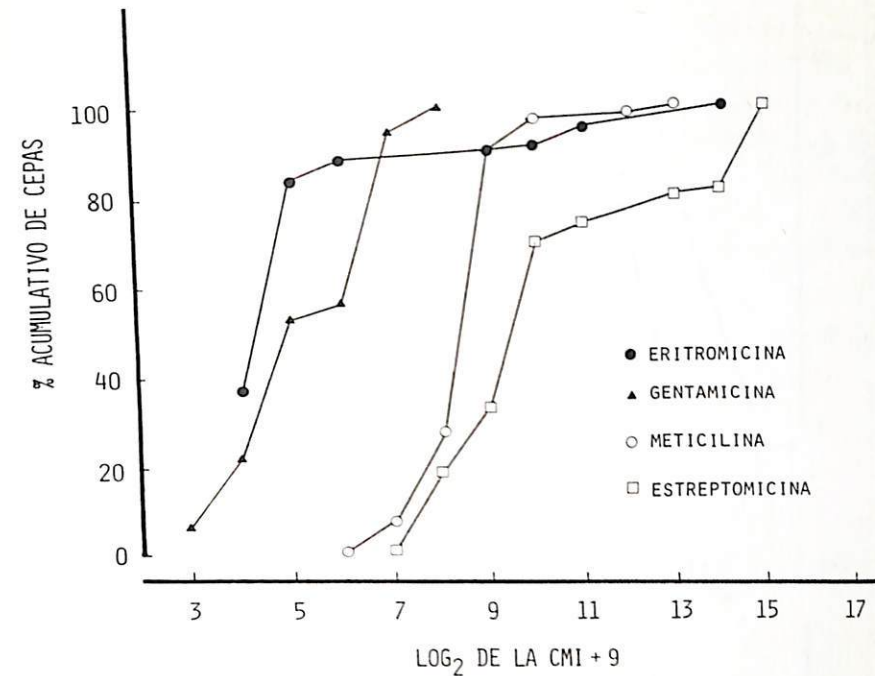


FIGURA 1 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA SENSIBILIDAD A DIVERSOS ANTIBIÓTICOS DE 71 CEPAS DE ESTAFILOCOCOS.

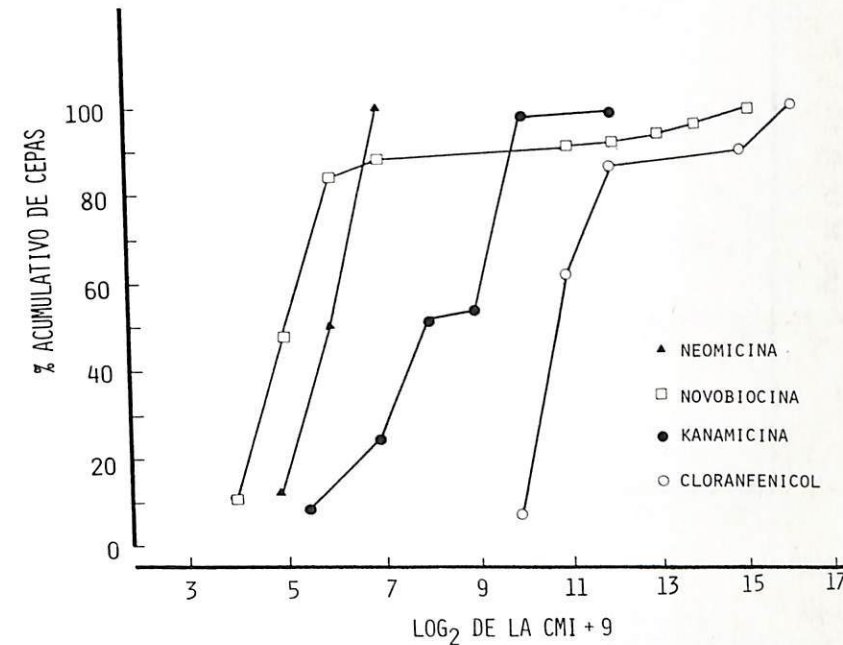


FIGURA 2 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA SENSIBILIDAD A DIVERSOS ANTIBIÓTICOS DE 71 CEPAS DE ESTAFILOCOCOS.

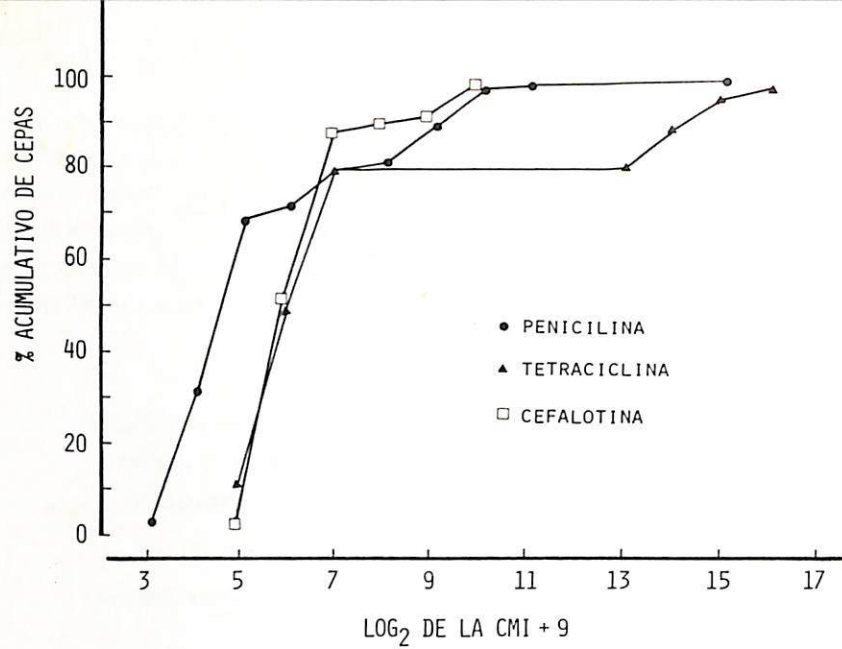


FIGURA 3 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA SENSIBILIDAD A DIVERSOS ANTIBIÓTICOS DE 71 CEPAS DE ESTAFILOCOCOS.

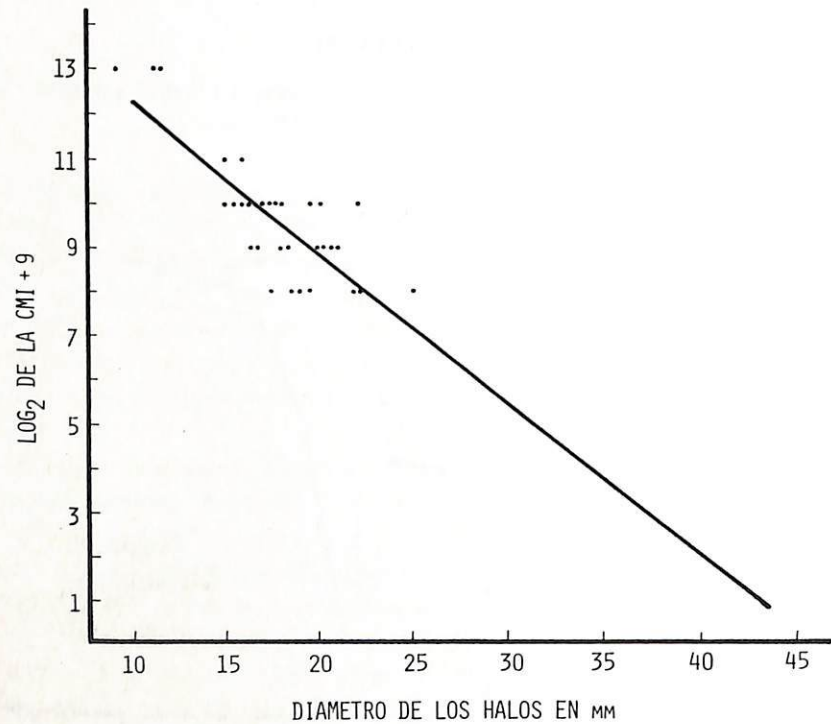


FIGURA 4 ESTREPTOMICINA: 71 ZONAS DE INHIBICIÓN FRENTE A LAS CMI. MUCHOS PUNTOS CORRESPONDEN A MÁS DE UNA CEPA. LÍNEA DE REGRESIÓN:  $Y = 15,58 - 0,36x$ ;  $N = 56$  (SE EXCLUYERON DE LOS CÁLCULOS 15 VALORES SIN ZONA DE INHIBICIÓN), COEFICIENTE DE CORRELACIÓN:  $r = 0,81$ .

No existe información acerca de la resistencia a los antibióticos de estafilococos aislados a partir de abscesos en inspección de carnes. Por lo que se refiere a procesos clínicos, los datos más abundantes se refieren a estafilococos aislados a partir de casos de mamitis en el ganado vacuno. En nuestro país, los trabajos de ROJO VAZQUEZ *et al.*<sup>31</sup> y de GARCÍA *et al.*<sup>16</sup> señalan también un porcentaje importante de cepas resistentes a la penicilina y a la estreptomina. Por otro lado, la información procedente de otros países es también coincidente en este extremo<sup>1 19 21</sup>.

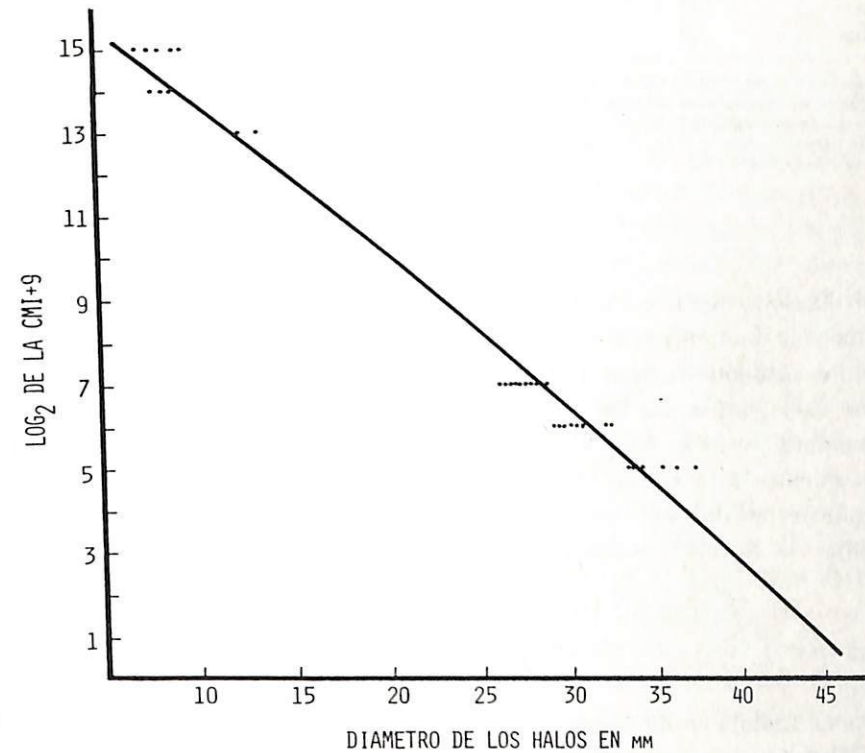


FIGURA 5 TETRACICLINA: 71 ZONAS DE INHIBICIÓN FRENTE A LA CMI. MUCHOS PUNTOS CORRESPONDEN A MÁS DE UNA CEPA. LÍNEA DE REGRESIÓN:  $Y = 17,49 - 0,37x$ ;  $N = 69$  (SE EXCLUYERON DE LOS CÁLCULOS 2 VALORES SIN ZONA DE INHIBICIÓN). COEFICIENTE DE CORRELACIÓN:  $r = 0,98$ .

La utilización de dos sistemas diferentes de estudio de resistencias a los antibióticos nos permitió determinar el coeficiente de correlación para los antibióticos estudiados, comprobando la correlación lineal inversa existente



**TABLA VII**

**Cuadro de correlaciones entre el diámetro de los halos de inhibición y las CMI**

| Antibiótico    | N.º de valores* | r      | a       | b (-)  | ES <sub>b</sub> (±) |
|----------------|-----------------|--------|---------|--------|---------------------|
| Cefalotina     | 71              | 0,3598 | 10,4146 | 0,0975 | 0,0300              |
| Cloranfenicol  | 70              | 0,9294 | 17,6726 | 0,2398 | 0,0100              |
| Eritromicina   | 68              | 0,9402 | 15,5484 | 0,3662 | 0,0173              |
| Estreptomocina | 56              | 0,8147 | 15,5878 | 0,3373 | 0,0331              |
| Gentamicina    | 71              | 0,9415 | 14,3443 | 0,3181 | 0,0141              |
| Kanamicina     | 71              | 0,9455 | 17,4752 | 0,3555 | 0,0141              |
| Meticilina     | 70              | 0,6550 | 12,2446 | 0,1811 | 0,0244              |
| Neomicina      | 71              | 0,9299 | 10,7404 | 0,1763 | 0,0100              |
| Novobiocina    | 71              | 0,8830 | 20,6814 | 0,4570 | 0,0300              |
| Penicilina     | 71              | 0,8170 | 13,3764 | 0,2139 | 0,0173              |
| Tetraciclina   | 69              | 0,9880 | 17,4905 | 0,3741 | 0,0100              |

\* La variación en el número de valores se debe a que en algunos casos no se observaban halos de inhibición, por lo que se excluyen de los cálculos (BARRY, 1976).

r = coeficiente de correlación.

Ecuación de regresión:  $Y = a + bx$ ;  $Y = \log_2 \text{ CMI} + 9$ ;  $x = \text{diámetro de los halos de inhibición en mm.}$

ES<sub>b</sub> = Error standard de la b.

entre el diámetro de los halos de inhibición y las CMIs<sup>5</sup>. Excepto para la cefalotina y la metilina, los coeficientes de correlación obtenidos para el resto de los antibióticos fueron elevados ( $r \geq 0,8$ ). En la Tabla VII se presentan estos datos, así como los valores a y b de la ecuación de regresión y el error standard de la b. Las Figs. 4 y 5 representan las líneas de regresión correspondientes a la estreptomocina y a la tetraciclina, respectivamente. Se han elegido estos dos antibióticos por presentar los valores extremos de los coeficientes de correlación encontrados.

## RESUMEN

En este trabajo se da cuenta de los resultados obtenidos en el estudio de la sensibilidad a diversos antibióticos de 71 cepas de estafilococos aisladas a partir de abscesos encontrados en inspección de carnes y se evalúan estos resultados desde el punto de vista de su importancia tanto en la salud pública como en la clínica animal.

Se han utilizado dos métodos: el de difusión en medio sólido con discos y el de dilución en medio sólido. Por este último método, se obtuvo un porcentaje de cepas resistentes a uno o más antibióticos del 56,3 %. Los mayores porcentajes de resistencias se observaron frente a la estreptomocina (25,35 %), a la penicilina (19,72 %) y a la tetraciclina (19,72 %). Exceptuados estos antibióticos, la población estudiada se mantiene, en líneas generales, sensible.

La máxima sensibilidad (100 % de las cepas) se registró frente a la cefalotina, la neomicina, la kanamicina y la gentamicina. El porcentaje de cepas polirresistentes fue del 23,94 %. Los resultados obtenidos se analizan también en relación a las especies a que pertenecían las cepas estudiadas. Finalmente, se relacionan los dos métodos de estudio de resistencias utilizados, determinando el coeficiente de correlación para cada uno de los antibióticos ensayados.

## ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM ABSCESES IN SLAUGHTERED ANIMALS

### SUMMARY

Seventy one strains of staphylococci isolated from abscesses in slaughtered animals were tested for susceptibility to twelve antimicrobials by the disc diffusion method of KIRBY BAUER and a dilution method. The purpose of this work was to evaluate the public and animal health significance of the antibiotic resistant strains. The strains had been previously classified as *S. aureus* (30), *S. intermedius* (2), *S. simulans* (3), *S. epidermidis* (3), *S. capitis* (2), *S. hominis* (5), *S. warneri* (3), *S. haemolyticus* (2), *S. saprophyticus* (1), *S. cohnii* (1), *S. xylosus* (4) and unidentified (15).

On the basis of the results of the dilution method, 56.3 % of the strains were considered as resistant to one or more antibiotics. Resistance was higher for the antibiotics streptomycin (25.35 %), penicillin and tetracycline (19.72 %) than for chloramphenicol (12.68 %), novobiocin (11.27 %), erythromycin (4.23 %) and methicillin (2.82 %). All strains were sensitive to cephalotin, neomycin, kanamycin and gentamicin. A percentage of 23.94 % of the strains showed resistance to more than one antibiotic. Results are also discussed taking into account the species in which the strains were classified. The inverse relationships between the sizes of zone of inhibition and the MICs were established and except in the case of cephalotin and methicillin comparison of the two methods showed excellent correlation.

### BIBLIOGRAFIA

- 1) BAKKEN, G. y GUDDING, G. (1978).-In vitro antibiotic sensitivity test of *Staphylococcus aureus* isolated from mastitis milk. *Nord. Vet. Medicin*, **30**: 15-17.
- 2) BARRY, A. L. (1976).-*The antimicrobial susceptibility test: principles and practices*. Lea & Febiger, Philadelphia, Pa., 236 pp.
- 3) BARRY, A. L. (1976a).-*The antimicrobial susceptibility test: principles and practices*. Lea & Febiger, Philadelphia, P.a. 92-104.
- 4) BARRY, A. L. (1976b).-*The antimicrobial susceptibility test: principles and practices*. Lea & Febiger, Philadelphia, P.a., 12-29.
- 5) BARRY, A. L. (1976c).-*The antimicrobial susceptibility test: principles and practices*. Lea & Febiger, Philadelphia, P.a., 196-207.



- 6) BAUER, A. W., KIRBY, W. M., SHERRIS, J. C. y TURCK, M. (1966).-Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**: 493-496.
- 7) BRANDER, G. C. (1977).-The use of antibiotics in the veterinary field in the 1970s. En *Antibiotics and antibiotic resistance in agriculture*. M. WOODBINE (editor). Butterworths. London, pp. 199-209.
- 8) BROWN, R. W., SANDVIK, O., SHERER, R. K. y ROSE, D. L. (1967).-Differentiation of strains of *S. epidermidis* isolated from bovine udders. *J. Gen. Microbiol.*, **47**: 273-287.
- 9) BUCHANAN, R. E. y GIBBONS, N. E. (1974).-*Bergey's manual of determinative bacteriology*, Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md., 8th edition, 483-489.
- 10) CLARK, W. T. (1974).-Staphylococcal infection in the urinary tract and its relation to urolithiasis in dogs. *Vet. Rec.*, **95**: 204-206.
- 11) DEVRIESE, L. A. (1977).-Isolation and identification of *Staphylococcus hyicus*. *Am. J. Vet. Resch.*, **38** (6): 787-792.
- 12) DEVRIESE, L. A. y KEYSER, H. (1980).-Prevalence of different species of coagulase negative staphylococci on teats and in milk samples from dairy cows. *J. Dairy Research*, **47**: 155-158.
- 13) DOBRIN, R., DAY, N., MICHAEL, A., VERNIER, R., FISH, A. y QUIE, P. (1976).-Studies of the immune response and renal injury associated with chronic coagulase-negative staphylococcal bacteremia. En *Staphylococci and staphylococcal diseases*. J. JELJASZEWICZ (editor) *Zentralbl. Bakteriol., Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I. Abt. Suppl.* 5, 137-140.
- 14) DORNBUSCH, K., HALLENDER, H. y LOFQUIST, F. (1969).-Extrachromosomal control of methicillin resistance and toxin production in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.*, **98**: 351-358.
- 15) FEDERAL REGISTER (1975).-Code of federal regulations. Title 21: food and drugs. Parts 300 to 499. Published by the office of the Federal Register, U. S. Government, Printing Office, Washington.
- 16) GARCÍA, 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.
- 17) GRAMOLI, J. y WILKINSON, B. (1978).-Characterization and identification of coagulase negative, heat-stable deoxyribonuclease-positive staphylococci. *J. Gen. Microbiol.*, **105**: 275-285.
- 18) HOLMBERG, O. (1973).-*Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. Biochemical properties, phage sensitivity and pathogenicity for the udder. *Acta Vet. Scand., Suppl.*, **45**: 144 pp.
- 19) HOLMBERG, O. (1975).-Phage-typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated in Sweden from bovine milk. *Acta Vet. Scand.*, **16**: 411-419.
- 20) JAKUBICZ, P. y BOROWSKI, J. (1976).-*Staphylococcus epidermidis* and micrococci as an etiological agent in urinary tract infection. En *Staphylococci and staphylococcal diseases*. J. JELJASZEWICZ (editor). *Zentralbl. Bakteriol., Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I. Abt.*, pp. 141-143.
- 21) KOIRANEN, L. (1969).-Studies on staphylococci isolated from bovine milk samples with special references to phage typing, antibiotic sensitivity and mercury resistance. *Ann. Acad. Sci. Fenn. A5*, **142**: 1-58.
- 22) LIVE, I. (1972).-Staphylococci in animals: differentiation and relationship to human staphylococcosis. En *The Staphylococci*. J. O. COHEN (editor). John Wiley, N.Y., 443-456.
- 23) MARD, P. A., HOVELIUS, B., HOVELIUS, K. y NILSSON, P. (1978).-Coagulase-negative, novobiocin-resistant staphylococci on the skin of animals and man, on meat and in milk. *Acta Vet. Scand.*, **19**: 243-253.
- 24) MENES, I. (1981).-Caracterización, enterotoxigenicidad y significado sanitario de los estafilococos aislados a partir de abscesos en inspección de carnes. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria de León.
- 25) NCCLS SUBCOMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (1974).-Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests, as used in clinical laboratories. En *Current techniques for antibiotic susceptibility testing*. A. BALLOWS (editor), Charles C. Thomas, Springfield, 138-155.
- 26) NORD, C. E., HOLTA-ÖIE, S., LJUNGH, A. y WADSTRÖM, T. (1976).-Characterization of coagulase negative staphylococcal species from human infections. En *Staphylococci and staphylococcal diseases*. J. JELJASZEWICZ (editor). *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd., Infektionskr. Hyg. I. Abt. Suppl.* 5, 105-111.
- 27) OEDING, P. y DIGRANES, A. (1976).-*Staphylococcus saprophyticus*: classification and infections. En *Staphylococci and staphylococcal diseases*. J. JELJASZEWICZ (editor). *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd., Infektionskr. Hyg. I. Abt. Suppl.* 5, 11-21.
- 28) OEDING, P. y DIGRANES, A. (1977).-Classification of coagulase negative staphylococci in the diagnostic laboratory. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect. B*, **85**: 136-142.
- 29) PATTEE, P. y GLATZ, B. (1980).-Identification of a chromosomal determinant of enterotoxin A production in *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39** (1): 186-193.
- 30) PORGORZELSKA, A. y WENCIL, Z. (1965).-Citado por SMITH, W. W. (1974).-Antibiotic-resistant bacteria in animals: the dangers to human health. *Br. Vet. J.*, **130**: 110-119.
- 31) ROJO, J., FERNÁNDEZ, M. y ALLER, J. M. (1977).-Aportación al estudio de las mamicas bovinas de tipo subclínico. *An. Fac. Vet. León*, **XXIII** (1): 37-53.
- 32) SHAFER, W. M. y IANDOLO, J. (1978).-Chromosomal locus for staphylococcal enterotoxin B. *Infect. Immun.*, **20**: 273-278.
- 33) SHON, E., WAGNER, V., MANDLEKOVA, Z., ZIEGLEROVA, Z. WAGNEROVA, M. y DRNKOVA, V. (1971).-Citado por SMITH, H. W. (1974). Antibiotic resistant bacteria in animals: the dangers to human health. *Br. Vet. J.*, **130**: 110-119.
- 34) WILLIAMS SMITH, H. y CRABB, W. E. (1960).-The effect on diets containing tetracyclines and penicillin on the *Saphylococcus aureus* flora of the nose and skin of pigs and chickens and their human attendants. *J. Path. Bact.*, **79**: 243-249.
- 35) WILLIAMS SMITH, H. (1974).-Antibiotic-resistant bacteria in animals: the dangers to human health. *Br. Vet. J.*, **130**: 110-119.