

**ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS EN ESTAFILOCOCOS  
AISLADOS A PARTIR DE ABSCESOS  
EN INSPECCION DE CARNES**

*Por: I. Menes  
L. Gutiérrez  
M.<sup>a</sup> L. García  
B. Moreno*

**INTRODUCCION**

La presencia en los animales y, consiguientemente, en los alimentos de origen animal de estafilococos patógenos plantea problemas en el campo de la salud pública. Por una parte, al hombre llegan por contacto con los animales y vía alimentos cepas de estafilococos patógenos y, por otra, enterotoxinas estafilocócicas presentes en los alimentos, que determinan casos y brotes de intoxicaciones humanas.

En relación con el primero de estos aspectos, la información con que se cuenta es muy escasa<sup>10</sup>, aunque está fuera de toda duda que el intercambio de cepas entre animales y hombre, y viceversa, tiene efectivamente lugar. El posible papel patógeno en el hombre de las cepas de estafilococos de origen animal es, sin embargo, poco conocido. Tampoco se conoce la incidencia en la salud pública de las resistencias a los antibióticos, frecuentes en cepas de estafilococos aisladas de los animales y de los alimentos de origen animal.

La importancia de los aspectos a los que brevemente nos hemos referido ha sido la razón determinante de que en este trabajo hayamos tratado de establecer relaciones epidemiológicas en una población de estafilococos aislados a partir de abscesos en inspección de carnes. A este fin se ha utilizado la técnica de tipificación por bacteriófagos y la clasificación en tipos ecológicos o biotipos. Además, se ha tratado de establecer relaciones entre fagotipos y resistencia de las cepas a los antibióticos.

**MATERIAL Y METODOS**

*Cepas*

Las 71 cepas de estafilococos que son objeto de estudio en este trabajo habían sido aisladas por nosotros<sup>13</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.

#### Tipificación por bacteriófagos

*Set humano de fagos.*—El set humano de fagos utilizado fue el recomendado por el Subcommittee on Phage Typing of Staphylococci<sup>21</sup>. Este set nos fue suministrado por la Dra. Martín Burgón, del Centro Nacional de Referencia para la tipificación de estafilococos por bacteriófagos, Majadahonda (Madrid). El set está constituido por los siguientes fagos:

Grupo I: 29, 52, 52A, 79 y 80.

Grupo II: 3A, 3C, 55 y 71.

Grupo III: 6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A y 85.

Misceláneo: 81, 95 y 96.

Los fagos nos fueron enviados liofilizados, de tal modo que una vez reconstituidos se obtuviera la dilución  $1.000 \times \text{RTD}$  (Routine Test Dilution), que a su vez se diluía hasta la  $100 \times \text{RTD}$  y  $\text{RTD}$  para el ensayo de las cepas. Como controles de lisis se utilizaron las cepas 1030 y W57.

Para la tipificación de nuestras cepas, en una placa con 20 ml. de agar nutritivo (1% de agar) se sembraba por inundación el inóculo obtenido por el crecimiento de la cepa durante dieciséis-dieciocho horas a  $37^{\circ} \text{C}$  en tubos con 10 ml. de caldo nutritivo. El exceso de inóculo se recogía con una pipeta Pasteur, dejándose secar la placa durante treinta minutos a temperatura ambiente. A continuación, se depositaba sobre la superficie de la placa ya sembrada con una pipeta Pasteur capilar una gota de cada uno de los fagos del set, diluidos a su  $\text{RTD}$ . La incubación a  $30^{\circ} \text{C}$  se realizaba durante dieciséis-dieciocho horas. La lectura e interpretación del grado de lisis se registró de acuerdo con el siguiente esquema:

++: 50 o más placas de lisis,

+: 20-50 placas de lisis,

±: Menos de 20 placas de lisis.

Las cepas no tipificadas por ningún fago a  $\text{RTD}$  se volvían a ensayar a  $100 \times \text{RTD}$ . La lectura e interpretación de resultados se hizo, en este caso, teniendo en cuenta el esquema de Parker<sup>20</sup>.

Se consideraron como tipificadas aquellas cepas que presentaron al menos una reacción ++ a  $\text{RTD}$  o a  $100 \times \text{RTD}$ . Cada vez que se tipificaba un grupo de cepas, se incluían como controles las cepas 1030 y W75, de patrones líticos conocidos.

*Set bovino de fagos.*—El set bovino de fagos utilizado nos fue suministrado, junto con sus cepas propagadoras, todos ellos liofilizados, por el Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Inglaterra, y está constituido por los siguientes fagos<sup>22</sup>:

Grupo I: 29, 52A.

Grupo II: 3A, 116.

Grupo III: 6, 42E, 53, 75, 84.

Grupo IV: 42D, 102, 107, 117.

Misceláneo: 78, 118, 119.

Los fagos específicos para la tipificación de estafilococos de origen bovino son los que aparecen en cursiva.

Para poner a punto el set para la tipificación de las cepas se siguieron las instrucciones remitidas por el propio laboratorio, que son básicamente las descritas por Blair y Williams<sup>2</sup> y que constan de los siguientes puntos:

a) Titulación de los fagos semilla y determinación de su  $\text{RTD}$ .

b) Propagación de los fagos en agar semisólido.

c) Titulación de los fagos propagados frente a las cepas propagadoras a fin de comprobar si su título y  $\text{RTD}$  eran los adecuados. De no ser así, se volvía al punto b).

d) Determinación del espectro lítico por titulación del fago semilla y del fago nuevo frente a todas las cepas que en el paso anterior presentasen lisis o inhibición y comparando las puntuaciones de ambos fagos.

e) Tipificación de las cepas siguiendo la técnica descrita para la tipificación con el set humano, primeramente a  $\text{RTD}$  y en los casos de falta de lisis o de reacción débil (inferior a ++) se volvían a tipificar a  $100 \times \text{RTD}$ .

Los resultados obtenidos se interpretaban en la forma ya descrita para el ser humano, expresándose los patrones líticos de forma similar.

#### Sensibilidad a los antibióticos

El estudio de la sensibilidad de las cepas a los antibióticos se llevó a cabo tanto por el método de difusión en medio sólido con discos como por el método de dilución en medio sólido. Las técnicas utilizadas han sido descritas en un trabajo previo<sup>14</sup>.

#### Clasificación en biotipos

Para la adscripción de nuestras cepas a biotipos se utilizó el esquema propuesto por Hajek y Marsalek<sup>8</sup>. La descripción de las técnicas utilizadas para el ensayo de las propiedades que configuran el referido esquema han sido descritas también en un trabajo previo<sup>15</sup>.

## RESULTADOS

Los resultados de la tipificación con el set humano de fagos se presentan en la tabla I, con indicación del número de cepas lisadas a la  $\text{RTD}$  y a  $100 \times \text{RTD}$ . Puede observarse que el 8,45% de las cepas fueron tipificadas a la  $\text{RTD}$  y un 7,04% más a  $100 \times \text{RTD}$ , obteniéndose un porcentaje final de cepas tipificadas del 15,49%.

**TABLA I**  
**Tipificación de 71 cepas de estafilococos aisladas de abscesos en inspección de carnes con el set humano de fagos**

Grupos fágicos	A la RTD		A 100 × RTD*		Total	
	N.º de cepas	%	N.º de cepas	%	N.º de cepas	%
III	6	8,45	3	4,22	9	12,68
I-III			1	1,41	1	1,41
III-Misc.			1	1,41	1	1,41
Total cepas tipificadas	6	8,45	5	7,04	11	15,49
Cepas no tipificadas	65	91,55	60	84,51	60	84,51

\* A 100 × RTD sólo se ensayaron las cepas no tipificadas a la RTD.

En la tabla II se pueden observar las frecuencias de los grupos fágicos y sus combinaciones: I-III (1,41 % de las cepas), III (11,27 %) y III-Misceláneo (1,41 %). Los patrones líticos más frecuentemente encontrados fueron el 6/75/47/83A (2,82 %) y el 6/75/83A (2,82 %).

En cuanto al número de cepas lisadas por cada uno de los fagos (figura 1), el fago 6 lisó 10 cepas (14,08 %), el 75 lisó 7 cepas (9,86 %), el 54 lisó 2 cepas (2,82 %) y solamente fueron capaces de lisar una cepa los fagos 79, 77, 85 y 83A.

Respecto a las cepas tipificadas con el set bovino de fagos, tabla III, 11 (15,49 %) se tipificaron a la RTD y 8 más (11,27 %) a 100 × RTD, con lo que el total de cepas tipificadas por este set fue de 19 (26,76 %).

En la tabla IV se presentan los grupos fágicos bovinos, así como las combinaciones de los mismos y los patrones líticos. Los grupos fágicos fueron el IV (2,82 % de las cepas) y el Misceláneo (18,31 %), y los patrones líticos presentados el 78 (18,31 %), el 102 (2,82 %) y el 102/117 (1,41 %). El fago que lisó más número de cepas, tanto a la RTD como a 100 × RTD (figura 2), fue el 78 (16 cepas), seguido del 102 (3 cepas) y del 117 (1 cepa).

Todas las cepas lisadas por ambos sets de fagos pertenecían, como era de esperar, a la especie *S. aureus*, excepto una cepa lisada por el set bovino que había sido clasificada como *S. haemolyticus*.

Los resultados del estudio de la sensibilidad a los antibióticos y de la clasificación en biotipos han sido ya publicados en dos trabajos previos<sup>14 15</sup>.

## DISCUSION

Un examen de la tabla I, en la que se presentan los resultados de la tipificación con el set humano de fagos, permite observar que sólo un 8,45 % de las cepas pudieron ser tipificadas a la RTD, tipificándose a 100 × RTD un 7,04 % más de cepas

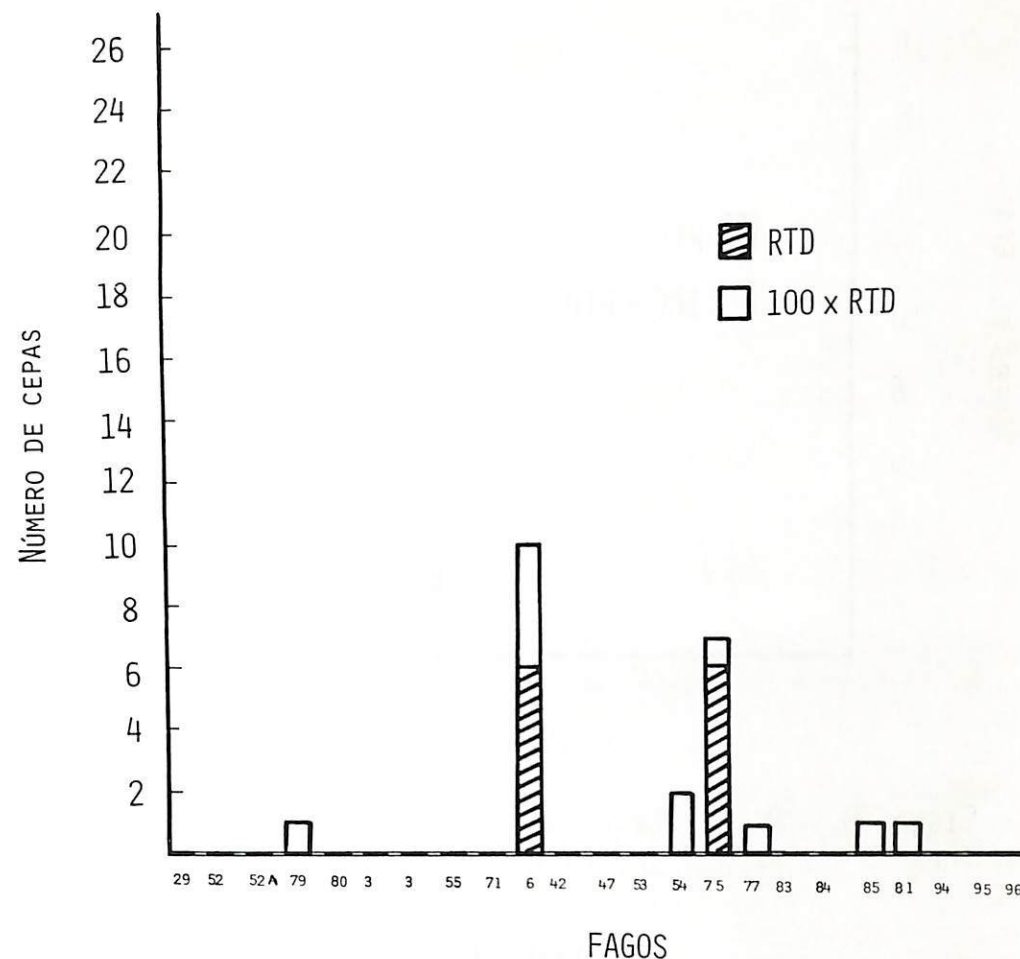


FIGURA 1. NÚMERO DE CEPAS LISADAS POR CADA UNO DE LOS FAGOS DEL SET HUMANO.

del total de las estudiadas. Referidos estos resultados a las cepas coagulasa positivas, dado que el set utilizado es específico para *S. aureus*, los porcentajes son del 17,14 % de cepas tipificadas a RTD y el 14,28 % más a 100 × RTD. El escaso número de cepas tipificadas es fácilmente explicable teniendo en cuenta el origen de las cepas y la especificidad del set utilizado para cepas de origen humano. De las 11 cepas tipificadas por este set, 10 de ellas habían sido adscritas a la especie *S. aureus*, mientras que la restante correspondía a una cepa no clasificada (tabla II). De estas cepas, 9 presentaron patrones líticos pertenecientes al mismo grupo fágico (III), en tanto que las 2 restantes presentaban patrones que incluían fagos de dos grupos, una de ellas del I-III y la otra del III-Misceláneo. Consiguientemente, todas las cepas tipificadas lo fueron por fagos del grupo III. No se encontró ninguna cepa que se

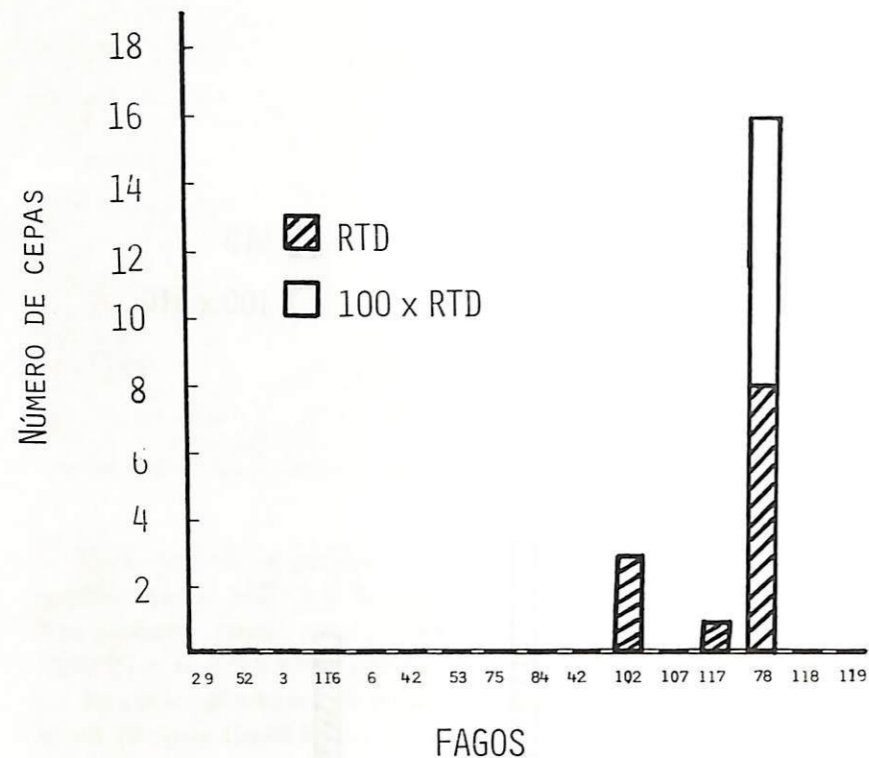


FIGURA 2. NÚMERO DE CEPAS LISADAS POR CADA UNO DE LOS FAGOS DEL SET BOVINO.

**TABLA II**  
Tipificación de 71 cepas de estafilococos aisladas de abscesos en inspección de carnes con el set humano de fagos a RTD y a 100 × RTD

Grupo fágico	Patrones líticos	ESPECIES DEL GENERO STAPHYLOCOCCUS															
		COAGULASA +					COAGULASA NEGATIVAS										
		Aur.	Inter.	N.C.*	Sim.	Epid.	Cap.	Hom.	War.	Haem.	Sapr.	Cohn.	Xyl.	N.C.			
I-III	79/6/77/85	1															
III	6/75/47	1															
	6/75/47/83A	2															
	6	1		1													
	54	1															
	6/75/47/53/83A	1															
III-Misc.	6/75/83A	2															
	6/54/75/81	1															
N.T.**		20	2	2	3	3	2	5	3	2	1	1	4	12			

\* N.C. = no clasificadas.

\*\* N.T. = no tipificadas.

**TABLA III**  
Tipificación de 71 cepas de estafilococos aisladas de abscesos en inspección de carnes con el set bovino de fagos

Grupos fágicos	A la RTD		A 100 × RTD*		Total	
	N.º de cepas	%	N.º de cepas	%	N.º de cepas	%
IV	3	4,23			3	4,23
Misc.	8	11,27	8	11,27	16	22,54
Total cepas tipificadas	11	15,49	8	11,27	19	26,76
Cepas no tipificadas	60	84,51	52	73,24	52	73,24

\* A 100 × RTD sólo se ensayaron las cepas no tipificadas a la RTD.

tipificara por los grupos fágicos II y IV, ni tampoco de modo único por el I ni por el Misceláneo.

Considerando los resultados de tipificación de las cepas con el set bovino de fagos (tabla III), destaca también, en primer lugar, el escaso número de cepas tipificadas, tanto a RTD (11 cepas, 15,49%) como a 100 × RTD (8 cepas más, 11,27%), lo que referido a cepas coagulasa positivas da un porcentaje del 54,28%, es decir aproximadamente la mitad de las mismas. El porcentaje del total de cepas estudiadas que se tipificaron con el set bovino (26,76%) fue sólo algo superior al de cepas que se tipificaron por el set humano. Destaca, en segundo lugar, la única presencia de los grupos fágicos IV y Misceláneo, con una mayor frecuencia de este último (22,45% de las cepas estudiadas) y mucho menor del primero (4,23%), así como la mayor sensibilidad al fago 78 que lisó 16 cepas, 8 a RTD y las otras 8 a 100 × RTD. El fago 102 lisó 2 cepas a RTD y los 102/117 solamente una, también a RTD. Todas las cepas tipificadas pertenecían a la especie *S. aureus*, excepto dos, que no habían podido ser clasificadas (tabla IV). También fue tipificada por este set (fago 78 del grupo Misceláneo) una cepa que había sido tentativamente clasificada como *S. haemolyticus*. Esta cepa no coagulaba los plasmas de conejo, cerdo, vaca ni humano, presentó actividad temonucleasa débil, produjo fosfatasa, lisozima y era cristal violeta tipo E y hemolítica, especialmente frente a eritrocitos humanos, no fermentaba el manitol en anaerobiosis y no se detectó la producción de gelatinasa, fibrinolisisina ni reacción alguna en medio con yema de huevo. Presentó, asimismo, resistencia conjunta a la penicilina y a la estreptomycinina.

A la vista de lo anteriormente expuesto, resulta evidente la inadecuación del set humano de fagos para la tipificación de cepas de estafilococos aisladas en inspección de carnes. Sólo fue eficaz en el caso de 11 cepas, y 5 de ellas a 100 × RTD, lo que nos hace pensar que estas cepas, dada su sensibilidad específica frente a este set, sean en realidad de origen humano. Tampoco el set bovino resulta

**TABLA IV**

Tipificación de 71 cepas de estafilococos aisladas de abscesos en inspección de carnes con el set bovino de fagos a RTD y a 100 × RTD

Grupo fágico	Patrones líticos	ESPECIES DEL GENERO STAPHYLOCOCCUS															
		COAGULASA +		COAGULASA NEGATIVAS													
		Aur.	Inter. N.C.*	Sim.	Epid.	Cap.	Hom.	War.	Haem.	Sapr.	Cohn.	Xyl.	N.C.				
IV	102	2															
	102/117	1															
Misc.	78	13	2							1							
N.T.**		14	2	1	3	3	2	5	3	1	1	1	4	12			

\* N.C. = no clasificadas.

\*\* N.T. = no tipificadas.

totalmente útil, ya que, si bien se tipificaron un mayor número de cepas que con el set humano, quedaron sin tipificar el 45,72% de las cepas coagulasa positivas. Hajek<sup>6</sup> encontró que sólo 31 (31,35%) de las 83 cepas aisladas de ovejas y por él estudiadas se tipificaban por fagos del set humano y de éstas 28 únicamente a 100 × RTD, dando la mayoría reacciones débiles (< 50 placas). Los mismos resultados obtuvo el mencionado autor en un estudio de 44 cepas aisladas de quesos de oveja, de las que se tipificaron el 35,1% sólo a 100 × RTD y con reacciones débiles. También Oeding et al.<sup>19</sup>, afirman que las cepas de estafilococos de origen animal no se tipifican a RTD por el set humano y en pequeña proporción lo hacen a 100 × RTD.

Los grupos fágicos y patrones líticos de las cepas que presentaron resistencia a los diferentes antibióticos se encuentran recogidos en las tablas V, VI y VII. Por lo que se refiere al set humano, 5 de las 14 cepas resistentes a la penicilina, 6 de las 18 resistentes a la estreptomycinina, 2 de las 14 a la tetraciclina y 1 de las 9 resistentes al cloranfenicol, se tipificaron por el grupo fágico III, espectro lítico 6/75. Otras dos más, resistentes a la penicilina y estreptomycinina, respectivamente, se tipificaron con fagos de los grupos III-Misceláneo. Debido al reducido número de cepas lisadas por fagos del set humano, no es posible hablar de una mayor frecuencia del grupo fágico III en relación con las cepas resistentes a los antibióticos mencionados. Tampoco parece que se pueda establecer ningún tipo de correlación entre grupos fágicos y resistencia a antibióticos en el grupo de cepas tipificadas por el set bovino. La casi exclusiva incidencia de los fagos 78 y 102 debe interpretarse en el mismo sentido que antes, de escaso número de cepas sensibles al set bovino. No pudieron ser tipificadas con ninguno de los dos sets las cepas resistentes a la eritromicina, kanamicina, meticilina y novobiocina.

Por otra parte, de las 17 cepas que presentaron polirresistencias, 11 eran coagulasa negativas y no se tipificaron por los fagos de ninguno de los sets utilizados, mientras que las 6 restantes, coagulasa positivas, resistentes 5 a penicilina-estreptomycinina y la otra a penicilina-estreptomycinina-cloranfenicol-tetraciclina, se tipificaron las 6 por el grupo fágico III, patrón lítico 6/75, del set humano. Una de

**TABLA V**

Relación entre resistencia a cloranfenicol, eritromicina, kanamicina y meticilina, grupos fágicos y patrones líticos

Antibiótico	Especie	Set humano			Set bovino		
		Grupo fágico	Patrón lítico	N.º cepas	Grupo fágico	Patrón lítico	N.º cepas
Cloranfenicol	<i>S. aureus</i>	III	6/75	1	Misc.	78	3
		N.T.**		3	N.T.		1
	<i>S. intermedius</i>	N.T.		2	N.T.		2
	<i>S. hominis</i>	N.T.		1	N.T.		1
	<i>S. capitis</i>	N.T.		1	N.T.		1
	N.C.*	N.T.		1	N.T.		1
Eritromicina	<i>S. haemolyticus</i>	N.T.		1	Misc.	78	1
	<i>S. epidermidis</i>	N.T.		1	N.T.		1
	<i>S. hominis</i>	N.T.		2	N.T.		2
	<i>S. cohnii</i>	N.T.		1	N.T.		1
	<i>S. xylosus</i>	N.T.		1	N.T.		1
Kanamicina	<i>S. hominis</i>	N.T.		1	N.T.		1
Meticilina	<i>S. cohnii</i>	N.T.		1	N.T.		1
	N.C.	N.T.		1	N.T.		1

\* N.C. = no clasificadas.

\*\* N.T. = no tipificadas.

**TABLA VI**

Relación entre resistencia a penicilina y estreptomycinina, grupos fágicos y patrones líticos

Antibiótico	Especie	Set humano			Set bovino		
		Grupo fágico	Patrón lítico	N.º cepas	Grupo fágico	Patrón lítico	N.º cepas
Penicilina	<i>S. aureus</i>	III	6/75	5	IV	102	1
		III-Misc.	6/54/75/81	1		102/117	1
		N.T.**		6	N.T.		10
	<i>S. epidermidis</i>	N.T.		1	N.T.		1
	N.C.*	N.T.		1	N.T.		1
Estreptomycinina	<i>S. aureus</i>	III	6/75	6	IV	102	1
		III-Misc.	6/54/75/81	1	N.T.		6
	<i>S. epidermidis</i>	N.T.		2	N.T.		2
	<i>S. hominis</i>	N.T.		4	N.T.		4
	<i>S. xylosus</i>	N.T.		2	N.T.		2
	<i>S. haemolyticus</i>	N.T.		1	Misc.	78	1
	<i>S. capitis</i>	N.T.		1	N.T.		1
	<i>S. warneri</i>	N.T.		1	N.T.		1

\* N.C. = no clasificadas.

\*\* N.T. = no tipificadas.

**TABLA VII**  
Relación entre resistencia a tetraciclina y novobiocina, grupos fágicos y patrones líticos

Antibiótico	Especie	Set humano			Set bovino		
		Grupo fágico	Patrón lítico	N.º cepas	Grupo fágico	Patrón lítico	N.º cepas
Tetraciclina	<i>S. aureus</i>	III	6/75	1	N.T.		1
	<i>S. hominis</i>	N.T.**		3	N.T.		3
	<i>S. capitis</i>	N.T.		2	N.T.		2
	<i>S. epidermidis</i>	N.T.		3	N.T.		3
	<i>S. haemolyticus</i>	N.T.		1	Misc.	78	1
	<i>S. warneri</i>	N.T.		1	N.T.		1
	N.C.*	N.T.		2	N.T.		3
		III	6	1			
Novobiocina	<i>S. xylosus</i>	N.T.		4	N.T.		4
	<i>S. saprophyticus</i>	N.T.		1	N.T.		1
	<i>S. cohnii</i>	N.T.		1	N.T.		1
	N.C.	N.T.		2	N.T.		2

\* N.C. = no clasificadas.

\*\* N.T. = no tipificadas.

ellas lo era conjuntamente por el grupo fágico III-Misceláneo, patrón lítico 6/54/75/81, del set humano, junto con el grupo fágico IV del set bovino, patrón lítico 102. Estas 6 cepas habían sido clasificadas como *S. aureus*.

Observando los datos anteriormente reseñados, se hace evidente que la mayoría de las cepas que presentaron resistencia a los antibióticos, incluidas las polirresistentes, eran por su especificidad a los fagos del set humano, de este origen, lo que indica que en el grupo de cepas por nosotros estudiado un porcentaje importante de las resistencias está ligado a estafilococos de origen humano. Estos resultados difieren de los obtenidos por De Bouyser y Ollieuz<sup>5</sup>, quienes concluyen que la antibioco-resistencia aparece con más frecuencia en cepas de estafilococos de origen animal que en las de origen humano. Sólo 9 cepas con resistencias fueron tipificadas por fagos del set bovino, lo que impide establecer conclusiones. Esta misma limitación se puede hacer extensiva a las cepas resistentes que no pudieron ser tipificadas y, por lo tanto, determinado su posible origen, con ninguno de los dos sets de fagos utilizados.

Hajek y Horak<sup>7</sup> señalan que el origen ecológico de las cepas del biotipo C puede ser fácilmente determinado con la ayuda de fagos del set bovino, ya que los estafilococos adaptados a la especie bovina son característicamente tipificables por los fagos del grupo IV, 42D, 102, 107 y 117<sup>4 11 16 18</sup>, mientras que los adaptados a ovejas se tipifican principalmente por el grupo Misceláneo, fago 78<sup>1 9 3 12 19 6</sup>.

En este contexto, hemos intentado encontrar algún tipo de relación entre la sensibilidad a los bacteriófagos de los sets humano y bovino, el biotipo al que las cepas se habían adscrito y la especie animal de la que habían sido aisladas (tabla

VIII). Destaca, como dato más importante, el que todas las cepas que se tipificaron con el fago 78 del set bovino pertenecían al biotipo C o próximo a C. Pertenecían también a este biotipo dos cepas tipificadas por el grupo fágico IV del set bovino. Oeding et al.<sup>19</sup> encuentran que el 95% de las cepas del biotipo C por ellos investigadas se tipificaban por el fago 78, al igual que Hajek<sup>6</sup>, quien señala que el 79,2% de cepas del biotipo C aisladas de ovejas eran sensibles a este fago, lo mismo que el 83,8% de otras cepas aisladas de quesos de oveja, también adscritas al biotipo C. En nuestro caso, el 65,22% de las 23 cepas adscritas al biotipo C o próximo a C se tipificaron por este fago 78, el 34,78% a RTD y el 30,43% restante a 100 × RTD. Por el contrario, de las 9 cepas tipificadas por el grupo fágico III humano, 7 habían sido adscritas a los biotipos intermedios entre A y C y próximo a A, en tanto que las otras dos cepas, junto a otra tipificada por los fagos de los grupos I-III, habían sido adscritas al biotipo próximo a C. Estas cepas tipificadas por los fagos del grupo III del set humano, y por tanto probablemente de este origen, son, según Niskanen y Koironen<sup>17</sup> las más frecuentemente aisladas de alimentos causantes de intoxicaciones alimentarias. En este sentido, todas nuestras cepas sensibles al grupo fágico III y adscritas a los biotipos intermedio entre A y C (5 cepas) y próximo a A (1 cepa) fueron productoras de enterotoxinas A y D. La única cepa que se tipificó por ambos sets, grupos fágicos III-Misceláneo del set humano y IV del set bovino, se adscribió al biotipo próximo a C.

**TABLA VIII**  
Relación entre la sensibilidad a los bacteriófagos de los sets humano y bovino, el biotipo y la especie animal de procedencia de las cepas

	Grupo fágico	Patrón lítico	Biotipo				Origen		
			Próx.* C	C	Próx. A	Int. AyC	Ov.**	Cap.	Bov.
SET HUMANO	III	6/75			1	5	3		2
		6	2				1		
		54				1	2		
SET BOVINO	I-III	79/6/77/85	1				1		
SET BOVINO	Misc.	78	3				1	1	1
				12			11		1
SET BOVINO	IV	102/117		1			1		
		102		1			1		
AMBOS	III-Misc (h)	6/54/75/81	1					1	
	IV (b)	102							

\* Próx. = próximo a...; Int. = intermedio entre...

\*\* Ov. = ovino; Cap. = caprino; Bov. = bovino.

La presencia de estafilococos de otros biotipos diferentes a los propios de las especies de las que las cepas fueron aisladas, pone de manifiesto la transferencia de estafilococos entre diferentes especies animales, así como entre éstas y el hombre.

## RESUMEN

Se presentan en este trabajo los resultados obtenidos al tipificar con el set humano y con el set bovino de bacteriófagos 71 cepas de estafilococos aisladas de abscesos en inspección de carnes, de las que 30 correspondían a *S. aureus*. Se han establecido, además, las relaciones existentes entre los grupos fágicos y patrones líticos de las cepas y la resistencia a diversos antibióticos, así como entre el primer carácter y el biotipo al que pertenecían las cepas. El 33% de las cepas de *S. aureus* y una de las cepas no clasificadas se tipificaron con el set humano de bacteriófagos. El número de cepas de *S. aureus* tipificadas con el set bovino fue de 16 (53,3%), tipificándose además dos cepas no clasificadas y otra coagulasa negativa. Los grupos fágicos más frecuentemente encontrados fueron el III, I-III y III-Misceláneo del set humano, y el IV y Misceláneo del set bovino. Los patrones líticos más frecuentes fueron el 6/75/47/83A y el 6/75/83A del set humano, y el 78, 102 y 102/117 del bovino. Los fagos que lisaron mayor número de cepas fueron el 6, el 75 y el 54 con el set humano, y el 68 y el 102 con el set bovino.

Por lo que se refiere a la relación entre la sensibilidad a los fagos y la resistencia a los antibióticos, hay que señalar que la mayor parte de las cepas resistentes a los antibióticos, incluidas las polirresistentes, fueron sensibles a fagos del set humano, lo que indica que la mayor frecuencia de antibióticorresistencias corresponde a cepas de este origen.

Finalmente, cabe destacar el hecho de que se ha observado una estrecha relación entre las cepas adscritas al biotipo C y la sensibilidad al fago 78 del set bovino.

## EPIDEMIOLOGICAL STUDIES ON STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM ABSCESES IN SLAUGHTERED ANIMALS

### SUMMARY

A total of 71 strains of staphylococci isolated from abscesses in slaughtered animals were phage-typed with the phages of the international sets for typing *S. aureus* strains from human and bovine sources. Thirty of these cultures were previously classed as *S. aureus*, 2 as *S. intermedius*, 3 as *S. simulans*, 2 as *S. capitis*, 5 as *S. hominis*, 3 as *S. warneri*, 2 as *S. haemolyticus*, 1 as *S. saprophyticus*, 1 as *S. cohnii*, 4 as *S. xylosum* and 15 as unclassified. The relationships between the resistance to several antibiotics and the phage pattern and between the latter property and the biotype have also been established.

Thirty three per cent of the *S. aureus* strains were lysed by phages in the human basic set. The number of *S. aureus* strains lysed by phages in the bovine set was 53,3%. Phage groups III, I-III and III-Miscellaneous in the human set, and IV and Miscellaneous in the bovine set, were the most frequently found. Most of the strains showed the phage patterns 6/75/47/83A and 6/75/83A with the human set, and 78, 102 and 102/117 with the bovine set. Phages which lysed the highest number of cultures were 6, 75, and 54 in the human set, and 78 and 102 in the bovine set.

Most of the antibiotic resistant strains were lysed by human phages. It was also observed that strains belonging to biotype C were lysed by phage 78 in the bovine set.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) BAYLOZOV, D. (1968).—On the phagotypification of strains of *S. aureus* of animal origin. *Vet. Sci. (Sofia)*, **5**, 73-80.
- 2) BLAIR, J. E. y WILLIAMS, R. E. (1961).—Phage typing of staphylococci. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, **24**, 771-784.
- 3) BOZHILOV, B. M. (1973).—Phage typing of staphylococci isolated from sheep with gangrenous mastitis. *Vet. Sci. (Sofia)*, **10**, 13-17.
- 4) DAVIDSON, I. (1961).—A set of bacteriophages for typing bovine staphylococci. *Res. Vet. Sci.*, **2**, 396-407.
- 5) DE BUYSER, M. L. y OLLIEUZ, N. (1979).—Contribution a l'étude de l'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées en France des produits alimentaires d'origine animale. *Rec. Med. Vet.*, **155** (7-8), 639-643.
- 6) HAJEK, V. (1978).—Identification of enterotoxigenic staphylococci from sheep and sheep cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, **35** (2), 264-268.
- 7) HAJEK, V. y HORAK, V. (1978).—A comparison of the lytic activity of poultry, human and bovine phages with staphylococci of different origin. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A*, **242**, 446-455.
- 8) HAJEK, V. y MARSALEK, E. (1976).—Staphylococci outside the hospital. *S. aureus* in sheep. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B*, **161**, 455-461.
- 9) KOROUKOV, G. (1968).—Gangrenous mastitis in ewes. II. Characteristics of the staphylococci isolated from healthy ewes and from ewes affected with gangrenous mastitis. *Vet. Sci. (Sofia)*, **5**, 51-58.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) MARKHAM, N. P. y MARKHAM, J. G. (1966).—Staphylococci in man and animals. Distribution and characteristics of strains. *J. Comp. Path.*, **76**, 49-56.
- 13) 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.
- 14) MENES, I.; GARCÍA, M. L. y MORENO, B. (1980).—Estado actual en el desarrollo de resistencias a diversos antibióticos por parte de estafilococos aislados a partir de abscesos en inspección de carnes. *An. Fac. Vet. León*, **26**, 143-157.
- 15) MENES, I.; GUTIÉRREZ, L.; FRANCISCO, J. J.; GARCÍA, M. L. y MORENO, B. (1981).—Clasificación en biotipos de estafilococos de origen animal. *Microbiología española* (en prensa).
- 16) MEYER, W. (1967).—*S. aureus* strains of phage group IV. *J. Hyg. (London)*, **65**, 439-447.
- 17) NISKANEN, A. y KOIRANEN, L. (1977).—Correlation of enterotoxin and thermonuclease production with some physiological and biochemical properties of staphylococcal strains isolated from different sources. *J. Food Protection*, **40** (8), 543-548.
- 18) 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.

- 19) OEDING, P.; HAJEK, V. y MARSALEK, E. (1976).—A comparison of antigenic structure and phage pattern with biochemical properties of *S. aureus* strains isolated from sheep. *Acta Pathl. Microbiol. Scand., Sect. B.*, **84**, 61-65.
- 20) PARKER, M. T. (1972).—Phage typing of *S. aureus*. En *Methods in Microbiology*, Vol. 7 B, J. R. NORRIS y D. W. RIBBONS (editors), Academic Press Inc., N. Y., 1-28.
- 21) SUBCOMMITTEE ON PHAGE TYPING OF STAPHYLOCOCCI (1975).—Report. *Int. J. Sist. Bacteriol.*, **25**, 240-242.
- 22) SUBCOMMITTEE ON PHAGE TYPING OF STAPHYLOCOCCI (1971).—Report. *Int. J. Sist. Bacteriol.*, **21**, 167-170.

## PRODUCCION DE LISOZIMA, PROTEASAS Y LIPASAS EN ESTAFILOCOCOS AISLADOS DE LECHE MAMITICA DE OVEJA

Por: L. Gutiérrez  
I. Menes  
M.<sup>a</sup> L. García  
B. Moreno

### INTRODUCCION

Los estafilococos de origen humano y animal difieren en algunas propiedades, pero todos ellos producen, tanto «in vivo» como «in vitro» un número considerable de sustancias extracelulares con actividad enzimática. A pesar de que su mecanismo de acción no es bien conocido, todas ellas actúan sobre el hospedador, existiendo correlación, a veces muy elevada, entre su elaboración y el carácter patógeno y/o enterotoxigénico.

De todos los enzimas producidos por los miembros del género *Staphylococcus*, las coagulasas y las nucleasas termostables son consideradas de gran valor para identificar especies y diferenciar estafilococos potencialmente patógenos. Teniendo en cuenta, sin embargo, que la virulencia de estos microorganismos se encuentra relacionada más que con un factor único, con la elaboración de una amplia gama de toxinas y enzimas, son muy abundantes los trabajos en los que se investiga la capacidad de producir estas sustancias, ya que esta información contribuye a completar la caracterización de las cepas. En este sentido, cabe destacar la producción de lisozima, de proteasas (gelatinasa y caseinasa) y de lipasas.

La presencia de lisozima en cultivos de estafilococos coagulasa positivos fue observada por Kashiba et al.<sup>20</sup>, quienes asociaron la producción de este enzima con la patogenicidad. Posteriormente, Grosgebauer et al.<sup>10</sup>, señalan que la elaboración de lisozima es un buen índice de patogenicidad, superior incluso a la producción de coagulasa libre. Esta idea no fue aceptada por otros investigadores<sup>16 18 22</sup>, y en la actualidad se considera que la capacidad de elaborar lisozima es un carácter frecuente de *S. aureus*, que presentan también otras especies de estafilococos coagulasa negativos e incluso algunos miembros del género *Micrococcus*<sup>21 22</sup>.