

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE *Staphylococcus* AISLADOS DE LECHE CRUDA

Antimicrobials Resistance of *Staphylococcus* Isolated from Raw Milk

José F. Faría¹, Aleida García¹, Angelina Márquez², Belkis Manzanilla², Dora Morales² y Aiza García¹

¹Laboratorio de Industrias Lácteas, Facultad de Ciencias Veterinarias. ²Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. Universidad del Zulia, Apartado 15252, Maracaibo 4005-A, Venezuela

RESUMEN

A 200 muestras de leche cruda recolectadas aleatoriamente de cántaras provenientes de fincas de El Laberinto, Machiques de Perijá y La Costa Oriental del Lago de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, se les determinó la presencia de inhibidores microbianos por el método del cloruro de trifetil tetrazolium, identificándose los que eran antibióticos con el método del Disco Ensayo. Las 45 muestras positivas a antibióticos se sembraron en caldo soya tripticasa, agar sangre humana y agar manitol salado. Las cepas aisladas se caracterizaron como cocos Gram positivos por morfología colonial y tinción de Gram. Las compatibles con estafilococos se identificaron hasta especie con tests bioquímicos. La sensibilidad frente a 15 antimicrobianos se realizó con el método del disco de Bauer. Se aislaron 44 cepas de estafilococos: 15 (34,1%); *S. aureus*, 12 (27,3%); *S. haemolyticus*, 6 (13,6%); *S. intermedius*, 4 (9,1%); *S. schleiferi*, 3 (6,8%); *S. hyicus*, 2 (4,6%); *S. lugdunensis* y 2 (4,6%); *S. epidermidis*. Todas las especies mostraron resistencia múltiple, al ser resistentes a más de una droga: *S. aureus* y *S. haemolyticus* fueron resistentes a penicilina y oxacilina. *S. intermedius* y *S. schleiferi* a penicilina, oxacilina y lincomicina. *S. hyicus* a penicilina, oxacilina y eritromicina. *S. lugdunensis* a penicilina, oxacilina, lincomicina y eritromicina. *S. epidermidis* a penicilina, oxacilina, lincomicina, eritromicina y cefoperazone. Se deduce el siguiente patrón común de resistencia de mayor a menor: penicilina, oxacilina, lincomicina y eritromicina. La droga más efectiva fue Imipenem, a excepción para *S. epidermidis*, quien además no fue totalmente sensible a ninguno de los antimicrobianos.

Palabras clave: Resistencia, antimicrobianos, *Staphylococcus*, leche cruda.

ABSTRACT

A total of 200 raw milk samples randomly collected from bulk tank in farms located in El Laberinto, Machiques de Perijá and eastern coast of Maracaibo lake, Zulia state, Venezuela, were examined by threephentyltetrazolium chloride test for the determination of microbial inhibitors, confirmed as antibiotics using the Disk Assay method. The 45 positive samples to antibiotics were plated on trypticase soy broth, human blood agar and manitol salt agar. Organisms were characterized as Gram positive cocci based on colony morphology and Gram stain. The species of *Staphylococcus* were identified by biochemical tests. The antimicrobial susceptibility to 15 antibiotics was performed on all isolates using the Bauer method. A total of forty four strains of *Staphylococcus* were isolated: 15 (34.1%) *S. aureus*, 12 (27.3%) *S. haemolyticus*, 6 (13.6%) *S. intermedius*, 4 (9.1%) *S. schleiferi*, 3 (6.8%) *S. hyicus*, 2 (4.6%) *S. lugdunensis* and 2 (4.6%) *S. epidermidis*. All species showed multiresistance, showing resistance to more than one antibacterial drug. *S. aureus* and *S. haemolyticus* were resistant to penicillin and oxacillin; *S. intermedius* and *S. schleiferi* to penicillin, oxacillin and lincomycin; *S. lugdunensis* to penicillin, oxacillin, lincomycin, erithromycin and cephaloperazone. The pattern of resistance in descending order was: penicillin, oxacillin, lincomycin and erithromycin. Imipenem was the most effective of the drugs tested, except for *S. epidermidis*, species which showed resistance to all antibiotics.

Key words: Resistance, antimicrobial, *Staphylococcus*, raw milk.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la resistencia a los antimicrobianos en cepas bacterianas ha coincidido con su uso a gran escala. Reportes en los años 1988 y 1994 señalan un número significati-

vo de especies aisladas de humanos y animales resistentes a las drogas [9, 30].

Desde el punto de vista genético y, de acuerdo al mecanismo de adquisición, la resistencia bacteriana se ha clasificado en cromosomal y extracromosomal o infecciosa, teniendo la primera una importancia relativamente baja por ser pocas las cepas resistentes a los antibióticos que han surgido por mutación, mientras que la extracromosomal reviste mayor importancia por su transmisión entre bacterias, la que puede ser acelerada por la acción selectiva de poblaciones resistentes [2, 5, 11, 17, 22, 31].

Los estafilococos son agentes etiológicos importantes en la producción de mastitis infecciosa, la cual ha causado grandes pérdidas económicas por su significativa prevalencia en la mayoría de los países [16, 26].

En el estado Zulia, las etiologías infecciosas más comunes de mastitis corresponden a los géneros bacterianos estafilococos y estreptococos, reportándose incidencias de 37 y 18%, respectivamente [1].

En el hombre, las especies del género estafilococos se encuentran casi siempre en nariz, boca, garganta, saliva, piel, contenido intestinal y heces, 30 a 60% de las personas son portadores nasales de estafilococos potencialmente patógenos y, cepas de la misma, por lo general se hallan en las manos de la mayoría de estas personas [12].

Las cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* tienen la propiedad de formar toxinas y causar intoxicaciones alimentarias, de las cuales se disponen diversos reportes [23, 24]. Muchas de las intoxicaciones estafilocócicas han sido asociadas al consumo de leche y productos lácteos, en donde *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos podría encontrarse desde el momento de su obtención, o bien llegar potencialmente a dichos alimentos, a partir principalmente de manipuladores, encontrando en ellos medios adecuados para su multiplicación.

El comportamiento de estafilococos frente a antimicrobianos es muy variable, al haber demostrado una elevada tolerancia y adaptabilidad frente a varias drogas antibacterianas, en especial a las penicilinas [19].

En el estado Zulia se han realizado investigaciones tendientes a establecer la incidencia de residuos de antibióticos en la leche cruda, sugiriéndose que la presencia de antimicrobianos en un elevado porcentaje de muestras de leche, pueda estar ejerciendo una presión hacia el establecimiento de poblaciones microbianas resistentes a los antibióticos, lo que podría traer como consecuencia un incremento en el número de cepas con resistencia múltiple frente a los antimicrobianos de uso común en medicina humana y veterinaria [14].

El objetivo de esta investigación fue determinar el patrón de resistencia frente a un grupo de antimicrobianos: betalactámicos, aminoglicósidos, fluoroquinolonas, macrólidos, lincomicina y quimioterápicos de cepas de estafilococos aislados de

la leche cruda, positivas a la presencia de antibióticos, producida en el estado Zulia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de leche

200 muestras de leche cruda se recolectaron aleatoriamente de fincas ubicadas en El Laberinto, Machiques de Perijá y la Costa Oriental del Lago de Maracaibo, del estado Zulia. Se tomaron 25 ml en forma aséptica, directamente de las cántaras y se trasladaron bajo refrigeración en cavas de anime hasta el Laboratorio de Industrias Lácteas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad del Zulia, en un tiempo no mayor a 3 horas.

Detección de antibióticos

Para detectar la presencia de inhibidores microbianos fue utilizado el método del cloruro de trifetil tetrazolio (CTT) (Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio) [18] y, para confirmar que los inhibidores presentes eran antibióticos las muestras positivas al CTT se sometieron a la prueba del Disco Ensayo (Difco Laboratories) propuesto por la Asociación Oficial de Analistas Químicos (AOAC) [3], utilizando *Bacillus stearothermophilus* variedad *calidolactis*.

Aislamiento e identificación de cepas bacterianas

Las muestras que resultaron positivas a la prueba de detección de antibióticos, se sembraron en caldo soya tripticasa (CST) e incubaron a 37°C por 24 horas. Posteriormente, fueron sembradas en agar sangre humana (ASH) y agar manitol salado (AMS) e incubadas a 37°C por el mismo lapso de tiempo. Los organismos se caracterizaron como cocos Gram positivos en base a la morfología colonial y la tinción de Gram. Los cocos Gram positivos compatibles con estafilococos, fueron seguidamente caracterizados con pruebas bioquímicas, en medios de agar nutritivo, glucosa, manitol, DNASA y la prueba de la coagulasa. Para la identificación de las especies se utilizaron para los casos necesarios pruebas de fermentación de azúcares, descarboxilación de la ornitina, urea y Voges-Proskauer, de acuerdo a lo propuesto en el manual de Bergey [6].

Antibiogramas

Los microorganismos aislados e identificados se sembraron en CST e incubaron a 37°C por 24 horas, el cultivo obtenido fue diluido con solución fisiológica salina (SFS) estéril hasta obtener una densidad equivalente al estándar N° 0,5 de Macfarland. Posteriormente, se aplicó el método del Disco de Bauer y col. [4], utilizando discos comerciales (BBL, DIFCO, OXOID) con las concentraciones para los antimicrobianos señalados en la TABLA I. Las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas y el criterio de sensibilidad o resistencia a cada agente fue determinado según las especificaciones del fabricante.

TABLA I
CONCENTRACIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS USADOS EN LA PRUEBA DEL DISCO DE BAUER Y COL.

Antimicrobianos	Contenido del Disco
Betalactámicos	
•Penicilinas naturales	
Penicilina G (P)	10 unidades
•Penicilinas resistentes a la penicilinas	
Oxacilina (OX)	1 µg
•Carbapenemos:	
Imipenem (Imp)	10 µg
•Betalactámicos e inhibidores de la Betalactamasa	
Amoxicilina/Ac. clavulánico (Am/Ac)	20/10 µg
•Cefalosporina 1ª Generación	
Cefazolin (Cz)	30 µg
•Cefalosporinas 2ª Generación	
Cefoxitin (Cf)	30 µg
•Cefalosporinas 3ª Generación	
Cefoperazona (Cfp)	75 µg
Aminoglicósidos	
Amikacina (An)	30 µg
Netromicina (N)	30 µg
Tobramicina (T)	10 µg
Fluoroquinolonas:	
Ciprofloxacina (Cip)	5 µg
Macrólidos:	
Eritromicina (E)	15 µg
Lincomicinas:	
Lincomicina (L)	1 µg
Quimioterápicos	
Triple sulfa (SSS)	1 µg
Fosfomicina (Ff)	50 µg

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 200 muestras de leche cruda analizadas, 45 fueron positivas a la prueba de detección de antibióticos y de éstas se aislaron 44 cepas de estafilococos; 15 (34,1%) se identificaron como *S. aureus*; 12 (27,3%), *S. haemolyticus*; 6 (13,6%), *S. intermedius*; 4 (9,1%), *S. schleiferi*; 3 (6,8%), *S. hyicus*; 2 (4,6%), *S. lugdunensis* y 2 (4,6%), *S. epidermidis*. En la FIG. 1, se muestra la distribución porcentual de las especies, para las cepas de estafilococos aisladas de leche cruda.

En la FIG. 2 se presentan los resultados de los antibiogramas para las especies de estafilococos, frente a los 15 antimicrobianos probados.

Las 44 cepas aisladas de estafilococos resultaron resistentes a penicilina y oxacilina. En 1944, la mayor parte de los estafilococos eran sensibles a la penicilina, aunque ya se habían observado algunas cepas resistentes; después de su uso masivo, se observó cuatro años más tarde que entre un 65 y 85% de estafilococos aislados en hospitales eran resistentes; y ya para 1986, los estafilococos resistentes a penicilina no solo incluyeron los adquiridos en los hospitales, sino también a un 80% de los aislados en la comunidad [20]. El desarrollo de resistencia a la penicilina por estafilococos ha sido atribuido a la producción de penicilinasas y posiblemente a la transferencia de plásmidos de resistencia [30].

En Venezuela es escasa la información sobre la resistencia a los antimicrobianos de estafilococos aislados de leche, disponiéndose sólo de un estudio realizado en 1976 sobre la sensibilidad *in vitro* de estafilococos hemolíticos aislados de mastitis bovina en el estado Zulia [10], donde se señala que sólo 11 cepas de un total de 100, fueron resistentes a penicilina.

En otros países han sido reportados porcentajes de resistencia más bajos para los estafilococos frente a la penicilina. En Nigeria [29], un estudio realizado sobre el patrón de resistencia de 248 estafilococos aislados de leche y productos lácteos, mostró que 63 cepas (25,4%) eran resistentes a penicilina, mientras que un estudio realizado en los Estados Uni-

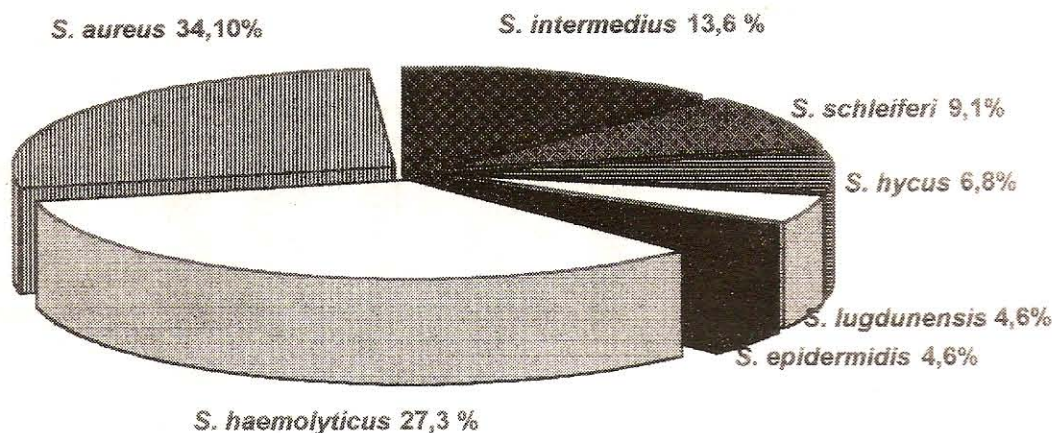


FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LAS ESPECIES IDENTIFICADAS DENTRO DEL GÉNERO *Staphylococcus* EN LAS LECHES CON ANTIBIÓTICOS.

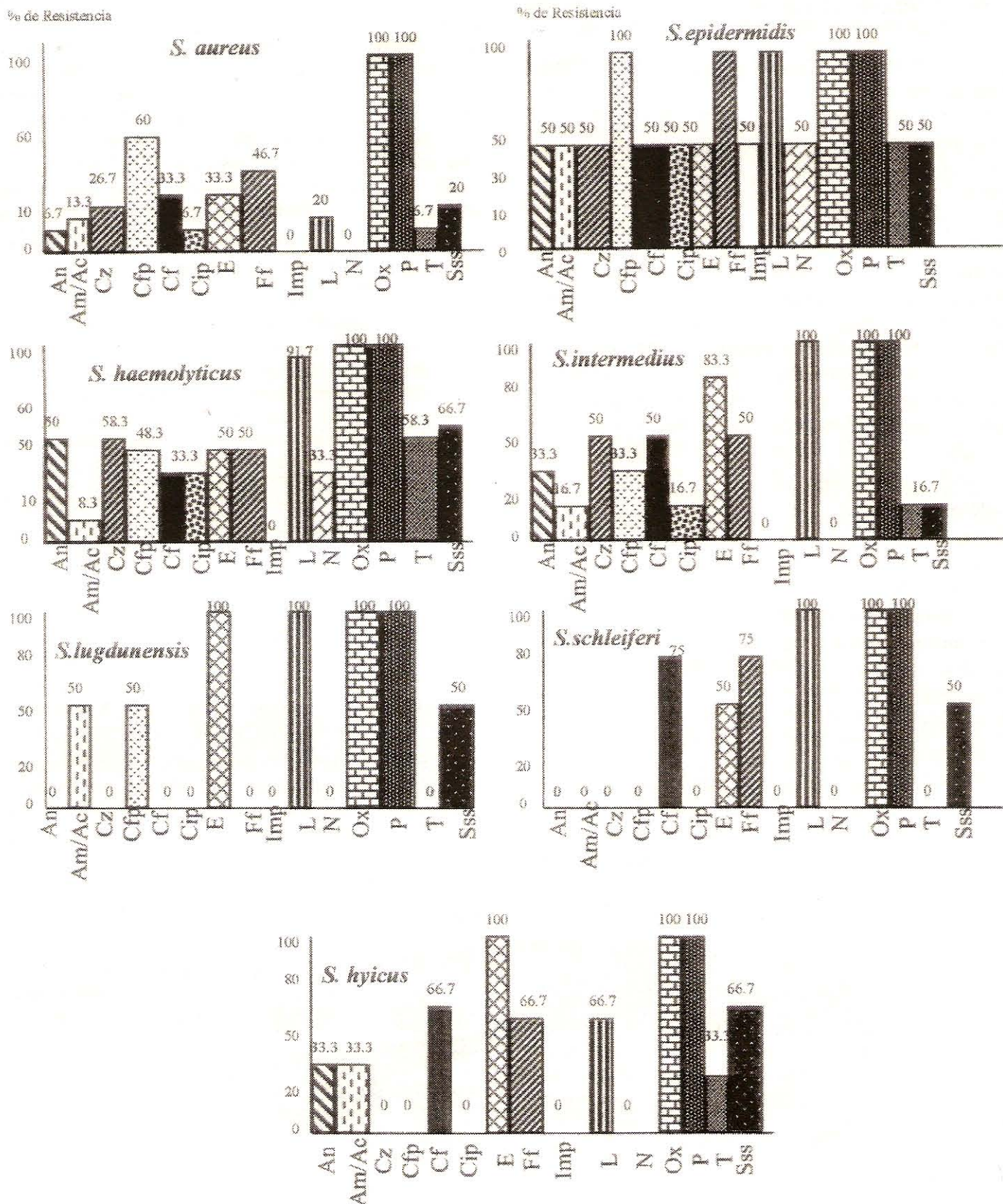


FIGURA 2. ANTIBIOGRAMAS DE LAS ESPECIES DE *Staphylococcus* AISLADOS DE LECHE CRUDA CON ANTIBIÓTICO.

dos de Norteamérica [25] en muestras de leche recolectada de los cuartos mamarios individuales de vacas, mostró que cepas de estafilococos que tenían una concentración inhibitoria mínima (CIM) en un rango de $\leq 0,06$ - ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$, presentaron una susceptibilidad de 43%, mientras que cepas con un CIM entre $\leq 0,001$ - $0,015$ $\mu\text{g/ml}$, mostraron una susceptibilidad del 100%.

El desarrollo de resistencia por parte de los estafilococos a la penicilina estimuló la búsqueda de otras drogas antibacterianas, entre ellas penicilinas resistentes a las penicilinasas, como la oxacilina, sin embargo ya en nuestro medio se observa una resistencia total de todas las cepas aisladas a esta droga, FIG. 2.

Todas las especies aisladas mostraron resistencia múltiple, al encontrarse una insensibilidad para al menos 2 antimicrobianos. *S. aureus* y *S. haemoliticus* fueron resistentes a penicilina y oxacilina. *S. intermedius*, *S. schleiferi* y *S. hyicus* fueron resistentes a 3 antimicrobianos: penicilina, oxacilina y lincomicina, para las 2 primeras especies, y penicilina, oxacilina y eritromicina para *S. hyicus*. Las cepas de *S. lugdunensis* eran resistentes a 4 antimicrobianos: penicilina, oxacilina, lincomicina y eritromicina, mientras que las 2 cepas de *S. epidermidis* fueron resistentes frente a 5 antimicrobianos: penicilina, oxacilina, lincomicina, eritromicina y cefoperazone. Estos resultados permiten deducir el siguiente patrón común de resistencia en orden descendente: penicilina, oxacilina, lincomicina y eritromicina.

En un estudio realizado en 1966 [28], se reportó que los antimicrobianos más efectivos frente a los organismos mastíticos (estafilococos y estreptococos) fueron: penicilina (90,87% de sensibilidad), eritromicina (98,47%) y clormicetina (99,61%). Mientras que en una revisión realizada en Rusia [27] sobre la sensibilidad a los antibióticos de estafilococos y estreptococos aislados de mastitis bovina, se notó que la eritromicina fue la droga más efectiva sobre los estafilococos.

En el presente estudio la droga más efectiva contra los estafilococos fue el imipenen, con excepción para *S. epidermidis*, que fue medianamente resistente a éste.

Las especies comparativamente más sensibles fueron *S. lugdunensis* y *S. schleiferi*, al mostrar susceptibilidad frente a 8 de los antimicrobianos probados, FIG. 2. Las drogas más efectivas contra *S. aureus* y *S. intermedius* fueron imipenen y netromicina. Las más efectivas contra *S. hyicus* fueron: cefazolin, cefoperazone, cefprofloracin, imipenen y netromicina, mientras que para *S. haemoliticus* lo fue solamente imipenen. *S. epidermidis* no fue totalmente sensible a ninguno de los 15 antimicrobianos probados.

Los *S. aureus* y *S. epidermidis* son las especies más aisladas en los casos de mastitis [1, 16, 26], y junto a *S. saprophyticus* son las especies que con mayor frecuencia se asocian a la patología humana [12, 20].

La resistencia múltiple de *S. epidermidis* ha sido previamente reportada [18, 21], y se ha señalado que la ubicuidad

de estafilococos coagulasa negativa (*S. epidermidis*) y, la frecuencia con que han sido encontrados con resistencia múltiple a los antibióticos, indica que ellos pueden ser de considerable importancia como un "pool" de genes para la difusión interespecífica de la resistencia, con intervención de fagos de esas especies que son activos para *S. aureus* [17].

Se ha demostrado que las cepas antibiótico-resistentes de estafilococos producen con mayor frecuencia, toxinas que las cepas sensibles [32], por lo que la presencia de estafilococos antibiótico-resistentes en leche y productos lácteos, junto a la resistencia térmica de las toxinas producidas por éstos, podrían contribuir al incremento de los casos de intoxicaciones alimentarias, más aún cuando en diversos estudios sobre la calidad sanitaria de la leche en el estado Zulia, se reportan contajes de estafilococos superiores a los establecidos por las normativas internacionales [7, 13, 15].

Se ha sugerido la disminución de la presencia de residuos antimicrobianos en leche, como uno de los mecanismos para controlar la difusión de la resistencia múltiple por bacterias presentes en ésta, evitando así una presión selectiva del ambiente, más aún, cuando se ha demostrado, que inclusive los niveles de concentración de residuos de antibióticos y antimicrobianos considerados como seguros ("safe levels") por la FDA (Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos) tienen un fuerte potencial para la selectividad de poblaciones resistentes [8].

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Es evidente la presencia de cepas de estafilococos resistentes a penicilina, oxacilina y lincomicina en la leche con residuos de antimicrobianos, haciéndose necesario el desarrollo de futuras investigaciones con el objetivo de identificar su origen, de manera que puedan ser aplicados mecanismos que permitan disminuir la diseminación de dichas cepas a través de la leche.

AGRADECIMIENTO

A la División de Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad del Zulia por su apoyo para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALONSO, F.R. Programa de Control de Mastitis Subclínica Bovina en la Cuenca del Lago de Maracaibo. **Rev. Vet. Vzlaná**. 47:11-29. 1981.
- [2] ANDERSON, E.S. The Ecology of Transferable Drug Resistance in the Enterobacteria. **Ann. Rev. Microbiol.** 22:131-134. 1968.

- [3] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 9th Washington, D.C. 138 pp.1990.
- [4] BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotics Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **Am. J. Clin. Pathol.** 45:493-496.1966.
- [5] BENVENISTE, R.; DAVIES, J. Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacteria. **Ann Rev. Biochem.** 42: 471-475. 1973.
- [6] BERGEY, D. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Edit. "Williams & Wilkins Company". Baltimore, USA. Eighth Edition. 1600 pp.1984.
- [7] BOSCAN, L.A.; FARIA, J.F.; CHOURIO, L.A.; VASQUEZ, L.A. Contribución al Estudio Físico-Químico y Microbiológico en la Leche Cruda al Sur del Lago de Maracaibo. **Acta Cient. Vzlna.** Vol 29:85-89.1978.
- [8] BRADY, M.S.; WHITW, N.; KATZ, S. Resistance Development Potential of Antibiotic/Antimicrobial Residue Levels Designated as "Safe levels". **J. Food Protection**. Vol. 56, (3): 229-233. 1993.
- [9] CARMONA, O. Grupo de la Vigilancia de la Resistencia Bacteriana en Venezuela. Resistencia Bacteriana a los Betalactámicos en Venezuela. **Antib. e Infect.** 2: 23-26.1994.
- [10] D'POOL, G. Susceptibilidad "In Vitro" de Estafilococos Hemolíticos Aislados de Mastitis Bovina en el Estado Zulia. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinaria. (Trabajo de Ascenso). 42 pp. 1976.
- [11] DEMEREC, M. Origin of Bacterial Resistance to Antibiotics. **J. Bacteriol.** 56: 63. 1948.
- [12] DIVO, A. **Microbiología Médica**. Editorial Interamericana McGraw Hill. 4ta Edición. 446pp. 1990.
- [13] FARIA, J.F.; BOSCAN, L.A.; VASQUEZ, L.A.; GIL, D. Condiciones de Calidad de la Leche Pasteurizada Consumida en Maracaibo. **XLII Convención Anual de la ASOVAC**. Noviembre 15-20, Maracay. 22pp. 1992.
- [14] FARIA, J.F.; RIVERO, Z.; SANTOURO, R. Aislamiento de Gram Negativos en Leches Crudas con Antibióticos. **Rev. Cient. FCV-LUZ**. Vol IV, (1):11-16. 1994.
- [15] FARIA, J.F.; BOSCAN, L.A.; CHOURIO, L.A. Contribución al Estudio de la Calidad de la Leche en el Distrito Perijá del Estado Zulia. **Acta Cient. Vzlna.** Vol 25:87-92. 1974.
- [16] FOX, L.K.; GAY, J.M. Contagious Mastitis. **The Veterinary Clinic of North America**. 9(3):475-488.1993.
- [17] GOMEZ, E. Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. (Trabajo de Ascenso). 147pp. 1977.
- [18] HANDS, A.H. Assay of Inhibitory Substances. **J. Soc. Dairy Tech.** Vol. 42(4): 92-93. 1989.
- [19] HUBER, W.G. Antibacterial Drug Effectiveness Against Mastitis Pathogens. **JAVMA**.170(10): 253-259. 1977.
- [20] JAWETZ, E.; MELNICK, J.; ADELBERG, E. **Microbiología Médica**. Editorial El Manual Moderno S.A. México. Doceava Edición. 632 pp. 1987.
- [21] KAPUR, M.P.; CHABRA, P.C.; GAUTAM, O.P. Significance of *Staphylococcus epidermidis* in bovine intramammary infection. **Indian J. Dairy Sci.** 34(1):102-103. 1981.
- [22] LEDERBERG, J.; LEDERBERG, E.M. Replica Plating and Indirect Selection of Bacterial Mutants. **J. Bacteriol.** 63: 399-401. 1952.
- [23] MINOR, T.; MARTH, E.H. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food Intoxications. A Review.II. Enterotoxins and Epidemiology. **J. Milk Food Technol.** 35: 21-29. 1972.
- [24] MINOR, T.; MARTH, E.H. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food Intoxications. A Review.III. Staphylococci in Dairy Foods. **J. Milk Food Technol.** 35: 77-82. 1972.
- [25] OWENS, W.E.; RAY, C.H.; WATTS, J.L.; YANCEY, R.J. Comparison of Success of Antibiotic Therapy During Lactation and Results of Antimicrobial Susceptibility Tests for Bovine Mastitis. **J. Dairy Sci.** 80: 313-317. 1997.
- [26] PALMER, C.C.; KAKAVAS, J.C.; HAY, J.R. Studies on Bovine Mastitis. Mastitis in Heifers. **Am. J. Vet. Res.** 2: 18-34.1941.
- [27] SIMETSKII, O.A. Sensitivity to Antibiotics of Staphylococci and Streptococci Isolated from Cows with Mastitis. **Veterinari (Moskva)**. 5: 84-86. 1969.
- [28] SUZUKI, Y.; OKAMOTO, S.; KONO, M. Basis of Chloramphenicol Resistance in Naturally Isolated Resistant Staphylococci. **J. Bacteriol.** 92: 798-792. 1966.
- [29] UMOH, V.J.; ADESIYUN, A.A.; GOMWALK, N.E. Antibio-gram of Staphylococcal Strains Isolated from Milk and Milk Products. **J. Vet. Med.** 37(9): 701-706. 1990.
- [30] WALTON, J.R. Antibiotic Resistance: An Overview. **Vet. Record**. 122: 249-251. 1988.
- [31] WATANABLE, T. Infective Heredity of Multiple Drug Resistance in Bacteria. **Bacteriol. Rev.** 27: 87-89. 1963.
- [32] ZAADHOF, K.J.; FERPLAN, G. Enterotoxigenicity of Antibiotic-Resistant *Staphylococcus aureus* cultures Isolated from Mastitis Milk. **XIX International Dairy Congress**. Vet. Fac. Univ. of Munich, Federal Republic of Germany. May 21-23. 1973. (Abstract): 57. 1974.