

ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE-POSITIVOS (*Staphylococcus aureus* e *intermedius*) DE CÃES COM LESÕES DE PELE, NA REGIÃO DE LONDRINA, PR.

ERNST ECHEHARDT MULLER^a
JULIO CESAR DE FREITAS^a
AMAURI ALCINDO ALFIERI^a

RESUMO

Foram estudadas 71 cepas de estafilococos coagulase-positivas isoladas de cães com lesões características de piodermatite. Através das diferentes provas bioquímicas utilizadas, 52(73,24%) amostras foram identificadas como *S. intermedius* e 19 (26,26%) como *S. aureus*. Todas as cepas foram testadas frente a 10 substâncias antimicrobianas, demonstrando uma acentuada resistência para a penicilina G, ampicilina, tetraciclina e cloranfenicol.

PALAVRAS-CHAVE: Piodermatite; *S. intermedius*; *S. aureus*; Resistência a drogas.

1. INTRODUÇÃO

Os estafilococos coagulase-positivos são os mais freqüentemente isolados a partir de amostras clínicas de cães, onde como patógenos oportunistas, são responsáveis por uma série de infecções (COX et alii, 1984). Entre as diferentes manifestações clínicas, a piodermatite é a de maior ocorrência (KUNKLE, 1979).

Por muitos anos, e mesmo em trabalhos mais recentes, os estafilococos coagulase-positivos de origem canina foram enquadrados na espécie *S. aureus* (BLOBEL & SCHLIESER, 1980 e CALVERT, 1982). Mas já em 1976, HÁJEK propôs a denominação de *S. intermedius* para as cepas caninas. Desde então uma série de publicações demonstraram a predominância desta espécie em cães (PHILLIPS & KLOOS, 1981; RAUS & LOVE, 1983 e BERG et alii 1984). Estudos taxonômicos baseados na biotipagem e homologia de DNA, permitem dividir os estafilococos coagulase-positivos em *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* (KLOOS, 1980).

Em função do caráter muitas vezes crônico, localização das lesões e conseqüente dificuldade de tratamento, o uso sistemático e indiscriminado de substâncias antimicrobianas nas infecções estafilocócicas tem aumentado significativamente o número de amostras resistentes, e levado cada vez mais pesquisadores a estudar o espectro de susceptibilidade (COLES, 1963; COX et alii, 1984 e HOSKINS et alii, 1984).

Sendo os estafilococos coagulase-positivos, os microorganismos isolados com maior freqüência pelo laboratório de microbiologia e moléstias infecciosas em amostras clínicas de cães, enviadas pelo Hospital Veterinário da UEL e clínicas particulares de Londrina, este trabalho tem como objetivo verificar a prevalência do *S. aureus* e *S. intermedius* nestas infecções assim como caracterizá-los bioquimicamente e verificar a resistência dos mesmos frente a substâncias anti-microbianas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foram examinadas 71 amostras de estafilococos. Todas foram isoladas de cães com lesões características de piodermatite. As amostras foram coletadas com cotonetes estéreis e submetidas a isolamento de rotina em ágar sangue ovino.

A identificação da família *Micrococcaceae* se deu através das características culturais, tintoriais e produção de catalase (BAIRD-PARKER, 1974). A diferenciação entre os estafilococos e micrococos realizou-se pela fermentação anaeróbica da glucose (I.C.S.B., 1965), crescimento anaeróbico e aeróbico em tioglicolato semi-sólido (EVANS & KLOOS, 1972) e sensibilidade à lisostafina (LACHICA et alii, 1971).

Para a identificação das espécies foi empregado basicamente o esquema proposto por HÁJEK em 1976, utilizado a prova da coagulase em tubo com plasma humano e de coelho (I.C.S.B., 1965), detecção de "Clumping Factor" com fibrinogênio bovino (BRUCKLER et alii, 1981), produção de ácido a partir de carboidratos sob condições aeróbicas e anaeróbicas (KLOOS et alii, 1974), produção de acetoina pelo método de BARRIT (1936), recomendado por RAUS & LOVE (1983), produção de termonuclease (LACHICA, 1976), tipo de crescimento em ágar cristal violeta (HÁJEK, 1976), presença de hemólise em ágar sangue ovino (DEVRIESE & HÁJEK, 1980) e produção de pigmento em ágar P (BAIRD-PARKER, 1979).

Todas as cepas, preliminarmente identificadas, foram testadas quanto a resistência frente a substâncias antimicrobianas, pela técnica de BAUER et alii (1966), em caldo e ágar de Mueller Hinton com discos de sensibilidade da Difco.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 71 amostras estudadas apresentaram as células arre-

^a Professor do Depto. de Medicina Veterinária Preventiva, Patologia Animal e Zootécnica, CCA/UEL.

TABELA 1
Características das 71 amostras de estafilococos coagulase positiva (52 *S. intermedius* e 19 *S. aureus*) isolados de cães com piodermatite

AMOSTRA	Sensibilidade a Lisostafina	Crescimento anaeróbico e aeróbico em tioglicolato	Utilização anaeróbica da		Utilização aeróbica da				Pigmentação	Hemólise	Termonuclease	"Clumping Factor"	Coagulase com		Acetoína	Cristal violeta		
			Glucose	Manita	Glucose	Manita	Sacarose	Trealose					Plasma humano	Plasma coelho		A	C	E
<i>S. aureus</i>	19(100,0)*	19(100,0)	19(100,0)	19(100,0)	19(100,0)	19(100,0)	13(68,4)	13(68,4)	0(0,0)	19(100,0)	19(100,0)	13(68,4)	0(0,0)	19(100,0)	19(100,0)	1(5,2)	6(31,5)	12(62,1)
<i>S. intermedius</i>	52(100,0)	52(100,0)	52(100,0)	0(0,0)	52(100,0)	47(90,3)	52(100,0)	52(100,0)	0(0,0)	52(100,0)	52(100,0)	46(88,4)	0(0,0)	52(100,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	52(100,0)

* Nº e (%) de cepas positivas

dondadas em forma de cocos, com resultados positivos na prova da catalase e coloração de Gram. Estes resultados são concordantes com BAIRD-PARKER (1974) ao definir as características básicas da família *Micrococcaceae*.

As características bioquímicas dos estafilococos estudados, são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 2

Resistência para substâncias antimicrobianas em 52 cepas de *S. intermedius* de origem canina em Londrina, PR.

Substância Antimicrobiana	Resistência		Sensibilidade		Sensibilidade intermediária	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Penicilina G	21	40,38	29	55,76	2	3,85
Ampicilina	20	38,46	27	51,92	5	9,61
Tetraciclina	14	26,92	27	51,92	11	21,15
Cloranfenicol	11	21,15	39	75,00	2	3,85
Eritromicina	7	13,46	42	80,77	3	5,77
Gentamicina	6	11,54	46	88,46	0	0,00
Canamicina	6	11,54	23	44,23	23	44,23
Sulfazotrim	4	7,69	35	67,30	13	25,00
Cefoxitina	1	1,92	51	98,08	0	0,00
Oxacilina	0	0,00	52	100,0	0	0,00

TABELA 3

Resistência para substâncias antimicrobianas em 19 cepas de *S. aureus* de origem canina em Londrina, PR.

Substância Antimicrobiana	Resistência		Sensibilidade		Sensibilidade intermediária	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Tetraciclina	12	63,15	5	26,31	2	10,52
Penicilina G	9	47,37	8	42,10	2	10,52
Ampicilina	9	47,37	9	47,37	1	5,26
Cloranfenicol	5	26,31	14	73,68	0	0,00
Canamicina	6	31,57	8	42,10	5	26,31
Eritromicina	4	21,05	10	52,63	5	26,31
Gentamicina	2	10,52	17	89,47	0	0,00
Sulfazotrim	2	10,52	12	63,15	5	26,31
Cefoxitina	0	0,00	19	100,0	0	0,00
Oxacilina	0	0,00	19	100,0	0	0,00

Todas as cepas produziram ácido em condição anaeróbica a partir da glucose, cresceram na porção anaeróbica e aeróbica do tioglicolato e foram lisadas pela lisostafina. Estes resultados permitiram fazer a diferenciação entre os gêneros *Staphylococcus* e *Micrococcus* (I.C.S.B., 1965; LA-CHICA et alii, 1971 e EVANS & KLOOS, 1972).

Na prova da coagulase, todas as 71 culturas foram posi-

tivas com plasma de coelho mas negativas com plasma humano. Vários pesquisadores verificaram que o plasma de diferentes espécies animais não se presta igualmente para a prova da coagulase, sendo o plasma de coelho o mais indicado (I.C.S.B., 1965). MEYER (1966) utilizando paralelamente plasma de coelho e humano, verificou que 86% das cepas isoladas de cães não coagulavam plasma humano enquanto que as amostras de origem humana e das demais espécies animais o faziam regularmente. DURANI (1968) e HÁJEK & MARSALEK (1971) também apresentaram resultados semelhantes ao nosso trabalho. BERG et alii (1984) estudando 72 cepas de *S. intermedius* observaram que 68 coagularam plasma de coelho enquanto todas coagularam plasma de cão. Testaram também 22 amostras frente a plasma humano, verificando 14 positivas.

A espécie *S. intermedius* pôde ser diferenciada do *S. aureus* basicamente pela não produção de acetil-metil carbinol (acetoína) e pela incapacidade de produzir ácido em anaerobiose da manita (HÁJEK, 1976 e RAUS & LOVE, 1983). Todas amostras utilizaram sacarose, trealose e glucose em aerobiose mas somente 47 produziram ácido nestas condições a partir da manita. As 52 amostras produziram hemolisina e termonuclease, 46 "Clumping Factor" mas nenhuma demonstrou pigmentação em ágar P.

Os nossos resultados foram bastante semelhantes aos apresentados por HÁJEK (1976) ao caracterizar o *S. intermedius* como uma nova espécie de estafilococo coagulase positiva e com os trabalhos subsequentes de outros autores (RAUS & LOVE, 1983; BIBERSTEIN et alii, 1984 e FREITAS, 1984).

Os 19 estafilococos caracterizados como sendo *S. aureus* produziram ácido em condições aeróbicas e anaeróbicas a partir da manita, desdobraram aerobicamente a glucose e 13 a sacarose e a trealose. Em todas detectou-se acetofina, hemolisina e termonuclease. Apenas 13 cepas foram positivas na prova do "Clumping Factor" com fibrinogênio bovino e nenhuma colônia foi pigmentada. Os resultados do "Clumping Factor" estão de acordo com BIBERSTEIN et alii (1984) o qual encontrou 81,2% dos *S. aureus* isolados de cães positivos nesta prova mas a produção de pigmento foi conflitante com a maioria dos autores (RAUS & LOVE 1983, COX et alii, 1984).

No ágar cristal-violeta as 52 cepas de *S. intermedius* pertenceram ao grupo E de origem canina enquanto que das 19 de *S. aureus*, 12 ao grupo E, 6 ao grupo C de origem humana e 1 ao grupo A de origem bovina. Estes resultados também estão de acordo com os encontrados na literatura. MEYER (1967) examinando 72 cepas coagulase positivas de origem canina, demonstrou que 88,7% pertenciam ao grupo E, DURANI (1968) em 162 amostras isoladas de cães enquadrando 93,8% no grupo E.

Na Tabela 2 e 3, estão relacionados os dados de resistência de 52 culturas de *S. intermedius* e 19 de *S. aureus* frente

TABELA 1
Características das 71 amostras de estafilococos coagulase positiva (52 *S. intermedius* e 19 *S. aureus*) isolados de cães com pododermite

AMOSTRA	Sensibilidade a Lisostafina	Crescimento anaeróbico e aeróbico em tioglicolato	Utilização anaeróbica da		Utilização aeróbica da				Pigmentação	Hemólise	Termonuclease	"Clumping Factor"	Coagulase com		Acetoína	Cristal violeta		
			Glucose	Manita	Glucose	Manita	Sacarose	Trealose					Plasma humano	Plasma coelho		A	C	E
<i>S. aureus</i>	19(100,0)*	19(100,0)	19(100,0)	19(100,0)	19(100,0)	19(100,0)	13(68,4)	13(68,4)	0(0,0)	19(100,0)	19(100,0)	13(68,4)	0(0,0)	19(100,0)	19(100,0)	1(5,2)	6(31,5)	12(62,1)
<i>S. intermedius</i>	52(100,0)	52(100,0)	52(100,0)	0(0,0)	52(100,0)	47(90,3)	52(100,0)	52(100,0)	0(0,0)	52(100,0)	52(100,0)	46(88,4)	0(0,0)	52(100,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	52(100,0)

* NP e (%) de cepas positivas

dondadas em forma de cocos, com resultados positivos na prova da catalase e coloração de Gram. Estes resultados são concordantes com BAIRD-PARKER (1974) ao definir as características básicas da família *Micrococcaceae*.

As características bioquímicas dos estafilococos estudados, são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 2

Resistência para substâncias antimicrobianas em 52 cepas de *S. intermedius* de origem canina em Londrina, PR.

Substância Antimicrobiana	Resistência		Sensibilidade		Sensibilidade intermediária	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Penicilina G	21	40,38	29	55,76	2	3,85
Ampicilina	20	38,46	27	51,92	5	9,61
Tetraciclina	14	26,92	27	51,92	11	21,15
Cloranfenicol	11	21,15	39	75,00	2	3,85
Eritromicina	7	13,46	42	80,77	3	5,77
Gentamicina	6	11,54	46	88,46	0	0,00
Canamicina	6	11,54	23	44,23	23	44,23
Sulfazotrim	4	7,69	35	67,30	13	25,00
Cefoxitina	1	1,92	51	98,08	0	0,00
Oxacilina	0	0,00	52	100,0	0	0,00

TABELA 3

Resistência para substâncias antimicrobianas em 19 cepas de *S. aureus* de origem canina em Londrina, PR.

Substância Antimicrobiana	Resistência		Sensibilidade		Sensibilidade intermediária	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Tetraciclina	12	63,15	5	26,31	2	10,52
Penicilina G	9	47,37	8	42,10	2	10,52
Ampicilina	9	47,37	9	47,37	1	5,26
Cloranfenicol	5	26,31	14	73,68	0	0,00
Canamicina	6	31,57	8	42,10	5	26,31
Eritromicina	4	21,05	10	52,63	5	26,31
Gentamicina	2	10,52	17	89,47	0	0,00
Sulfazotrim	2	10,52	12	63,15	5	26,31
Cefoxitina	0	0,00	19	100,0	0	0,00
Oxacilina	0	0,00	19	100,0	0	0,00

Todas as cepas produziram ácido em condição anaeróbica a partir da glucose, cresceram na porção anaeróbica e aeróbica do tioglicolato e foram lisadas pela lisostafina. Estes resultados permitiram fazer a diferenciação entre os gêneros *Staphylococcus* e *Micrococcus* (I.C.S.B., 1965; LA-CHICA et alii, 1971 e EVANS & KLOOS, 1972).

Na prova da coagulase, todas as 71 culturas foram posi-

tivas com plasma de coelho mas negativas com plasma humano. Vários pesquisadores verificaram que o plasma de diferentes espécies animais não se presta igualmente para a prova da coagulase, sendo o plasma de coelho o mais indicado (I.C.S.B., 1965). MEYER (1966) utilizando paralelamente plasma de coelho e humano, verificou que 86% das cepas isoladas de cães não coagulavam plasma humano enquanto que as amostras de origem humana e das demais espécies animais o faziam regularmente. DURANI (1968) e HÁJEK & MARSALEK (1971) também apresentaram resultados semelhantes ao nosso trabalho. BERG et alii (1984) estudando 72 cepas de *S. intermedius* observaram que 68 coagularam plasma de coelho enquanto todas coagularam plasma de cão. Testaram também 22 amostras frente a plasma humano, verificando 14 positivas.

A espécie *S. intermedius* pôde ser diferenciada do *S. aureus* basicamente pela não produção de acetil-metil carbinol (acetoína) e pela incapacidade de produzir ácido em anaerobiose da manita (HÁJEK, 1976 e RAUS & LOVE, 1983). Todas amostras utilizaram sacarose, trealose e glucose em aerobiose mas somente 47 produziram ácido nestas condições a partir da manita. As 52 amostras produziram hemolisina e termonuclease, 46 "Clumping Factor" mas nenhuma demonstrou pigmentação em ágar P.

Os nossos resultados foram bastante semelhantes aos apresentados por HÁJEK (1976) ao caracterizar o *S. intermedius* como uma nova espécie de estafilococo coagulase positiva e com os trabalhos subseqüentes de outros autores (RAUS & LOVE, 1983; BIBERSTEIN et alii, 1984 e FREITAS, 1984).

Os 19 estafilococos caracterizados como sendo *S. aureus* produziram ácido em condições aeróbicas e anaeróbicas a partir da manita, desdobraram aerobicamente a glucose e 13 a sacarose e a trealose. Em todas detectou-se acetoína, hemolisina e termonuclease. Apenas 13 cepas foram positivas na prova do "Clumping Factor" com fibrinogênio bovino e nenhuma colônia foi pigmentada. Os resultados do "Clumping Factor" estão de acordo com BIBERSTEIN et alii (1984) o qual encontrou 81,2% dos *S. aureus* isolados de cães positivos nesta prova mas a produção de pigmento foi conflitante com a maioria dos autores (RAUS & LOVE 1983, COX et alii, 1984).

No ágar cristal-violeta as 52 cepas de *S. intermedius* pertenceram ao grupo E de origem canina enquanto que das 19 de *S. aureus*, 12 ao grupo E, 6 ao grupo C de origem humana e 1 ao grupo A de origem bovina. Estes resultados também estão de acordo com os encontrados na literatura. MEYER (1967) examinando 72 cepas coagulase positivas de origem canina, demonstrou que 88,7% pertenciam ao grupo E, DURANI (1968) em 162 amostras isoladas de cães enquadrou 93,8% no grupo E.

Na Tabela 2 e 3, estão relacionados os dados de resistência de 52 culturas de *S. intermedius* e 19 de *S. aureus* frente

a 10 antimicrobianos. Apesar do diferente número de amostras testadas, verificou-se que a resistência das duas espécies frente às diferentes substâncias foi bastante semelhante. Apenas os *S. aureus* apresentaram uma resistência maior frente a tetraciclina e a canamicina. COX et alii (1984) e HOSKINS et alii (1984), examinando cepas de *S. intermedius* também observaram uma alta porcentagem de culturas

resistentes à penicilina, ampicilina, tetraciclina e cloranfenicol, e uma alta sensibilidade à gentamicina e Sulfazotrin. Estes dados demonstram que para uma quimioterapia mais adequada das piодermatites é necessário que se faça a identificação do agente assim como a sua sensibilidade "in vitro" frente às drogas mais utilizadas na clínica de pequenos animais.

ABSTRACT

A total of 71 coagulase positive staphylococci isolated from dogs with typical skin disease, were studied. Of the isolates examined by different biochemical tests, 52 (73,24%) were *S. intermedius* and 19 (26,26%) *S. aureus*. Antimicrobial susceptibility tests were done in all strains. Resistance was most common to penicillin G, ampicillin, tetracycline and chloramphenicol.

KEY-WORDS: *Piodermatitis; S. intermedius; S. aureus; Drug resistance.*

AGRADECIMENTO

José Aldevino de Carvalho, Técnico do Laboratório de Microbiologia e Doenças Infecciosas do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Patologia Animal e Zootecnia da Universidade Estadual de Londrina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIRD-PARKER, A.C. Family I Micrococcaceae Pribam 1929. In: BUCHANAN, R.E. & GIBSON, N.E. (eds.) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 8th ed. Baltimore, Williams and Wilkins Company, 1974.
- BAIRD-PARKER, A.C. Methods for identifying staphylococci and micrococci. In: SKINNER, F.A. and LOVELOCK, D.W. (eds.) *Identification methods for microbiologists*. London, Academic Press, New York, 1979.
- BARRIT, N.M. The intensification of the Voges-Proskauer reaction by the addition of α -naphthol. *J. Pathol. Bacteriol.*, 42:232-35, 1936.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.G.; TURK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 45:493-96, 1966.
- BERG, J.N.; WENDELL, D.E.; VOGELWEID, C.; FALES, W.H. Identification of the major coagulase-positive *Staphylococcus* sp. of dogs as *Staphylococcus intermedius*. *Am. J. Vet. Res.*, 45:1307-09, 1984.
- BIBERSTEIN, E.L.; JANG, S.S.; HIRSH, D.C. Species distribution of coagulase-positive staphylococci in animals. *J. Clin. Microbiol.*, 19:610-15, 1984.
- BLOBEL, H. & SCHLIESSER, T.H. *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*. Stuttgart, G. Fischer, Band II, 1980. p. 21-105.
- BRUCKLER, J.; BERLICH, U. SCHAEGER, W.; BLOBEL, H. "Clumping Factor" - Reaktionen von *S. aureus* verschiedener Herkunft in Plasma- und Fibrinogenpräparationen. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A*, 251:27-32, 1981.
- CALVERT, C.A. Valvular bacterial endocarditis in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 180:1080-84, 1982.
- COLES, E.H. *Staphylococcus aureus* of canine origin. I. Bacteriophage typing and antibiotic sensitivity of cultures isolated from diseased dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 24: 803-07, 1963.
- COX, H.U.; HOSKINS, J.D.; ROY, A.F.; NEWMAN, S.S.; LUTHER, D. G. Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive staphylococci isolated from Louisiana dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 45:2039-42, 1984.
- DEVRIESE, L.A. & HÁJEK, V. A review: Identification of pathogenic staphylococci isolated from animals and foods derived from animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 49: 1-11, 1980.
- DURRANI, N. Biochemische Differenzierung von *Staphylococcus aureus* verschiedener Herkunft. Giessen, 1968. Tese (Dout.) J.L.U.
- EVANS, J.B. & KLOOS, W.E. Use of shake cultures in a semisolid thioglycolate medium for differentiating staphylococci from micrococci. *Appl. Microbiol.*, 23: 326-31, 1972.
- FREITAS, J.C. Plasmaproteinbindungen an Staphylokokken, insbesondere an *Staphylococcus hyicus* und *Staphylococcus intermedius*. Giessen, 1984. Tese (Dout.) J.L.U.
- HÁJEK, V. & MARSÁLEK, E. The differentiation of pathogenic staphylococci and a suggestion for their taxonomic classification. *Zbt. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A*, 217:176-84, 1971.
- HÁJEK, C. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 26:401-08, 1976.
- HOSKINS, J.D. COX, H.U.; ROY, A.F.; NEWMAN, S.S. What's new in bacteriology? *Staphylococcus intermedius* *Vet. Med.*, 1261-63, 1984.
- INTERNATIONAL SUBCOMMITTEE ON TAXONOMY OF STAPHYLOCOCCI AND MICROCOCCI. *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon.*, 15:109-10, 1965.
- KLOOS, W.E.; TORNABE, T.E.; SCHLEIFER, K.H. Isolation and characterization of micrococci from human skin, including two new species: *Micrococcus lylae* and

- Micrococcus kristinae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 24:79-101, 1974.
21. KLOOS, W.E. Natural populations of the genus *Staphylococcus*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 34:559-592, 1980.
22. KUNKLE, G.A. Canine pioderma. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1:7-14, 1979.
23. LACHICA, R.V.F. Simplified thermonuclease test for rapid identification of *Staphylococcus aureus* recovered on agar media. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32:633-34, 1976.
24. LACHICA, R.V.F.; HOEPRICH, P.D.; GENIGEORGIS, C. Nuclease production and lysostaphin susceptibility of *Staphylococcus aureus* and other catalase-positive cocci. *Appl. Microbiol.* 21:823-26, 1971.
25. MEYER, W. Über die Brauchbarkeit des Koagulasetestes mit verschiedenen Plasmaarten zur Differenzierung von *Staphylococcus aureus* Stammen. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, 201:331-38, 1966.
26. MEYER, W. Über die Brauchbarkeit des Kristallviolett - Testes zur Differenzierung von *Staphylococcus aureus* - Stammen. *Z. Hyg. Inf. Krh.*, 153:158-68, 1967.
27. PHILIPS, W.E. & KLOOS, W.E. Identification of coagulase-positive *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* isolates from veterinary clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 14:671-73, 1981.
28. RAUS, J. & LOVE, D.N. Characterization of Coagulase-Positive *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus aureus* isolated from veterinary clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 18:789-92, 1983.

