

Magdalena Kizerwetter-Świda¹, Dorota Chrobak-Chmiel¹, Magdalena Rzewuska¹, Marian Binek¹

¹Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Wpłynęło w czerwcu 2013 r.

1. Wstęp. 2. Grupa *Staphylococcus intermedius* (SIG, *Staphylococcus intermedius* group). 3. Występowanie *S. pseudintermedius*. 4. Potencjał zoonotyczny *S. pseudintermedius*. 5. Identyfikacja. 6. Typowanie genetyczne. 7. Wykrywanie oporności na metycylinę u szczepów *S. pseudintermedius* – metody fenotypowe. 8. Wykrywanie oporności na metycylinę u *S. pseudintermedius* – metody genotypowe. 9. *S. pseudintermedius* – oporność na antybiotyki i chemioterapeutyki. 10. Podsumowanie

***Staphylococcus pseudintermedius* – a pathogen difficult to identify**

Abstract: *Staphylococcus pseudintermedius* has recently been described as a member of the *Staphylococcus* genus. Three closely related staphylococci (*Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus delphini*) with very similar phenotypic characteristics form the *S. intermedius* group (SIG). In fact, majority of strains previously recognized as *S. intermedius* isolated from dogs were reclassified to the species *S. pseudintermedius*. Within the SIG, *S. pseudintermedius* represents the major pathogenic species and is involved in a wide variety of infections, mainly in dogs, but also in other animal species and humans. Recently, an increase has been observed in the frequency of infections caused by methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP) in animals, especially in dogs and humans. The identification of *S. pseudintermedius* in veterinary laboratories is usually not difficult, however, in laboratories working with materials collected from people the risk of misidentification is high. Moreover, the demonstration of the *mecA* gene may be a challenge in diagnostic laboratories. The objective of this review is to summarize the current knowledge of *Staphylococcus pseudintermedius*, including MRSP, with the emphasis on taxonomy, occurrence and diagnostics. Furthermore, this review present also the genetic basis of antimicrobial resistance in *S. pseudintermedius*.

1. Introduction. 2. *Staphylococcus intermedius* group (SIG) 3. The occurrence of *S. pseudintermedius*. 4. Zoonotic potential of *S. pseudintermedius*. 5. Identification. 6. Genetic typing. 7. Detection of methicillin resistance in *S. pseudintermedius* – phenotypic methods. 8. Detection of methicillin resistance in *S. pseudintermedius* – genotypic methods. 9. *S. pseudintermedius* – resistance to antimicrobials. 10. Summary

Słowa kluczowe: *Staphylococcus pseudintermedius*, identyfikacja, lekooporność

Key words: *Staphylococcus pseudintermedius*, identification, drug resistance

1. Wstęp

W ostatnich latach nastąpiły zmiany w klasyfikacji gronkowców izolowanych od zwierząt. Zastosowanie metod biologii molekularnej umożliwiło dokładną identyfikację poszczególnych gatunków oraz poznanie ich występowania. Wnikliwe badania gronkowców izolowanych od psów i innych zwierząt doprowadziły do opisanego w roku 2005 nowego gatunku *Staphylococcus pseudintermedius*, który razem ze *Staphylococcus intermedius* oraz *Staphylococcus delphini* zaliczono do tzw. grupy SIG (*Staphylococcus intermedius* group) [18]. Obecnie wiadomo, że gronkowce dawniej izolowane od psów i rozpoznawane jako *S. intermedius*, w rzeczywistości należą do gatunku *S. pseudintermedius*. Bakterie te występują najczęściej u psów jako element fizjologicznej mikrobioty skóry i błon śluzowych chociaż mogą być także czynnikiem etiologicznym zapalenia skóry, zapalenia ucha zewnętrznego, itp. [4, 21, 37].

Od zwierząt izolowanych jest co najmniej siedem gatunków gronkowców koagulazo-dodatnich,

jak: *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. delphini*, *S. intermedius*, *S. hyicus* oraz *S. lutrae* [4, 21, 37]. Vaclav Hajek opisując w latach siedemdziesiątych *S. intermedius* jako nowy gatunek zwrócił uwagę na zróżnicowanie cech fenotypowych tych bakterii [31]. Przypuszczano, że może to wynikać z równoczesnego występowania u zwierząt więcej niż jednego gatunku gronkowców. Ich klasyfikację uporządkowano dopiero po odkryciu *S. pseudintermedius* oraz utworzeniu grupy SIG. Gatunek *S. pseudintermedius* wyodrębniono po dokładnej analizie genetycznej szczepów wyizolowanych od kotów, psów, koni i papug. W roku 2007 dwa zespoły przedstawiły wyniki badań wykonanych przy pomocy metod biologii molekularnej dotyczące szczepów uprzednio rozpoznanych jako *S. intermedius*. Okazało się, że wszystkie izolaty pochodzące od psów, kotów oraz ludzi należały do gatunku *S. pseudintermedius*. Większość szczepów wyizolowanych od gołębi hodowlanych oraz koni zidentyfikowano jako *S. delphini*. Z kolei izolaty od gołębi miejskich w większości rozpoznano jako *S. intermedius* [62].

* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Narastanie oporności na antybiotyki wśród gronkowców jest zjawiskiem powszechnie znanym. Istotnym problemem związanym z leczeniem chorób wywołanych przez te bakterie jest ich oporność na antybiotyki β -laktamowe. Opisane zjawisko wynika z obecności genu *mecA* w obrębie gronkowcowej kasety chromosomalnej *mec* (SCC*mec* – staphylococcal cassette chromosome *mec*). Szczepy *S. pseudintermedius* niosące gen *mecA* określane są jako MRSP (methicillin-resistant *S. pseudintermedius*) i podobnie jak MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) są zwykle wielolekooporne, ponieważ SCC*mec* często zawiera również geny oporności na inne antybiotyki i chemioterapytyki. Wzrost częstości występowania u psów zakażeń MRSP szczególnie wyraźnie zaznaczył się po roku 2006 [46, 58, 69]. Szczepy MRSP izolowane są również od kotów, koni, ptaków oraz ludzi [61, 79].

2. Grupa *Staphylococcus intermedius* (SIG, *Staphylococcus intermedius* group)

Jednocześnie z odkryciem *S. pseudintermedius* utworzono również grupę *S. intermedius*. Obejmuje ona trzy gatunki blisko spokrewnionych gronkowców. Analiza sekwencji genów 16S rRNA gatunków zaliczanych do SIG wykazała, że podobieństwo analizowanych sekwencji przekracza 99% [4, 62]. Wiadomo również, że identyfikacja tych bakterii jest szczególnie trudna, gdyż ich cechy fenotypowe często pokrywają się, co powoduje, że rozpoznanie gatunku umożliwiają jedynie metody biologii molekularnej. *S. pseudintermedius* jest u psów dominującym gatunkiem gronkowców i sporadycznie występuje tylko u innych zwierząt oraz u ludzi. Wyniki badań Guardabassi i wsp. (2012) wskazują na to, że gatunek ten może występować także u lisów, zwierząt należących do psowatych (*Canidae*) [30].

Gatunek *S. delphini* pierwotnie został wyizolowany ze zmian ropnych na skórze delfinów, co miało miejsce w roku 1988 [77]. Najnowsze wyniki badań wskazują, że występuje on również u norek, gołębi hodowlanych oraz koni [62]. Najmniej jest danych dotyczących występowania u zwierząt *S. intermedius*. Na podstawie pracy opublikowanej przez Sasaki i wsp. (2007) wiadomo, że gatunek ten występuje u gołębi miejskich [62].

3. Występowanie *S. pseudintermedius*

S. pseudintermedius stanowi element fizjologicznej mikrobioty skóry i błon śluzowych psów, jest izolowany od 90% zdrowych zwierząt, u których najczęściej występuje na skórze krocza oraz na błonie śluzowej jamy ustnej [12, 19, 21]. Przy rozpoznawaniu nosicielstwa zalecane jest pobieranie materiału właśnie z tych

miejsz. Szczepy występujące u psów charakteryzują się dużym zróżnicowaniem cech genotypowych, co przypuszczalnie związane jest z zachowaniami społecznymi psów, obejmującymi obwąchiwanie poszczególnych osobników, co ułatwia transmisję szczepów między zwierzętami [4, 22]. *S. pseudintermedius* jako patogen oportunistyczny może być czynnikiem etiologicznym chorób skóry, zakażeń zewnętrznego przewodu słuchowego, zakażeń ran, układu moczowo-płciowego, czy zakażeń układowych [21, 37].

Transmisji gronkowców sprzyja ich zdolność do utrzymywania się w środowisku. Fakt ten potwierdzają liczne doniesienia dotyczące izolacji *S. pseudintermedius*, w tym również szczepów opornych na metycylinę z próbek pochodzących z klinik weterynaryjnych oraz z domów właścicieli psów [4, 22, 32]. Szczególnie istotne dla epidemiologii chorób gronkowcowych wydaje się występowanie tych bakterii w środowisku klinik weterynaryjnych, co przyczynia się do transmisji na zwierzęta i wywoływania zakażeń szpitalnych i stanowi również potencjalne zagrożenie dla zatrudnionych tam osób. W badaniach przeprowadzonych w klinikach weterynaryjnych stwierdzono występowanie *S. pseudintermedius* m.in na klawiaturach komputerowych [8], a szczepów opornych na metycylinę na telefonach [36] oraz fartuchach noszonych przez lekarzy weterynarii [70].

Nosicielstwo oraz zakażenia o etiologii *S. pseudintermedius* u kotów domowych są znacznie rzadziej spotykane niż u psów [32]. Ponadto klon ST71 t02 II–III *S. pseudintermedius* izolowany od kotów w Europie jest klonem dominującym w tym rejonie świata u psów, co sugeruje jego przypadkową transmisję. Hariharan i wsp. (2011) z materiału pobranego od kotów ani razu nie wyizolowali *S. pseudintermedius*, natomiast najczęściej stwierdzali obecność *Staphylococcus felis* i *Staphylococcus simulans* [33]. Z kolei Abraham i wsp. (2007) zaobserwowali występowanie *S. pseudintermedius* u 22% badanych kotów [1]. Różnica w uzyskanych wynikach mogła być spowodowana faktem, że pierwsze ze wspomnianych doświadczeń prowadzono na populacji kotów wolnożyjących w miastach, natomiast drugie na grupie kotów, których właścicielami byli studenci oraz pracownicy szkoły weterynaryjnej w USA. Sporadycznie *S. pseudintermedius* izolowany jest od kotów z obawami zapalenia skóry, zapalenia zewnętrznego przewodu słuchowego lub ropni [38].

Literatura podaje przypadki występowania *S. pseudintermedius*, w tym również MRSP u koni. Wydaje się jednak, że od koni najczęściej izolowane są gronkowce złociste oraz *S. delphini* [48, 78].

Opublikowano także dane dotyczące podklinicznego zapalenia gruczołu mlekowego o etiologii MRSP u krów w stadzie we Włoszech [59]. Autorzy tych badań zauważyli, że mimo niskiego rozpowszechnienia bak-

terii w zainfekowanych ćwiartkach wymienia, w mleku stwierdzano wysoką liczbę komórek somatycznych, co świadczy o silnej indukcji reakcji zapalnej przez wspomniane gronkowce. Zakażenie u krów było w tym przypadku wywołane przez klon ST71 t02 II–III, dominujący wśród psów w Europie.

Inny przykładem nietypowego dla MRSP gospodarza jest szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*) [34]. Szczury jako wektory wielu chorób przenoszących się na ludzi zostały przebadane w Vancouver w Kanadzie pod kątem występowania gronkowców opornych na metycylinę i okazało się, że wyizolowano od nich szczepy MRSP o właściwościach genotypowych typowych dla szczepów psich.

4. Potencjał zoonotyczny *S. pseudintermedius*

Przypadki izolacji *S. pseudintermedius* od ludzi są notowane sporadycznie, jednak na szczególną uwagę zasługuje fakt, że częstość izolacji od ludzi, którzy mają stały kontakt z psami, jest większa. Przykładowo, w badaniach przeprowadzonych na 3397 szczepach gronkowców koagulazo-dodatnich wyizolowanych od ludzi, zaledwie dwa z nich rozpoznano jako *S. pseudintermedius* [47]. Ocenia się, że kolonizacja ludzi przez ten gatunek kształtuje się na poziomie poniżej 1%. Natomiast u właścicieli psów bezobjawowe występowanie *S. pseudintermedius* jest częściej spotykane i stwierdzono je u 3,7% badanych osób, przy czym szczepy izolowane od ludzi i zwierząt charakteryzowały się identycznymi cechami genotypowymi [32, 63]. Guardabassi i wsp. (2004) wykazali obecność *S. pseudintermedius* na błonie śluzowej nosa u 7 spośród 13 właścicieli psów, u których stwierdzono głębokie ropne zapalenie skóry [29]. Co więcej 6 szczepów wyizolowanych od ludzi i psów cechowały się tymi samymi profilami PFGE (pulsed field gel electrophoresis).

U zdrowych osób stwierdzano także występowanie szczepów *S. pseudintermedius* opornych na metycylinę, przy czym częściej odnosiło się to do osób mających stały kontakt z psami. Nosicielstwo MRSP w Ameryce Północnej dotyczy około 5,2% lekarzy weterynarii [53, 82]. Jeśli chodzi o właścicieli psów, odsetek ten jest nawet większy i wynosi 13,3% [22]. Co ciekawe, ponowne badanie bakteriologiczne w kierunku obecności MRSP przeprowadzane u właścicieli psów po dwóch miesiącach dało wyniki ujemne, co może sugerować przejściowy typ nosicielstwa tego gatunku gronkowca. W przeciwieństwie do tego Paul i wsp. (2011) wykazali, że u lekarzy weterynarii zbadanych ponownie po upływie jednego miesiąca, MRSP nadal były obecne [57]. Powyżsi autorzy zjawisko to tłumaczą ciągłą ekspozycją lekarzy weterynarii na szczepy MRSP pochodzące od pacjentów.

Szczepy MSSP (methicillin-susceptible *S. pseudintermedius*) oraz MRSP mają zdolność do rozprzestrzeniania się nie tylko wśród zwierząt, ale mogą także przenosić się z psów na ludzi oraz z ludzi na psy. Przykład takiej transmisji opisano w klinice weterynaryjnej w Holandii, gdzie od 5 psów oraz jednego kota z zakażonych ran pooperacyjnych wyizolowano MRSP [75]. Szczepy o identycznym profilu oporności uzyskano również od chirurga weterynaryjnego oraz od 3 spośród 6 pielęgniarek, a także z próbek środowiskowych pobranych w klinice. Co więcej udowodniono również, że szczep MRSP o identycznej charakterystyce wyizolowano z błony śluzowej nosa psa, którego właścicielem był pracownik tej kliniki.

Przedstawione powyżej dane wskazują na wielokierunkową transmisję *S. pseudintermedius* w tym również pomiędzy psami i ludźmi. Choć nosicielstwo u ludzi ma zwykle charakter przejściowy, to w sprzyjających okolicznościach może dojść do zakażenia, które podobnie, jak kolonizacja częściej ma miejsce u ludzi kontaktujących się z psami.

W poprzednich latach zakażenia u ludzi wywołane przez gronkowce pochodzące od psów dotyczyły głównie ran po pokąsaniu przez te zwierzęta [45]. Zastosowanie metod biologii molekularnej do identyfikacji gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od zwierząt powoduje, że *S. pseudintermedius* oraz MRSP częściej są rozpoznawane jako przyczyny zakażeń u ludzi, chociaż nadal przypadki te należą do wyjątków. Ostatnio coraz częściej pojawiają się doniesienia dotyczące zakażeń u ludzi wywołanych przez gronkowce należące do tego gatunku [40, 74] i dotyczą ran pooperacyjnych [41, 42], zatok [60], serca u osób starszych po wszczepieniu rozrusznika [76], podobnie żyłaków i w konsekwencji owrzodzeń żyłakowych u osób starszych [40] oraz ropni mózgu [2]. Doprowadzają również do bakteriemii w następstwie instalowania dożylnych kateterów cewników itp. [14]. Opisywane są również przypadki zakażeń wywołanych przez MRSP, jak np.: szpitalne zapalenia płuc [25], nawracające zapalenia zatok przynosowych [73], czy zakażenia u biorców szpiku kostnego [67]. Pacjenci ci mają zwykle stały kontakt z psami.

Pierwszy opisany przypadek zakażenia przez *S. pseudintermedius* człowieka pochodzi z Belgii, z roku 2006 [76]. Wyizolowany gatunek rozpoznano na podstawie jego cech genotypowych, przy czym pierwotna diagnoza oparta jedynie na podstawie wyników uzyskanych z testów APIStaph (BioMérieux) oraz Phoenix (BD) wskazywała na *S. aureus*, z trafnością odpowiednio 88,5% oraz 97%. Jak wiadomo, oba systemy biochemicznej identyfikacji nie uwzględniają *S. pseudintermedius*. Badany szczep wyizolowano z miejsca wszczepienia rozrusznika serca. Autorzy nie podają informacji na temat kontaktu pacjenta z psem.

Można przypuszczać, że wyniki badań dotyczące występowania *S. pseudintermedius* u ludzi są zaniżone, ponieważ istnieje duże prawdopodobieństwo błędnego rozpoznawania wspomnianych gronkowców jako należących do *S. aureus* lub CNS (coagulase-negative staphylococci) [4].

Pottumarthy i wsp. (2004) zwracają uwagę na możliwość rozpoznania *S. pseudintermedius* jako *S. aureus* [60]. Wspomniany zespół opisał przypadek, w którym uzyskano wynik fałszywie dodatni posługując się testem lateksowym wykorzystywanym do wykrywania białka PBP2a *S. aureus*. Badane szczepy wyizolowano od ludzi i były one β -hemolityczne oraz koagulazo-dodatnie, co sugerowało zakwalifikowanie ich jako MRSA, jednak po zastosowaniu metod biologii molekularnej okazało się, że jest to *S. pseudintermedius*.

5. Identyfikacja

Precyzyjna identyfikacja gronkowców koagulazo-dodatnich wyizolowanych od psów i innych zwierząt nabrała szczególnego znaczenia wraz z potwierdzeniem występowania u nich patogennych szczepów MRSA oraz MRSP. Z tego powodu zwrócono uwagę na konieczność dokładnego rozpoznawania gatunków w obrębie tej grupy gronkowców. Szczególnie dotyczy to laboratoriów weterynaryjnych, jak również laboratoriów badających materiały pobierane od ludzi. Można przypuszczać, że w przypadku badania próbek pochodzących od ludzi prawidłowe rozpoznanie może być nawet trudniejsze, choćby z powodu braku doświadczenia personelu takich placówek w rozpoznawaniu typowo weterynaryjnych patogenów [4]. Prawidłowa identyfikacja szczepów MRSA oraz MRSP jest szczególnie istotna, ze względu na ich odmienny potencjał zoonotyczny oraz różnice w wartościach granicznych przy określaniu lekowrażliwości [37].

S. pseudintermedius tworzy kolonie okrągłe, średniej wielkości, wypukłe, barwy białej. Na podłożu z dodatkiem krwi owczej lub bydlęcej wokół kolonii widoczna jest strefa podwójnej β -hemolizy. Na podłożu z krwią końską hemoliza nie jest obserwowana. Szczepy *S. pseudintermedius* zwykle nie wytwarzają koagulazy związanej (CF, clumping factor). W testach opartych na aglutynacji służących do wykrywania CF, białka A i antygenów powierzchniowych *S. aureus* również dają wynik ujemny [4, 21]. Wymienione powyżej cechy mogą powodować błędne rozpoznanie tego gatunku jako CNS.

Wiadomo również, że u około 30% szczepów gronkowców złościstych izolowanych od zwierząt obserwuje się kolonie o białej barwie. Pozostałe gatunki gronkowców koagulazo-dodatnich występujące u zwierząt również tworzą kolonie o podobnym wyglądzie, barwy białej, otoczone strefą β -hemolizy. Może się wydawać, że rozpoznawanie gronkowców koagulazo-dodatnich nie jest trudne. Należy jednak pamiętać, że u około 30% szczepów *S. aureus* nie stwierdza się aktywności koagulazy [51]. Jak wynika z danych literaturowych oraz badań własnych, także część szczepów *S. pseudintermedius* daje wynik ujemny w próbie probówkowej na wykrywanie koagulazy, jak również w próbie szkiełkowej na wykrywanie CF [24].

W tabeli I przedstawiono wybrane cechy biochemiczne gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od psów. Porównanie wymienionych w tabeli cech może być pomocne w identyfikacji *S. pseudintermedius*, jednak należy pamiętać, że żadna z cech fenotypowych nie pozwala na właściwe rozpoznanie gatunków w obrębie grupy SIG, a jedynie pewną identyfikację uzyskuje się po zastosowaniu metod biologii molekularnej.

Interpretację wyników badania cech fenotypowych utrudniają sprzeczne dane literaturowe, dotyczące wyników niektórych testów biochemicznych. DeVriese i wsp. (2005) podają wynik próby na wytwa-

Tabela I
Wybrane cechy biochemiczne gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od psów

	<i>S. pseudintermedius</i>	<i>S. delphini</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>cogulans</i>	<i>S. aureus</i>
Hemoliza na podłożu z krwią	+	+	+	+	+
Koagulaza – próba probówkowa	+*	+	+	+	+*
Clumping factor	V	–	V	–	+
Próba Voges Proskauera	Słabo (+)	–	–	+	+
Wytwarzanie kwasu z D-trechozy	+	–	+	–	+
Wytwarzanie kwasu z D-laktozy	+	+	+	–	+
Wytwarzanie kwasu z D-mannitolu	V	+	–	V	+
Dihydrolaza argininy	+	–	–	+	+

V – cecha zmienna; +* – część szczepów daje wynik ujemny

rzanie acetoiny dla *S. pseudintermedius* jako dodatni [18]. Późniejsze badania przeprowadzone przez inny zespół (Sasaki i wsp. 2007) wskazują, że 66% szczepów z tego gatunku we wspomianej próbie daje wynik słabo dodatni, dodatkowo w większości przypadków wynik jest na tyle słabo wyrażony, że nie jest rozpoznawany jako dodatni przy pomocy testu Rapid 32ID (bioMérieux) [62]. Dane literaturowe pierwotnie podawały, że *S. intermedius* można odróżnić od dwóch pozostałych gatunków z grupy SIG na podstawie ujemnego wyniku testu na wytwarzanie dihydroazy argininy oraz pozytywnego wyniku beztlenowego rozkładu D-mannitolu [62]. Wspomniane cechy zostały zweryfikowane i obecnie wiadomo, że również te dane nie są przydatne w identyfikacji bakterii w obrębie grupy SIG [66].

Dane literaturowe z okresu kiedy u zwierząt rozpoznawano jedynie *S. intermedius* dokładnie charakteryzują wspomniane bakterie, jednakże biorąc pod uwagę obecny stan wiedzy, wysoce prawdopodobnym jest, że w rzeczywistości dotyczyły one *S. pseudintermedius* i w mniejszym stopniu również *S. delphini*, *S. intermedius* oraz *S. schleiferi* subsp. *coagulans*. Potwierdzają to najnowsze wyniki badań nad *S. pseudintermedius* rozpoznanych aktualnie metodami biologii molekularnej. Również cechy biochemiczne wspomnianych izolatów nie pokrywają się z cechami gronkowców stwierdzanych wcześniej u psów jako *S. intermedius* [19].

Dostępne zestawy komercyjne do identyfikacji gronkowców na podstawie cech biochemicznych nie pozwalają na rozpoznanie gatunku *S. pseudintermedius*, ponieważ nie znaleziono cech biochemicznych charakterystycznych tylko dla tego gatunku. Co więcej zestawy takie są tworzone na podstawie badań szczepów pochodzących od ludzi i tworzone bazy danych nie uwzględniają patogenów weterynaryjnych. Potwierdzają to wyniki badania skuteczności trzech komercyjnych testów do identyfikacji gronkowców wyizolowanych od zwierząt [24]. Przy pomocy popularnego w Polsce testu API Staph 32 (bioMérieux) prawidłowo rozpoznano wszystkie badane *S. aureus*, ale wszystkie *S. pseudintermedius* rozpoznano jako *S. intermedius* lub wynik testu nie dawał rozpoznania. Badano również test RapID (Remal), przy pomocy którego rozpoznano 81,8% badanych gronkowców złocistych oraz jedynie 4 spośród 12 badanych *S. pseudintermedius* zidentyfikowano jako *S. intermedius*, pozostałe wyniki wskazywały CNS lub nie uzyskano identyfikacji. Ostatni oceniany test Staph-Zym (Rosco Diagnostica) nie pozwolił na rozpoznanie żadnego z gronkowców złocistych oraz żadnego *S. pseudintermedius*, uzyskiwane wyniki wskazywały CNS lub test nie dawał rozpoznania.

Zautomatyzowane systemy szybkiej identyfikacji bakterii oparte na spektrometrii mas typu MALDI ToF (Matrix assisted laser desorption/ionisation time of

flight) mogą być przydatne do identyfikacji gatunków należących do grupy SIG, jeśli stosowane bazy danych uwzględniają również te bakterie. Czułość metody MALDI ToF do identyfikacji *S. pseudintermedius* oceniono na 78%, swoistość na 97% [16].

Gatunki należące do grupy SIG są ze sobą blisko spokrewnione i sekwencjonowanie genów 16S rRNA nie jest przydatne do ich identyfikacji, ponieważ ich podobieństwo przekracza 99% [18]. Poszczególne gatunki można rozpoznać na podstawie różnic w sekwencjach innych genów, jak np.: *hsp60*, *sodA*, termonukleazy *nuc* oraz katalazy *kat*. W laboratoriach często stosowana jest łatwiejsza w wykonaniu technika multipleks PCR opracowana do identyfikacji gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od zwierząt, bazująca na sekwencji genu termonukleazy *nuc* [64]. Opracowano również technikę RFLP-PCR opartą na sekwencji genu katalazy *kat* [10]. Kolejna technika wykorzystująca trawienie produktu PCR polega na amplifikacji fragmentu genu *pta*, a uzyskany produkt poddawany jest trawieniu z użyciem enzymu *MboI* [3]. Produkty amplifikacji uzyskane ze szczepów *S. pseudintermedius* ulegają trawieniu, natomiast produkty ze szczepów *S. delphini* oraz *S. intermedius* nie trawią się. Jednak późniejsze wyniki badań wykazały, że przy pomocy tej metody około 1% szczepów *S. pseudintermedius* wykazujących heterogenność w miejscu restrykcyjnym, nie jest rozpoznawanych [71]. Obecnie metoda ta nie znajduje zastosowania w identyfikacji *S. pseudintermedius*.

Na podstawie wyników badań gronkowców izolowanych od różnych gatunków zwierząt, przyjęto, że szczepy pochodzące od psów o charakterystyce fenotypowej uznawanej za typową dla gatunku *S. intermedius*, można rozpoznawać jako *S. pseudintermedius* bez stosowania dodatkowych badań metodami biologii molekularnej [19]. Takie postępowanie ma ułatwić codzienną pracę w laboratoriach, jest ono oparte na fakcie, że inne gatunki z grupy SIG u psów praktycznie nie występują. Wiadomo również, że precyzyjne rozpoznanie tego gatunku jest możliwe jedynie z użyciem metod biologii molekularnej. Ustalono również, że gronkowce izolowane od innych gatunków zwierząt o takiej charakterystyce fenotypowej można rozpoznać jedynie jako należące do grupy SIG, chyba, że stosuje się odpowiednie oznaczenia molekularne [19].

6. Typowanie genetyczne

Metody wykorzystywane do typowania szczepów w obrębie gatunku *S. pseudintermedius* są analogiczne do metod stosowanych dla *S. aureus*. Największe zróżnicowanie uzyskuje się stosując technikę elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym (PFGE, pulsed field

gel electrophoresis). Przykładem innej metody jest typowanie z ustaleniem sekwencji nukleotydowej fragmentów wybranych genów metabolizmu podstawowego komórki – MLST (multilocus sequence typing), umożliwiające określenie typu sekwencyjnego badanych szczepów. Powszechnie stosowana jest metoda opracowana przez Bannoehr i wsp. (2007) polegająca na sekwencjonowaniu czterech genów (*pta*, *cpn60*, *tuf*, oraz *agrD*) [5]. W ostatnim czasie opisano nowy schemat typowania, który wykorzystuje sekwencje siedmiu genów (*tuf*, *cpn60*, *pta*, *purA*, *fdh*, *sar* oraz *ack*) [72]. Wykazano w ten sposób jeszcze większe zróżnicowanie szczepów *S. pseudintermedius*. Kolejną metodą jest „*spa*-typing”, czyli typowanie na podstawie polimorfizmu powtarzalnych regionów genu *spa*, kodującego białko A, a dokładnie jego zmiennego fragment X [52]. Zauważono jednak, że ponad 50% szczepów *S. pseudintermedius* wrażliwych na metycylinę nie poddaje się typowaniu przy pomocy tej metody.

Dla szczepów opornych na metycylinę dodatkowo określa się typ gronkowcowej kasyety SCC*mec*. Niektóre typy kasyety, jak np.: II, III, V stwierdzono zarówno u MRSA jak i MRSP, a także u innych gatunków gronkowców, w tym koagulazo-ujemnych [27]. Ponadto u MRSP opisano unikatowe typy kasyety SCC*mec*. Przykładem jednego z nich jest typ określany jako II–III [17]. Powstał on przez połączenie kasyety typu III *S. aureus* oraz kasyety typu II *S. epidermidis*. Inny unikatowy dla MRSP typ kasyety SCC*mec* opisano w Stanach Zjednoczonych u typu sekwencyjnego ST68 [9]. Okazał się on skróconą wersją kasyety typu V występującej u MRSA i oznaczono go jako V_T (truncated version). Ponadto niektóre izolaty, zwykle należące do typu sekwencyjnego ST105 niosą kasyety, które nie poddają się typowaniu przy użyciu dostępnych metod i są one określane jako nietypowalne.

Zestawienie wyników uzyskanych przy pomocy opisanych powyżej technik charakteryzuje właściwości genotypowe szczepów MRSP. Stwierdzono, że klonem dominującym w Europie jest ST71-t02-II–III, którego obecność stwierdzano w Niemczech, Szwajcarii, Holandii, Danii, Szwecji, we Włoszech oraz w Polsce [5, 9, 12, 39, 58, 61]. Natomiast w Ameryce Północnej dominuje klon oznaczony jako ST68-t06-V [5, 58]. Cechy obu linii klonalnych MRSP zapewniające im skuteczne rozprzestrzenianie się wśród psów nie zostały jeszcze scharakteryzowane. W przeciwieństwie do tego wśród szczepów MSSP istnieje ogromna różnorodność i nie stwierdzono dominacji określonego typu sekwencyjnego, ani profilu PFGE [9]. Co więcej, w obrębie wspomnianych szczepów są stale opisywane nowe typy sekwencyjne. Ogromne zróżnicowanie genetyczne u MSSP wyraźnie kontrastuje z ograniczoną liczbą typów sekwencyjnych obserwowanych u MRSP.

7. Wykrywanie oporności na metycylinę u szczepów *S. pseudintermedius* – metody fenotypowe

Do tej pory odnośnie wykrywania metycylinooporności obowiązywały zalecenia opracowane w roku 2008 przez Clinical Laboratory Standards Institute [15] i zgodnie z nimi dla gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od zwierząt należy stosować kryteria takie jak dla *S. aureus*, czyli w metodzie dyfuzyjnej używany jest krążek z cefoksytyną, wokół którego strefa zahamowania wzrostu o średnicy ≤ 21 mm oznacza oporność szczepu. W teście MIC (Minimal Inhibitory Concentration) dla *S. aureus* z użyciem oksacyliny rekomenduje się stężenie ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ jako wartość graniczną.

Schisser i wsp. (2009) porównali wyniki oznaczeń uzyskiwane przy zastosowaniu rekomendacji z 2008 oraz 2004 roku i stwierdzili, że graniczna wartość oksacyliny MIC ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ pozwoliła na wykrycie jedynie 22 spośród 30 badanych MRSP [68]. Zastosowanie zgodnie z rekomendacjami z 2004 roku [55] wartości granicznej MIC $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ umożliwiło wykrycie 29 spośród 30 badanych szczepów. Przy zastosowaniu krążka z oksacyliną oraz przyjęcia średnicy zahamowania wzrostu dla wielkości ≤ 10 mm (rekomendacje z 2008) wykryto 21 szczepów, natomiast przyjęcie średnicy ≤ 17 mm (rekomendacje z 2004) pozwoliło na wykrycie wszystkich 30 szczepów MRSP. Test z cefoksytyną, w którym ustalono graniczne średnice zahamowania wzrostu ≤ 21 mm, pozwolił na rozpoznanie jedynie 2 szczepów, a przy przyjęciu wielkości średnicy ≤ 24 mm wykryto 13 spośród 30 badanych MRSP.

W doświadczeniu prowadzonym przez Bemisa i wsp. (2009) stwierdzono, że średnica strefy zahamowania wzrostu dla krążka z oksacyliną ≤ 17 mm oraz wartość MIC oksacyliny $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ najlepiej koreluje z obecnością genu *mecA* u szczepów *S. pseudintermedius* izolowanych od psów [6]. Zwrócono także uwagę, że większość szczepów MRSP nie jest rozpoznawanych w teście dyfuzyjnym z krążkiem z cefoksytyną i założeniem średnicy strefy zahamowania wzrostu ≤ 24 mm jako granicznej [6, 7, 68].

Rozpoznanie oporności na metycylinę wśród szczepów *S. pseudintermedius* wymaga szczególnej uwagi, ponieważ notowano szczepy niosące gen *mecA*, dla których MIC oksacyliny wynosiło $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$, które były wrażliwe w teście dyfuzyjnym z oksacyliną i cefoksytyną [20]. U niektórych MRSP zaobserwowano również heterogenną ekspresję genu *mecA*, kiedy wokół krążka z oksacyliną nie ma strefy zahamowania wzrostu, a wokół krążka z cefoksytyną pojawia się strefa zahamowania wzrostu o średnicy pozwalającej na zakwalifikowanie tego szczepu jako wrażliwego na metycylinę [65].

Na podstawie powyższych obserwacji podkomisja przy CLSI ds. badania lekowrażliwości patogenów

weterynaryjnych zaleca stosowanie krążka z oksacyliną i przyjęcie granicznej średnicy zahamowania wzrostu wynoszącej ≤ 17 mm oraz wartości granicznej MIC oksacyliny wynoszącej $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ [59]. Wspomniana podkomisja podkreśla nieprzydatność stosowania oznaczeń z krążkiem z cefoksytiną do wykrywania MRSP. W przypadkach szczepów wykazujących wielolekooporność i wrażliwość na cefoksytinę, sugerowane jest zbadanie oporności na metycylinę innymi metodami. W 2013 roku CLSI opublikowało nowy dokument dotyczący wykrywania metycyloooporności u gronkowców izolowanych od zwierząt.

W identyfikacji metycylooopornych szczepów *S. pseudintermedius* znajduje zastosowanie metoda wykrywania białka PBP2a przy pomocy testów opartych na aglutynacji lateksowej. Należy jednak mieć na uwadze fakt, że wspomniana metoda może dawać wynik fałszywie dodatni [60].

Obecnie nie ma dostępnych podłoży selektywnych przeznaczonych jedynie do izolacji metycylooopornych *S. pseudintermedius*. W tym celu można stosować podłoża selektywne przeznaczone do badania MRSA. Testując różne podłoża selektywne stwierdzono, że najlepszy wzrost MRSP uzyskuje się na podłożu Oxacillin resistance screening agar base (ORSAB, Oxoid) oraz Brilliance MRSA agar (Brilliance agar, Oxoid) [35]. Słaby wzrost tych bakterii zaobserwowano na podłożach chromogennych ChROM agar MRSA (BD Diagnostics) oraz ChromID MRSA agar (ChromID, bioMérieux).

8. Wykrywanie oporności na metycylinę u *S. pseudintermedius* – metody genotypowe

Najbardziej wiarygodną metodą wykrywania oporności na metycylinę jest amplifikacja fragmentu genu *mecA* przy zastosowaniu techniki PCR. Metoda ta nie jest jednak rutynowo stosowana w laboratoriach weterynaryjnych. Jak podają niektórzy badacze, pewne szczepy wykazują fenotypową wrażliwość na oksacylinę, mimo obecności genu *mecA*. U takich szczepów prawdopodobnie dochodzi do represji produkcji białka PBP2a za pośrednictwem genu represorowego *mecI* będącego jednym z genów regulatorowych operonu *mec* [82].

9. *S. pseudintermedius* – oporność na antybiotyki i chemioterapeutyki

Szczepy *S. pseudintermedius* wrażliwe na metycylinę na ogół dobrze poddają się leczeniu przy użyciu antybiotyków i chemioterapeutyków powszechnie stosowanych w medycynie i weterynarii [37]. Notowana jest wśród nich oporność na penicylinę oraz amoksycy-

linę, ale na ogół wykazują wrażliwość na cefalosporyny, amoksycylinę z kwasem klawulanowym, fluorochinolony, klindamycynę oraz sulfonamidy [26]. Natomiast leczenie chorób o etiologii MRSP jest szczególnym wyzwaniem dla lekarzy. Pamiętając o wielolekooporności tych szczepów leczenie należy zawsze prowadzić na podstawie wyników antybiogramu [13].

Wielolekooporność szczepów MRSP jest obecnie głównym problemem w klinicznej praktyce weterynaryjnej małych zwierząt. Wśród szczepów opornych na metycylinę na ogół występuje również oporność na sulfametoksazol z trimetoprimem, gentamicynę, erytromycynę, klindamycynę, fluorochinolony oraz na tetracyklinę. W poszczególnych krajach oporność *S. pseudintermedius* na antybiotyki notowana jest z różnym nasileniem [20, 28, 58, 61]. Oporność na niektóre antybiotyki dotyczyć może nawet 100% badanych szczepów. Stwierdzono również, że szczepy MRSP pochodzące z Ameryki Północnej są często wrażliwe na chloramfenikol, rifampicynę i amikacynę [58]. Z kolei w Europie częściej występuje oporność wspomnianych gronkowców na chloramfenikol oraz wrażliwość na minocyklinę [37, 38, 81]. Świadczy to o różnych profilach oporności u klonów dominujących w tych regionach świata.

Skuteczne w leczeniu zakażeń o etiologii MRSP mogą być: rifampicyna, minocyklina, chloramfenikol, amikacyna oraz wankomycyna. Problemem dla praktykujących lekarzy weterynarii jest fakt, że wiele z tych leków nie jest zarejestrowanych do stosowania w weterynarii lub nie są przeznaczone do stosowania u psów i kotów. Co więcej, niektóre w dokumencie dotyczącym oporności drobnoustrojów opublikowanym przez WHO zostały zaliczone do grupy tzw. niezwykle istotnych antybiotyków, które powinny być zarezerwowane do leczenia ludzi [23, 73].

Oporność na penicylinę wśród gronkowców jest dość często spotykanym zjawiskiem. Szczepy MSSP wykazują oporność na penicylinę w 50–80%, zależnie od regionu świata, gdzie były prowadzone badania [26, 43, 44]. Oporność na penicylinę jest związana z występowaniem genu *blaZ*, kodującego β -laktamazy o wąskim spektrum substratowym. Z kolei gen *mecA* występujący u szczepów MRSP warunkuje produkcję zmienionego białka wiążącego penicyliny PBP2a (PBP2'). Białko to cechuje się małym powinowactwem do antybiotyków β -laktamowych, zdolność do jego wytwarzania zapewnia komórkom bakteryjnym oporność na wszystkie antybiotyki β -laktamowe, w tym cefalosporyny oraz karbapenemy. U większości szczepów *S. pseudintermedius* opornych na metycylinę występuje również gen *blaZ* [38, 58, 64].

Oporność na rifampicynę wśród gronkowców izolowanych od zwierząt notowana jest bardzo rzadko. Wśród 103 MRSP Perreten i wsp. (2010) stwierdzili

oporność na ten antybiotyk jedynie u 2 badanych szczepów [58]. Z kolei badając mechanizm oporności u tych dwóch izolatów potwierdzono występowanie mutacji w genie *rpoB*, kodującym podjednostkę β polimerazy RNA [39]. Zwrócono również uwagę na możliwość narastania oporności na rifampicynę przy powszechnym jej stosowaniu. Aby zapobiegać temu zjawisku zaproponowano użycie rifampicyny w terapii łączonej. Wyniki najnowszych badań przeprowadzonych w Brazylii wskazują, że o ile wśród MSSP oporność na rifampicynę utrzymuje się na niskim poziomie (4,1%), to u MRSP dotyczy już 16,7% badanych szczepów [11].

Wśród *S. pseudintermedius* stwierdzono występowanie trzech różnych genów oporności na tetracykliny. Obecność genów *tetK* oraz *tetL* warunkuje oporność na tetracyklinę, ale gronkowce pozostają wrażliwe na minocyklinę. Geny *tetK* oraz *tetL* kodują białka należące do rodziny transporterów błonowych MFS (major facilitator superfamily), a białka TetK i TetL aktywnie usuwają tetracykliny z komórek bakteryjnych. Natomiast gen *tetM* warunkuje oporność na wszystkie tetracykliny, w tym również na minocyklinę, koduje białko chroniące rybosomy przed działaniem tetracyklin [80].

Perreten i wsp. (2010) wśród 103 badanych MRSP u 69,9% izolatów stwierdzili oporność na tetracyklinę [58]. Dominował u nich gen *tetK* (72,2%). Wykryto również obecność genu *tetM* (25%), jak również niektórych szczepów występowały oba geny *tetK* i *tetM* (2,7%). Dominację genu *tetK* na terenie Europy potwierdzają również wyniki uzyskane w Hiszpanii [28] oraz w Niemczech [69]. Wyniki badań przeprowadzonych w Polsce świadczą o oporności na tetracyklinę u 53,4% szczepów MSSP oraz u 78,6% MRSP [44]. Na podstawie przedstawionych wyników można wnioskować o skuteczności minocykliny wobec szczepów MRSP izolowanych w Europie. Z kolei wyniki prac prowadzonych w Korei wskazują na wyraźną dominację genu *tetM*, którego obecność stwierdzono u 28 spośród 29 badanych *S. pseudintermedius* [43]. U jednego izolatu występował gen *tetL*, natomiast oba geny *tetK* oraz *tetM* wykryto u czterech izolatów. Gen *tetM* występował także u wszystkich badanych MSSP w Tunezji, gdzie oporność na tetracyklinę dotyczyła 40% izolatów [26].

Kolejna praca dotyczyła oporności na minocyklinę wśród 107 szczepów MRSP pochodzących z USA oraz Kanady [80]. Geny *tetM* i *tetK* wykryto odpowiednio u 39% oraz 31% badanych MRSP, co oznacza, że wrażliwość na minocyklinę powinna występować u 31% badanych szczepów. Jednak oporność na ten antybiotyk występowała także u izolatów, u których nie wykazano obecności genu *tetM*. Autorzy tłumaczą ten fakt obecnością genów *tet* innego typu lub istnieniem odmiennego mechanizmu oporności. Niemniej jednak zastosowanie minocykliny pozostaje opcją terapeutyczną wobec zakażeń wywołanych przez szczepy MRSP

wrażliwe na ten antybiotyk, a odporne na inne tetracykliny. Autorzy wspomnianej pracy sugerują również weryfikację wartości granicznych MIC minocykliny, ponieważ u części szczepów uznawanych za wrażliwe zaobserwowano relatywnie wysokie wartości MIC wynoszące 4 $\mu\text{g/ml}$. Wśród badanych MRSP wyróżniono nie dwie, a trzy populacje o różnych wartościach MIC. Pierwsza z nich cechowała się niskimi wartościami MIC $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$, druga o wartości MIC wynoszącej 4 $\mu\text{g/ml}$ oraz trzecia o MIC $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ (wartość graniczna dla szczepów wrażliwych wynosi $\leq 4 \mu\text{g/ml}$).

Dane literaturowe wskazują, że oporność na chloramfenikol wśród gronkowców pochodzących od zwierząt jest notowana, a częstość występowania tej cechy jest różna w różnych rejonach geograficznych. Zaledwie 1,8% szczepów MSSP wyizolowanych w Tunezji, wykazało oporność na ten chemioterapeutyk [26]. W badaniach przeprowadzonych na 103 szczepach MRSP pochodzących z Europy oraz Ameryki Północnej oporność na chloramfenikol związaną z występowaniem genu *cat*_{pC221} stwierdzono u 57,3% izolatów [58]. W Polsce wśród 14 MRSP jedynie 2 szczepy wykazały oporność na chloramfenikol [44]. Podobnie w Hiszpanii tylko jeden spośród 9 badanych MRSP wykazał oporność wynikającą z obecności genu *cat*_{pC221} [28]. Zwracając uwagę na wyniki najnowszych badań uzyskane w Brazylii, gdzie oporność na chloramfenikol stwierdzono u 17,8% badanych MSSP oraz 33,3% MRSP [11].

Obecnie panuje pogląd, że stosowanie wankomycyny powinno być zarezerwowane do leczenia zakażeń u ludzi wywołanych przez MRSA [23, 73]. Choć wankomycyna jest dostępna od wielu lat, oporność na nią wśród szczepów MRSA występuje sporadycznie. Do tej pory w medycynie weterynaryjnej nie opisano szczepu MRSP opornego na wankomycynę [28, 44, 58].

Izolaty pochodzące od psów są zwykle wrażliwe na mupirocynę i stwierdzane są u nich niskie wartości MIC [37]. Przeważają wyniki świadczące o wrażliwości badanych szczepów na ten antybiotyk, i to niezależnie czy są to szczepy MSSP czy MRSP [28, 58]. Do tej pory ukazało się jedno doniesienie o oporności cechującej się wysokimi wartościami MIC $\geq 512 \mu\text{g/ml}$ na mupirocynę u *S. pseudintermedius*, związanej z obecnością plazmidowego genu *ileS2*, kodującego syntetazę izolucylo-tRNA [49]. Taki sam mechanizm oporności występuje u *S. aureus*. Prawdopodobnie u *S. pseudintermedius* może także dojść do rozpowszechnienia się genów oporności na mupirocynę, podobnie jak miało to miejsce u *S. aureus*.

Oporność gronkowców na fluorochinolony może być skutkiem modyfikacji docelowego miejsca działania tych chemioterapeutyków, mutacje występują wtedy w genie *gyrA* kodującym podjednostkę A gyrazy (topoizomerazy II) lub w genie *griA*, warunkującym wytwarzanie topoizomerazy IV [17, 37]. Inny mechanizm

oporności polega na aktywnym usuwaniu fluorochinolonów z komórek gronkowców i jest związany z obecnością genu *norA* odpowiedzialnego za wytwarzanie białka transportowego NorA zlokalizowanego w błonie cytoplazmatycznej [37]. Szczepy wrażliwe na metycylinę zwykle pozostają również wrażliwe na fluorochinolony. Oporność wśród tych szczepów w Polsce wynosi około 5,6% [44] oraz około 20% w Brazylii [11] oraz w Korei [43]. Inaczej kształtuje się oporność na chemioterapytyki z tej grupy wśród MRSP, u których oporność może dotyczyć nawet 100% badanych szczepów [28, 81]. W Polsce u 85,7% badanych MRSP stwierdzono oporność na fluorochinolony [44]. Podobnie jak u około 90% szczepów MRSP pochodzących z innych krajów Europy i Ameryki Północnej [58].

Mechanizm oporności polegający na modyfikacji miejsca docelowego na rybosomach związany jest z aktywnością enzymu acetylo-N-metylotransferazy, kodowanego przez geny *ermA*, *ermB* lub *ermC*. Konstitutywna synteza tego enzymu skutkuje krzyżową opornością na makrolidy, linkozamidy oraz streptograminy B, określanej opornością typu MLS_B . Inny mechanizm aktywności polega na aktywnym usuwaniu tych trzech grup antybiotyków z komórek gronkowców. U MRSP występować może również enzymatyczna inaktywacja makrolidów, linkozamidów i streptogramin B, związana z obecnością linkozamido-nukleotydylotransferazy, kodowanej przez gen *lnuA* [37].

Oporność na makrolidy i linkozamidy wśród szczepów MSSP występuje z różnym nasileniem w różnych krajach. Zaledwie u jednego szczepu (1,8%) w Tunezji wykryto gen *ermB* [26], ale oporność na tę grupę antybiotyków w Brazylii i Korei zanotowano już u około 50% badanych izolatów [11, 43]. Antybiotyki te są nieskuteczne w przypadku od około 70% (Brazylia) do 100% badanych szczepów MRSP [28, 69, 81]. Potwierdzają to wyniki uzyskane w naszym kraju, gdzie oporność zaobserwowano u 92,8% badanych MRSP [44].

Oporność gronkowców na aminoglikozydy jest najczęściej związana z wytwarzaniem enzymów inaktywujących i modyfikujących te leki. Mogą być one acetylotransferazami (AAC), fosfotransferazami (APH) lub nukleotydylotransferazami (ANT) [37]. Występowanie kilku genów warunkujących oporność na tę grupę antybiotyków najczęściej stwierdzana jest wśród MRSP. Często spotykany jest gen *aacA-aphD* kodujący dwuskładnikową transferazę acetylo/fosfotransferazę, warunkującą oporność na gentamicynę, kanamycynę oraz tobramycynę. Gen *aadD* koduje nukleotydylotransferazę i odpowiada za oporność na neomycynę, kanamycynę, tobramycynę oraz amikacynę. Kolejny gen *aph(3')-IIIa* koduje fosfotransferazę, która inaktywuje neomycynę i kanamycynę [37]. W Polsce oporność na streptomycynę oraz gentamicynę występowała odpowiednio u 86,3% i 14,7% badanych szczepów

wrażliwych na metycylinę [44]. Natomiast oporność na oba te antybiotyki stwierdzono u 85,8% badanych MRSP. Perreten i wsp. (2010) oporność na aminoglikozydy stwierdzili u 93 (90,3%) spośród 103 badanych szczepów MRSP [58]. W większości przypadków u badanych gronkowców obecne były trzy geny: *aac(6')-Ie-aph(2')-Ia*, *aph(3')III* oraz *ant(6')Ia*. Trzy izolaty charakteryzowała obecność jedynie pierwszego z wymienionych genów, zaś u pięciu występowały tylko dwa ostatnie geny.

Oporność na linezolid może być wynikiem mutacji w genie *rrn*, skutkującej modyfikacją miejsca docelowego dla linezolidu lub wynikiem ekspresji genu *crf*, kodującego metylotransferazę modyfikującą 23S rRNA, co skutkuje także opornością na chloramfenikol [37]. Do tej pory nie notowano oporności na linezolid wśród szczepów *S. pseudintermedius* [28, 58]. Linezolid znajduje głównie zastosowanie u ludzi w leczeniu zakażeń wywołanych przez MRSA. Sugerowane jest zarezerwowanie tego chemioterapeutyku do leczenia ludzi. Jednak wobec braku zakazu jego stosowania w medycynie weterynaryjnej, sporadycznie znajduje on zastosowanie w leczeniu zakażeń wywołanych przez MRSP u psów [54]. Mimo wysokiej ceny, okazuje się skuteczny, co opisano również w Polsce [50].

10. Podsumowanie

S. pseudintermedius jest nowo opisanym gatunkiem gronkowców koagulazo-dodatnich izolowanych od zwierząt. W rzeczywistości do gatunku tego przeklasyfikowano większość szczepów uprzednio rozpoznanych jako *S. intermedius*. Obecnie wiadomo, że *S. pseudintermedius* jest najczęściej izolowany od psów, ale również może on występować u innych gatunków zwierząt. Co więcej, coraz częściej izolowany jest z przypadków zakażeń u ludzi. Rozpoznanie gatunku *S. pseudintermedius* w materiale pochodzącym od psów właściwie nie jest problemem, ale można przypuszcza, że w laboratoriach pracujących z materiałem pobranym od ludzi ten typowy patogen weterynaryjny może nie być prawidłowo rozpoznawany. Warto zaznaczyć, że osoby mające stały kontakt z psami są uważane za szczególnie narażone na transmisję *S. pseudintermedius*. Dodatkowym problemem jest rozprzestrzenianie się wśród tych bakterii oporności na β -laktamy, jak również inne antybiotyki i chemioterapytyki. Interesujące jest, że mimo identycznego mechanizmu metycylinooporności, nieco inaczej przebiega wykrywanie tego typu oporności wśród szczepów MRSP oraz MRSA. Prezentowana praca ma na celu przybliżenie problemu zaszeregowania taksonomicznego *S. pseudintermedius*, prawidłowej identyfikacji szczepów, w tym również oznaczania lekowrażliwości.

Piśmiennictwo

- Abraham J.L., Morris D.O., Griffeth G.C., Shofer F.S., Rankin S.C.: Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* ssp. *schleiferi*. *Vet. Dermatol.* **18**, 252–259 (2007)
- Atalay B., Ergin F., Cekinmez M., Caner H., Altinors N.: Brain abscess caused by *Staphylococcus intermedius*. *Acta Neurochir. (Wien.)* **147**, 347–348 (2005)
- Bannoehr J., Franco A., Iurescia M., Battisti A., Fitzgerald J.R.: Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 469–471 (2009)
- Bannoehr J., Guardabassi L.: *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Vet. Dermatol.* **23**, 253–266 (2012)
- Bannoehr J., Zakour N.L.B., Waller A.S., Guardabassi L., Thoday K.L., van den Broek A.H.M., Fitzgerald J.R.: Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: insights into *agr* diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *J. Bacteriol.* **189**, 8685–8692 (2007)
- Bemis D.A., Jones R.D., Frank L.A., Kania S.A.: Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* **21**, 53–58 (2009)
- Bemis D.A., Jones R.D., Videla R., Kania S.A.: Evaluation of cefoxitin disk diffusion breakpoint for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* **24**, 964–967 (2012)
- Bender J.B., Schiffman E., Hiber L., Gerads L., Olsen K.: Recovery of staphylococci from computer keyboards in a veterinary medical center and the effect of routine cleaning. *Vet. Rec.* **170**, 414 (2012)
- Black C.C., Solyman S.M., Eberlein L.C., Bemis D.A., Woron A.M., Kania S.A.: Identification of a predominant multilocus sequence type, pulsed-field gel electrophoresis cluster, and novel staphylococcal chromosomal cassette in clinical isolates of *mecA*-containing, methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet. Microbiol.* **139**, 333–338 (2009)
- Blaiotta G., Fusco V., Ercolini D., Pepe O., Coppola S.: Diversity of *Staphylococcus* species strains based on partial *kat* (catalase) gene sequences and design of a PCR-restriction fragment length polymorphism assay for identification and differentiation of coagulase-positive species (*S. aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, and *S. schleiferi* subsp. *coagulans*). *J. Clin. Microbiol.* **48**, 192–201 (2010)
- Bruno P., Mendes W., Rabello R.F., Lilenbaum W.: Isolation of methicillin-resistant staphylococci in canine skin infections in Rio de Janeiro, Brazil. *Vet. Dermatol.* **24**, 373–375 (2013)
- Chrobak D., Kizerwetter-Świda M., Rzewuska M., Binek M.: Antibiotic resistance of canine *Staphylococcus intermedius* group (SIG) – practical implications. *Pol. J. Vet. Sci.* **14**, 213–218 (2011)
- Chrobak D., Kizerwetter-Świda M., Rzewuska M., Binek M.: Metycylinooporne szczepy *Staphylococcus intermedius* występujące u psów jako potencjalny rezerwuwar genu *mecA*. *Post. Mikrobiol.* **48**, 235–242 (2009)
- Chuang C.Y., Yang Y.L., Hsueh P.R., Lee P.I.: Catheter-related bacteremia caused by *Staphylococcus pseudintermedius* refractory to antibiotic-lock therapy in a hemophilic child with dog exposure. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 1497–1498 (2010)
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard M31-A3, vol. 28, no. 8. CLSI, Wayne, PA (2008)
- Decristophoris P., Fasola A., Benagli C., Tonolla M., Petrini O.: Identification of *Staphylococcus intermedius* Group by MALDI-TOF MS. *Syst. Appl. Microbiol.* **34**, 45–51 (2011)
- Descloux S., Rossano A., Perreten V.: Characterization of new staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) and topoisomerase genes in fluoroquinolone- and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 1818–1823 (2008)
- Devriese L.A., F. Haesebrouck i wsp.: *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **55**, 1569–1573 (2005)
- Devriese L.A., Hermans K., Baele M., Haesebrouck F.: *Staphylococcus pseudintermedius* versus *Staphylococcus intermedius*. *Vet. Microbiol.* **133**, 206–207 (2009)
- Feng Y., Tian W., Lin D., Luo Q., Zhou Y., Yang T., Deng Y., Liu Y.H., Liu J.H.: Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in pets from South China. *Vet. Microbiol.* **160**, 517–524 (2012)
- Fitzgerald J.R.: The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet. Dermatol.* **20**, 490–495 (2009)
- Frank L.A., Kania S.A., Kirzeder E.M., Eberlein L.C., Bemis D.A.: Risk of colonization or gene transfer to owners of dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet. Dermatol.* **20**, 496–501 (2009)
- Frank L.A., Loeffler A.: Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: clinical challenge and treatment options. *Vet. Dermatol.* **23**, 283–291 (2012)
- Geraghty L., Booth M., Rowan N., Fogarty A.: Investigations on the efficacy of routinely used phenotypic methods compared to genotypic approaches for the identification of staphylococcal species isolated from companion animals in Irish veterinary hospitals. *Ir. Vet. J.* **66**, 7 (2013)
- Gerstadt K., Daly J.S., Mitchell M., Wessolovsky M., Cheeseman S.H.: Methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* pneumonia following coronary artery bypass grafting. *Clin. Infect. Dis.* **29**, 218–219 (1999)
- Gharsa H., Ben Slama K., Gómez-Sanz E., Lozano C., Klibi N., Jouini A., Messadi L., Boudabous A., Torres C.: Antimicrobial resistance, virulence genes, and genetic lineages of *Staphylococcus pseudintermedius* in healthy dogs in Tunisia. *Microb. Ecol.* **66**, 363–368 (2013)
- Gómez-Sanz E., Torres C., Lozano C., Zarazaga M.: High diversity of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* lineages and toxigenic traits in healthy pet-owning household members. Underestimating normal household contact? *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **36**, 83–94 (2013)
- Gómez-Sanz E., Torres C., Lozano C., Sáenz Y., Zarazaga M.: Detection and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in healthy dogs in La Rioja, Spain. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **34**, 447–453 (2011)
- Guardabassi L., Loeber M.E., Jacobson A.: Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet. Microbiol.* **98**, 23–27 (2004)
- Guardabassi L., Schmidt K.R., Petersen T.S., Espinosa-Gongora C., Moodley A., Agersø Y., Olsen J.E.: *Mustelidae* are natural hosts of *Staphylococcus delphini* group A. *Vet. Microbiol.* **159**, 351–353 (2012)
- Hájek V.: *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **26**, 401–408 (1976)
- Hanselman B.A., Kruth S.A., Rousseau J., Weese J.S.: Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. *Can. Vet. J.* **50**, 954–958 (2009)

33. Hariharan H., Matthew V., Fountain J., Snell A., Doherty D., King B., Shemer E., Oliveira S., Sharma R.N.: Aerobic bacteria from mucous membranes, ear canals, and skin wounds of feral cats in Grenada, and the antimicrobial drug susceptibility of major isolates. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **34**, 129–134 (2011)
34. Himsworth C.G., Patrick D.M., Parsons K., Feng A., Weese J.S.: Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in rats. *Emerg. Infect. Dis.* **19**, 169–170 (2013)
35. Horstmann C., Mueller R.S., Straubinger R.K., Werckenthin C.: Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* with commercially available selective media. *Lett. Appl. Microbiol.* **54**, 26–31 (2012)
36. Julian T., Singh A., Rousseau J., Weese J.S.: Methicillin-resistant staphylococcal contamination of cellular phones of personnel in a veterinary teaching hospital. *BMC Res. Notes.* **5**, 193 (2012)
37. Kadlec K., Schwarz S.: Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet. Dermatol.* **23**, 276–282 (2012)
38. Kadlec K., L. Guardabassi i wsp.: Molecular analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of feline origin from different European countries and North America. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 1826–1828 (2010)
39. Kadlec K., van Duijkeren E., Wagenaar J.A., Schwarz S.: Molecular basis of rifampicin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**, 1236–1242 (2011)
40. Kelesidis T., Tsioudras S.: *Staphylococcus intermedius* is not only a zoonotic pathogen, but may also cause skin abscesses in humans after exposure to saliva. *Int. J. Infect. Dis.* **14**, 838–841 (2010)
41. Kempker R., Mangalat D., Kongphet-Tran T., Eaton M.: Beware of the pet dog: a case of *Staphylococcus intermedius* infection. *Am. J. Med. Sci.* **5**, 425–427 (2009)
42. Kikuchi K., Karasawa T., Piao C., Itoda I., Hidai H., Yamaura H., Totsuka K., Morikawa T., Takayama M.: Molecular confirmation of transmission route of *Staphylococcus intermedius* in mastoid cavity infection from dog saliva. *J. Infect. Chemother.* **10**, 46–48 (2004)
43. Kim T.J., Na Y.R., Lee J.I.: Investigations into the basis of chloramphenicol and tetracycline resistance in *Staphylococcus intermedius* isolates from cases of pyoderma in dogs. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* **52**, 119–124 (2005)
44. Kizerwetter-Świda M., Chrobak D., Rzewuska M., Binek M.: Antibiotic resistance patterns and occurrence of *mecA* gene in *Staphylococcus intermedius* strains of canine origin. *Pol. J. Vet. Sci.* **12**, 9–13 (2009)
45. Lee J.: *Staphylococcus intermedius* isolated from dog-bite wounds. *J. Infect.* **29**, 105 (1994)
46. Loeffler A., Linek M., Moodley A., Guardabassi L., Sung J.M., Winkler M., Weiss R., Lloyd D.H.: First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Vet. Dermatol.* **18**, 412–421 (2007)
47. Mahoudeau I., Delabranche X., Prevost G., Monteil H., Piemont Y.: Frequency of isolation of *Staphylococcus intermedius* from humans. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 2153–2154 (1997)
48. Mallardo K., Nizza S., Fiorito F., Pagnini U., De Martino L., Donnarumma G.: A comparative evaluation of methicillin-resistant staphylococci isolated from harness racing-horses, breeding mares and riding-horses in Italy. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **3**, 169–173 (2013)
49. Matanovic K., Pérez-Roth E., Pintarić S., Šeol Martinec B.: Molecular characterization of high-level mupirocin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.* **51**, 1005–1007 (2013)
50. Międzobrodzki J., Kasprowicz A., Białecka A., Jaworska O., Polakowska K., Władyka B., Dubin A.: The first case of a *Staphylococcus pseudintermedius* infection after joint prosthesis implantation in a dog. *Pol. J. Microbiol.* **59**, 133–135 (2010)
51. Młynarczyk G., Kochman M., Lawrynowicz M., Fordymacki P., Młynarczyk A., Jeljaszewicz J.: Coagulase-negative variants of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* strains isolated from hospital specimens. *Zentralbl. Bakteriol.* **288**, 373–381 (1998)
52. Moodley A., Stegger M., Ben Zakour N.L., Fitzgerald J.R., Guardabassi L.: Tandem repeat sequence analysis of staphylococcal protein A (*spa*) gene in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet. Microbiol.* **135**, 320–326 (2009)
53. Morris D.O., Boston R.C., O'Shea K., Rankin S.C.: The prevalence of carriage of methicillin-resistant staphylococci by veterinary dermatology practice staff and their respective pets. *Vet. Dermatol.* **21**, 400–407 (2010)
54. Murphy K.M.: The use of linezolid to treat methicillin-resistant staphylococcal infections in dogs and cats. *Vet. Dermatol.* **19**, 110 (2008)
55. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Performance standard for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; informational supplement M31-S1, vol. 24, no. 17. NCCLS, Wayne, PA (2004)
56. Papich M.G.: Proposed changes to Clinical Laboratory Standards Institute interpretive criteria for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* **22**, 160 (2010)
57. Paul N.C., Moodley A., Ghibaud G., Guardabassi L.: Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: Indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses Public Health*, **58**, 533–539 (2011)
58. Perreten V., L. Guardabassi i wsp.: Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 1145–1154 (2010)
59. Pilla R., Bonura C., Malvisi M., Snel G.G., Piccinini R.: Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* as causative agent of dairy cow mastitis. *Vet. Rec.* **173**, 19 (2013)
60. Pottumarthy S., Schapiro J.M., Prentice J.L., Houze Y.B., Swanzy S.R., Fang F.C., Cookson B.T.: Clinical isolates of *Staphylococcus intermedius* masquerading as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 5881–5884 (2004)
61. Ruscher C., Lübke-Becker A., Semmler T., Wleklinski C.G., Paasch A., Soba A., Stamm I., Kopp P., Wieler L.H., Walther B.: Widespread rapid emergence of a distinct methicillin- and multidrug-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) genetic lineage in Europe. *Vet. Microbiol.* **144**, 340–346 (2010)
62. Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 2770–2778 (2007)
63. Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K.: Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 1118–1125 (2007)
64. Sasaki T., Tsubakishita S., Tanaka Y., Sakusabe A., Ohtsuka M., Hirota S., Kawakami T., Fukata T., Hiramatsu K.: Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 765–769 (2010)
65. Savini V., Di Giuseppe N., Fazii P., D'Amario C., D'Antonio D., Carretto E.: *Staphylococcus pseudintermedius* heterogeneously expresses the *mecA* gene. *Vet. Microbiol.* **165**, 489–490 (2013)
66. Savini V., Polilli E., Polakowska K., Marrolo R., Białecka A., Kasprowicz A., Fazii P., D'Antonio D., Carretto E., Międzobrodzki J.: Arginine dehydrolase and β -gentiobiose cannot discriminate within the *Staphylococcus intermedius* group. *Vet. Microbiol.* **161**, 236–237 (2012)

67. Savini V., E. Carretto i wsp.: Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a bone marrow transplant recipient. *J. Clin. Microbiol.* **51**, 1636–1638 (2013)
68. Schissler J.R., Hillier A., Daniels J.B., Cole L.K., Gebreyes W.A.: Evaluation of Clinical Laboratory Standards Institute interpretive criteria for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* **21**, 684–688 (2009)
69. Schwarz S., Kadlec K., Strommenger B.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* detected in the BfT-Germ Vet monitoring programme 2004–2006 in Germany. *J. Antimicrob. Chemother.* **61**, 282–285 (2008)
70. Singh A., Walker M., Rousseau J., Monteith G.J., Weese J.S.: Methicillin-Resistant Staphylococcal Contamination of Clothing Worn by Personnel in a Veterinary Teaching Hospital. *Vet Surg.* doi: 10.1111/j.1532-950X.2013.12024.x (2013)
71. Slettebakk J.S., Mikalsen J., Sunde M.: Further diversity of the *Staphylococcus intermedius* group and heterogeneity in the *MboI* restriction site used for *Staphylococcus pseudintermedius* species identification. *J. Vet. Diagn. Invest.* **22**, 756–759 (2010)
72. Solyman S.M., S.A. Kania i wsp.: Multilocus sequence typing for characterization of *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.* **51**, 306–310 (2013)
73. Stegmann R., Burnens A., Maranta C.A., Perreten V.: Human infection associated with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 2047–2048 (2010)
74. Talan D.A., Staats D., Staats A., Goldstein E.J., Singer K., Overturf G.D.: *Staphylococcus intermedius* in canine gingiva and canine-inflicted human wound infections: laboratory characterization of a newly recognized zoonotic pathogen. *J. Clin. Microbiol.* **27**, 78–81 (1989)
75. van Duijkeren E., Houwers D.J., Schoormans A., Broekhuizen-Stins M.J., Ikawaty R., Fluit A.C., Wagenaar J.A.: Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus intermedius* between humans and animals. *Vet. Microbiol.* **128**, 213–215 (2008)
76. Van Hoovels L., Vankeerberghen A., Boel A., Van Vaerenbergh K., De Beenhouwer H.: First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *J. Clin. Microbiol.* **44**, 4609–4612 (2006)
77. Varaldo P.E., Kilpper-Bälz R., Biavasco F., Satta G., Schleifer K.H.: *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **38**, 436–439 (1988)
78. Wakita Y., Shimizu A., Hájek V., Kawano J., Yamashita K.: Characterization of *Staphylococcus intermedius* from pigeons, dogs, foxes, mink, and horses by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Vet. Med. Sci.* **64**, 237–243 (2002)
79. Weese J.S., van Duijkeren E.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet. Microbiol.* **140**, 418–429 (2010)
80. Weese J.S., Sweetman K., Edson H., Rousseau J.: Evaluation of minocycline susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet. Microbiol.* **162**, 968–971 (2013)
81. Yoo J.H., Yoon J.W., Lee S.Y., Park H.M.: High prevalence of fluoroquinolone- and Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine pyoderma and otitis externa in veterinary teaching hospital. *J. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 798–802 (2010)
82. Youn J.-H., Yoon J.W., Koo H.C., Lim S.-K., Park Y.H.: Prevalence and antimicrogram of *Staphylococcus intermedius* group isolates from veterinary staff, companion animals, and the environment in veterinary hospitals in Korea. *J. Vet. Diagn. Invest.* **23**, 268–274 (2011)