



REVISTA ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA

www.elsevier.es/ram



ORIGINAL

Resistencia antimicrobiana y epidemiología molecular de aislamientos de *Staphylococcus pseudintermedius* de muestras clínicas de caninos



Germán B. Vigo^a, Gabriela I. Giacoboni^{a,*}, Paula S. Gagetti^b,
Fernando G. Pasterán^b y Alejandra C. Corso^b

^a Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina

^b Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI)-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 13 de abril de 2015; aceptado el 26 de junio de 2015

Disponible en Internet el 29 de agosto de 2015

PALABRAS CLAVE

Staphylococcus pseudintermedius;
Resistencia antimicrobiana;
Caninos

Resumen Se estudiaron 28 aislamientos obtenidos de muestras clínicas de perros e identificados por espectrometría de masas (MALDI-TOF) como *Staphylococcus pseudintermedius*; el objetivo fue evaluar la sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión y establecer la relación clonal entre aislamientos por electroforesis en campo pulsado (PFGE). La resistencia a meticilina se evaluó mediante PCR por amplificación del gen *mecA* y se observó en 3/28 aislamientos (10,7%). Quince aislamientos (53,6%) presentaron resistencia a alguno de los antibióticos ensayados y 11 de ellos (39,3%) presentaron resistencia múltiple (resistencia a 3 o más familias de antibióticos). Once aislamientos (39,3%) presentaron resistencia a eritromicina, debido a la presencia de metilasa ribosomal *ermB*, y no se detectó resistencia inducible a clindamicina. Por PFGE se pudieron diferenciar 27 tipos clonales, lo cual demuestra gran diversidad clonal. Se destaca el hallazgo de aislamientos de *S. pseudintermedius* multirresistentes como una eventual problemática a considerar en el diagnóstico veterinario de laboratorio, el tratamiento de las infecciones caninas y el ámbito de la salud pública.

© 2015 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ggiacoboni@fcv.unlp.edu.ar (G.I. Giacoboni).

KEYWORDS

Staphylococcus pseudintermedius;
Antimicrobial
resistance;
Dogs

Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from dog clinical samples

Abstract Twenty-eight strains isolated from dog clinical samples identified as *Staphylococcus pseudintermedius* by mass spectrometry (MALDI-TOF) were studied to assess antimicrobial susceptibility by the diffusion method and clonal relationship by pulsed field gel electrophoresis (PFGE). Methicillin resistance (3/28 isolates; 10,7 %) was evaluated by *mecA* PCR. Fifteen strains (53,6 %) were resistant to at least one of the antibiotics tested, and eleven of them (39,3 %) showed multiple resistance (3 or more antimicrobial families). Eleven isolates (39,3 %) were resistant to erythromycin due to the presence of ribosomal methylase *ermB*, whereas clindamycin inducible resistance was not detected. Twenty-seven (27) clonal types were differentiated by PFGE, suggesting high clonal diversity. We emphasize that the finding of multiresistant *S. pseudintermedius* strains is an emerging problem to be considered in veterinary diagnostic laboratory treatment of canine infections and in public health settings.

© 2015 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

El género *Staphylococcus* incluye una variedad de especies que participan como patógenos oportunistas en diferentes enfermedades estudiadas por la medicina veterinaria.

Entre los estafilococos coagulasa positivos, *Staphylococcus pseudintermedius* fue reclasificado y es una especie de difícil diferenciación de *Staphylococcus intermedius* y *Staphylococcus delphini*, dentro del llamado «grupo *Staphylococcus intermedius*»²⁴. La revisión de esta clasificación permitió asumir que la mayoría de los estafilococos aislados de caninos e identificados como *S. intermedius* son *S. pseudintermedius*¹⁴. Para poder diferenciarlos, se han utilizado distintos métodos fenotípicos convencionales²³, espectrometría de masas¹⁰ y métodos genotípicos¹.

S. pseudintermedius es un microorganismo comensal de piel y mucosas en los caninos, y entre las infecciones más frecuentes se describen las que produce en piel, oído, vías urinarias y hueso².

Así como se ha observado un aumento de la resistencia a la meticilina en *Staphylococcus aureus* aislados de animales de compañía, lo mismo se ha observado en *S. pseudintermedius*²⁹. Esta resistencia se notifica progresivamente en diferentes países, con la consiguiente dificultad en el tratamiento de piodermas y otitis recidivantes^{16,33}.

La emergencia de resistencia a la meticilina en *S. pseudintermedius* hizo que se revieran y elaboraran nuevas normas para evaluar la sensibilidad de este coco coagulasa positivo en animales. Hasta el año 2004, el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) recomendaba interpretar las pruebas de sensibilidad para los estafilococos coagulasa positivos de medicina veterinaria como «*Staphylococcus* especie no *S. aureus*»⁵, pero en 2008 recomendaba interpretarlos según el criterio empleado para *S. aureus*⁶. Recientemente, las normas CLSI 2013 establecieron puntos de corte específicos para *S. pseudintermedius*⁸.

El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio retrospectivo de aislamientos de *S. pseudintermedius* recuperados de muestras de caninos, evaluando la resistencia antimicrobiana y la relación genética entre aislamientos.

Materiales y métodos

Origen de los aislamientos

Se analizaron 28 aislamientos recuperados de infecciones de caninos registradas en el período 2004-2013; 12 se obtuvieron de hisopados óticos, 8 de hisopados vaginales, 4 de punciones de piel, 1 de orina, 1 de líquido pericárdico, 1 de secreción conjuntival y 1 de lavado nasal.

Identificación por pruebas bioquímicas y espectrometría de masas

En el Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata se procedió a la identificación de los aislamientos. Se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: coagulasa; hidrólisis de la arginina; l-pirrolidonilarilamidasa (PYR); Voges Proskauer (VP) y fermentación de trehalosa, manitol, xilosa, celobiosa, arabinosa, maltosa, lactosa, sacarosa y rafinosa²⁴. La identidad de los aislamientos se confirmó por espectrometría de masas con el equipo Bruker Daltonics Microflex LT, usando el software MALDI Biotyper 3.1 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) y ácido α -ciano-4-hidroxicinámico como matriz. Los ensayos fueron realizados por duplicado.

Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

La sensibilidad a los antimicrobianos se evaluó por el método de difusión en agar según normas M2-A11 del CLSI⁷. Se utilizaron discos de oxacilina 1 μ g, cefoxitina 30 μ g, eritromicina 15 μ g, clindamicina 2 μ g, tetraciclina 30 μ g, teicoplanina 30 μ g, ciprofloxacina 5 μ g, gentamicina 10 μ g, nitrofurantoína 30 μ g, rifampicina 5 μ g, cloranfenicol 30 μ g y trimetoprima-sulfametoxazol 25 μ g (Laboratorio Britania, Buenos Aires, Argentina). Los resultados del método de difusión con oxacilina, cefoxitina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina, gentamicina, cloranfenicol y trimetoprima/sulfametoxazol se interpretaron

Tabla 1 Resistencia a los antimicrobianos de 28 aislamientos de *S. pseudintermedius* de caninos

Antimicrobiano	N.º de aislamientos resistentes (%)
Oxacilina	3 (10,7) ^a
Eritromicina	11 (39,3)
Clindamicina	12 (42,8)
Gentamicina	5 (17,8)
Ciprofloxacina	12 (42,8)
Trimetoprima/sulfametoxazol	12 (42,8)
Cloranfenicol	3 (10,7)
Tetraciclina	5 (17,8)
Teicoplanina	0
Nitrofurantoína	0
Rifampicina	0

^a Estos 3 aislamientos fueron sensibles a ceftioxitina.

según las normas CLSI para aislamientos de animales Vet01-S2⁸, mientras que con el resto de los antimicrobianos los resultados se interpretaron según las normas CLSI M100-S24⁹ para aislamientos de humanos, por no disponer de puntos de corte para aislamientos de animales. Se evaluó el fenotipo de resistencia a macrólidos utilizando la prueba del D-test, según lo describen Steward *et al.* para *S. aureus*²⁶.

Métodos moleculares

La presencia de los genes *mecA*, *ermB*, *msrA*, *lnuA*, *lnuB* y *lnuC* se determinó por PCR según condiciones previamente descritas^{11,27,28,31,35}. La caracterización del SCCmec se realizó por PCR multiplex¹⁸.

La relación clonal entre aislamientos se estableció por electroforesis en campo pulsado (PFGE). Se prepararon discos de agarosa con el ADN cromosómico y se realizó la restricción con la enzima *Sma*I⁴. Los fragmentos de ADN se separaron en geles de agarosa al 1% usando un aparato CHEF- DR III (Biorad Laboratorios, Richmond, CA, EE. UU.) con las siguientes condiciones de corrida: 6V/cm y pulsos de 2 a 20 s durante 20 h, a 11,3 °C. Como marcador de peso molecular se utilizó Lambda Ladder (New England Biolabs, Ipswich, MA, EE. UU.). La relación entre los aislamientos se estableció usando el criterio de Tenover²⁸.

Resultados

Las pruebas bioquímicas permitieron identificar a los aislamientos como *S. pseudintermedius*; este resultado se confirmó por espectrometría de masas. De los 28 aislamientos de *S. pseudintermedius* estudiados, 13 (46,4%) fueron sensibles y 15 (53,6%) presentaron resistencia a al menos uno de los antibióticos ensayados. Todos los aislamientos fueron sensibles a nitrofuranos, teicoplanina y rifampicina. En la [tabla 1](#) se puede observar el porcentaje de resistencia a los antimicrobianos ensayados y en la [tabla 2](#) los perfiles fenotípicos. Tres de los aislamientos fueron definidos como resistentes a meticilina debido a la presencia del gen *mecA*. Mediante el método de difusión, estos aislamientos presentaron resistencia a oxacilina, pero sensibilidad a ceftioxitina.

Tabla 2 Perfiles de resistencia antimicrobiana de *S. pseudintermedius* en muestras clínicas de origen canino

N.º de antibióticos resistentes	N.º de aislamientos	Fenotipo de resistencia (N.º de cepas)
0	13	–
1	2	CIP (1) TMS (1)
2	1	CIP-TMS (1)
3	2	ERI-CLI-CMP (1) CLI-CIP-TMS (1)
4	3	OXA-ERI-CLI-CIP (1) ERI-CLI-CIP-TMS (1) ERI-CLI-TET-TMS (1)
5	3	OXA-ERI-CLI-CIP-TMS (1) ERI-CLI-CIP-GEN-TMS (1) ERI-CLI-CIP-TET-TMS (1)
6	2	OXA-ERI-CLI-CIP-GEN-TMS (1) ERI-CLI-CIP-GEN-TET-TMS (1)
7	2	ERI-CLI-CIP-GEN-TET-TMS-CMP (2)

OXA: oxacilina, TMS: trimetoprima/sulfametoxazol; CIP: ciprofloxacina; ERI: eritromicina; CLI: clindamicina; CMP: cloranfenicol; GEN: gentamicina; TET: tetraciclina.

Todos los aislamientos *mecA* negativos fueron sensibles a oxacilina y ceftioxitina.

Se caracterizó el *cassette* cromosómico del estafilococo SCCmec en los 3 aislamientos resistentes a meticilina, este resultó ser una variante del SCCmecIII (datos no mostrados).

Doce aislamientos (42,8%) presentaron resistencia a macrólidos y lincosamidas, y 11 aislamientos (39,3%) con fenotipo MLSb constitutivo (macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B) presentaron resistencia a eritromicina y clindamicina, y dieron positiva la PCR para el gen *ermB* y negativa para los genes *msrA*, *lnuA*, *lnuB* y *lnuC*. Un aislamiento presentó sensibilidad a eritromicina y resistencia a clindamicina y lincomicina, fenotipo compatible con la presencia de lincosamidannucleotidiltransferasa, con PCR negativa para *lnuA*, *lnuB*, *lnuC* y demás genes ensayados.

Los 28 aislamientos de *S. pseudintermedius* se pudieron diferenciar en 27 tipos clonales por *Sma*I PFGE ([fig. 1](#)). Solo 2 aislamientos se encontraron genéticamente relacionados ([fig. 1](#), calles 8 y 10).

Discusión

S. pseudintermedius forma parte de la microbiota de animales sanos y habita la piel, el folículo piloso y las mucosas de nariz y ano¹⁹.

En 2006, Van Hoovels *et al.* reportaron el primer caso de infección por *S. pseudintermedius* en humanos, por lo que propusieron incluir esta especie en la base de datos de los sistemas comerciales de identificación³⁰. Estudios recientes de Decristophoris *et al.*¹⁰ aportan evidencias del alto poder

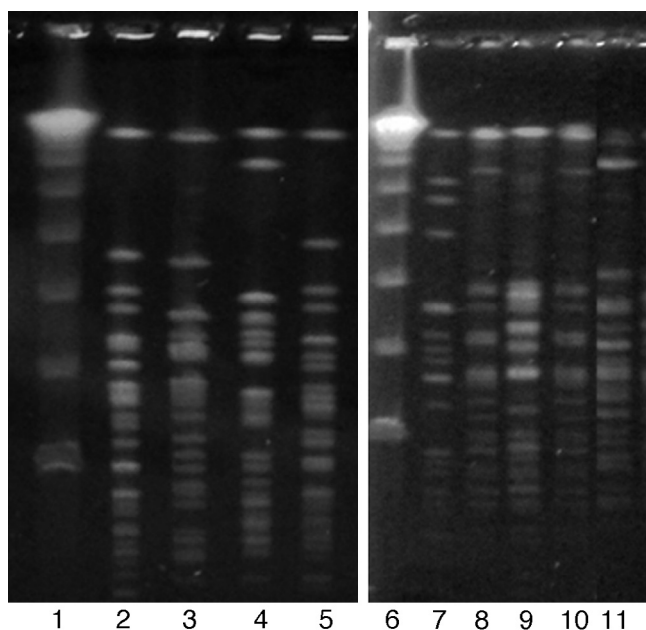


Figura 1 Smal PFGE de aislamientos de *S. pseudintermedius* de muestras clínicas de origen canino.

Calles 1 y 6: marcador de peso molecular lambda ladder; calles 2, 4 y 5: *S. pseudintermedius* resistentes a meticilina; calles 3 y 7-11: *S. pseudintermedius* sensibles a meticilina.

discriminatorio que tiene la espectrometría de masas para diferenciar *Staphylococcus* del grupo SIG (*S. intermedius*, *S. pseudintermedius* y *S. dephini*) al comparar esta técnica con la secuenciación del gen *hps60* de las 3 especies, por lo que esta nueva metodología podría ser una herramienta útil para la diferenciación entre especies semejantes.

En un trabajo realizado en caninos en Noruega, Osland *et al.*²¹ observaron gran diversidad clonal entre los aislamientos de *S. pseudintermedius* sensibles a la meticilina, pero reportaron alta clonalidad entre los aislamientos de *S. pseudintermedius* resistentes a meticilina. En nuestro estudio los aislamientos mostraron gran diversidad genética, ya que los 28 aislamientos se diferenciaron en 27 tipos clonales, incluso los aislamientos resistentes a meticilina.

La resistencia a meticilina en *S. pseudintermedius* emergió en 2006 y aumentó en los últimos años; hoy representa un problema importante en salud animal^{3,29}. En nuestro estudio solo 3 aislamientos (10,7%) fueron resistentes a meticilina, lo cual difiere de lo hallado por Feng *et al.* en el sur de China, que encontraron 48% de aislamientos resistentes a este antimicrobiano en *S. pseudintermedius* de perros¹³. El hallazgo de aislamientos resistentes a meticilina portadores del gen *mecA* alerta sobre la circulación de este mecanismo en mascotas de nuestro medio. Si bien se han detectado *S. pseudintermedius* resistentes a meticilina en caninos de otros países², este sería el primer reporte en nuestro país.

El hallazgo del cassette cromosómico SCCmec variante del tipo III coincide con lo encontrado por Ishihara *et al.*¹⁶ en un trabajo realizado en hospitales veterinarios, donde el SCCmec tipo II-III representó el 85,2% de los aislamientos de *S. pseudintermedius*. McCarthy *et al.*¹⁷ encontraron que la diseminación de *S. pseudintermedius* resistente a meticilina en Estados Unidos se debió al clon ST68 SCCmecV, mientras

que en Europa se asoció al clon ST71 SCCmecII-III. Ambos clones continúan diseminándose globalmente.

Por otro lado, recientemente Paul *et al.* documentaron la presencia de *S. pseudintermedius* en personal veterinario en contacto con pequeños animales, a pesar de que esta especie no forma parte de la flora normal del hombre²². Por lo tanto, se debería considerar a *S. pseudintermedius* resistente a meticilina como un agente zoonótico emergente.

Al igual que en *S. aureus*, la resistencia a meticilina en *S. pseudintermedius* está mediada por el gen *mecA*, por lo que la prueba de oro para detectar la resistencia a la meticilina en los estafilococos es la PCR²¹. Sin embargo, en el diagnóstico de laboratorio veterinario de rutina se utilizan pruebas fenotípicas, como el método de difusión de Kirby Bauer con discos de oxacilina y cefoxitina. La interpretación de las pruebas de difusión con disco para detectar resistencia a meticilina en *S. pseudintermedius* presenta controversias. El CLSI no tiene punto de corte establecido para estafilococos coagulasa positivos distintos de *S. aureus* en aislamientos de humanos. En 2009, Schissler *et al.* evaluaron la utilidad de los puntos de corte del CLSI para resistencia a meticilina en aislamientos caninos de *S. pseudintermedius* y demostraron que el disco de cefoxitina no es apropiado para detectar resistencia a meticilina en aislamientos de *S. pseudintermedius*²⁵. Otros autores coincidieron en que el disco de cefoxitina no es apto para detectar la emergencia de resistencia a meticilina en aislamientos de *S. pseudintermedius* de perros^{3,32,33}. Recientemente, en las normas CLSI 2013 para uso veterinario Vet01-S2⁸ se incluyó el punto de corte para oxacilina en *S. pseudintermedius*, y además se destaca que la cefoxitina no tiene valor predictivo del gen *mecA*. En el presente estudio, en ninguno de los aislamientos en los que se detectó el gen *mecA* se observó resistencia a cefoxitina; sin embargo, el disco de oxacilina permitió detectarlos eficientemente, tanto interpretando con los puntos de corte de 2004 y 2008 para humanos como con los de 2013 para animales. La inferencia de resistencia a meticilina con cefoxitina traerá aparejados errores muy mayores o de falsa sensibilidad, lo que conduciría erróneamente al tratamiento con antibióticos β -lactámicos.

El alto porcentaje de resistencia a macrólidos detectado (11/28 aislamientos; 39,3%) se debió al mecanismo de metilación ribosomal y correlacionó en todos los casos con la presencia del gen *ermB*. No se detectó resistencia inducible a clindamicina ni eflujo, sin embargo, debido al alto porcentaje de resistencia a clindamicina (42,8%), debería evitarse el uso de aquella en el tratamiento empírico de piodermas en perros. Faires *et al.*¹² describen un 76% de resistencia a macrólidos en un estudio realizado en Canadá, con predominio del fenotipo MLSb constitutivo, lo cual coincide con nuestros resultados. En una revisión reciente³⁴ se describe que la metilación ribosomal debida a la presencia del gen *ermB* es el mecanismo de resistencia a macrólidos y lincosamidas prevalente en *S. pseudintermedius*.

Un alto porcentaje de aislamientos de *S. pseudintermedius* presentó resistencia a por lo menos uno de los agentes ensayados (15/28; 53,6%) y 11 de estos (39,3%) presentaron multiresistencia (resistencia a 3 o más familias de antimicrobianos). Es alarmante el alto porcentaje de resistencia a ciprofloxacina (42,8%) y trimetoprima/sulfametoxazol (42,8%), detectado en este estudio, ya que estos son antibióticos

ampliamente usados en medicina humana. Varios autores describen la multirresistencia en aislamientos de *S. pseudintermedius* resistentes a meticilina. Bemis *et al.* encontraron que más del 90% de los aislamientos de *S. pseudintermedius* resistentes a meticilina que estudiaron presentaban resistencia a por lo menos 4 antibióticos no β -lactámicos³. Huerta *et al.* compararon la resistencia a meticilina y multirresistencia de *S. pseudintermedius* entre perros urbanos y callejeros, y encontraron mayor proporción de resistencia en la población urbana¹⁵.

Un estudio reciente evaluó los cambios en el genoma asociados a la rápida aparición y evolución de multirresistencia en *S. pseudintermedius*. Dicho estudio demostró que el uso de unos pocos antibióticos podría ser suficiente para seleccionar clones pandémicos con elementos como el transposón Tn5405-like, que confieren multirresistencia¹⁷.

La identificación correcta de la especie de estafilococo coagulasa positivo tiene importancia en la clínica veterinaria, tanto por la detección de resistencia a meticilina como para la prescripción del tratamiento, ya que las cefalosporinas son los antimicrobianos de elección para tratar patologías caninas causadas por *S. pseudintermedius*.

La emergencia de resistencia a antimicrobianos en *S. pseudintermedius* provenientes de animales y su hallazgo en casos humanos resalta la necesidad del uso prudente de tales fármacos y su vigilancia, según lo aconseja la Organización Mundial de Sanidad Animal en el código sanitario para los animales terrestres, en relación con la prescripción y normas de buena usanza en medicina veterinaria²⁰.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Bannoehr J, Franco A, Iurescia M, Battisti A, Fitzgerald JR. Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus*. J Clin Microbiol. 2009;47:469–71.
- Bannoehr J, Guardabassi L. *Staphylococcus* in the dog: Taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. Vet Dermatol. 2012;23:253–7.
- Bemis DA, Jones RD, Frank LA, Kania SA. Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus* isolated from dogs. J Vet Diagn Invest. 2009;21:53–8.
- Chung M, de Lencastre H, Matthews P, Tomasz A, the Multilaboratory Project Collaborators. Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by pulsed field gel electrophoresis: Comparison of results obtained in a multilaboratory effort using identical protocols and MRSA strains. Microb Drug Resis. 2000;6:189–98.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2004: CLSI Approved Standard Supplement M100-S14. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, EE. UU.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2008: CLSI Approved Standard Supplement M100-S18. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, EE. UU.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012: M2-A11: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test: Approved Standard- Eleventh Edition. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2013: CLSI Approved Standard Supplement Vet01-S2. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated from Animals. Second Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, EE. UU.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2014: M100-S24 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, EE. UU.
- Decristophoris P, Fasola A, Benaglia C, Tonollaa M, Petrini O. Identification of *Staphylococcus intermedius* Group by MALDI-TOF MS. Syst Appl Microbiol. 2011;34:45–51.
- Faccone D, Togneri AM, Modesta L, Perez M, Galletti P, Sanchez S, Romero G, Corso A. MRSA Pediatric clone expressing *ermC* plus *lnuA* genes causing nosocomial transmission and healthcare workers colonization in a neonatal intensive care unit. Infect Genet Evol. 2014;25:78–80.
- Faires MC, Aucoin D, Weese JS. Inducible clindamycin-resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs and cats. Vet Microbiol. 2009;139:419–20.
- Feng Y, Wei T, Dachuan L, Qianyi L, Yingze Z, Tong Y, Yuting D, Ya-Hong L, Jian-Hua L. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* in pets from South China. Vet Microbiol. 2012;160:517–24.
- Fitzgerald JR. The *Staphylococcus intermedius* group bacterial pathogens: Species re classification, pathogenesis and emergence of methicillin resistance. Vet Dermatol. 2009;20:490–5.
- Huerta H, Maldonado A, Ginel P, Tarradas C, Gomez Garsón L, Astorga RJ, Luque I. Risk factors associated with the antimicrobial resistance of staphylococci in canine pyoderma. Vet Microbiol. 2011;150:302–8.
- Ishihara K, Shimokubo N, Sakagami A, Ueno H, Muramatsu Y, Kadosawa T, Yanagisawa C, Hanaki H, Nakajima C, Suzuki Y, Tamura Y. Occurrence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus* in academic veterinary hospital. Appl Environ Microbiol. 2010;25:5165–74.
- McCarthy AJ, Harrison EM, Stanczak-Mrozek K, Leggett B, Waller A, Holmes MA, Lloyd DH, Lindsay JA, Loeffler A. Genomic insights into the rapid emergence and evolution of MDR in *Staphylococcus pseudintermedius*. J Antimicrob Chemother. 2015;70:997–1007.
- Milheirico C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the Multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:3374–7.
- Narayan Chandra P, Bargman SC, Moodley A, Soren Saxmore N, Guardabassi L. *Staphylococcus* colonization patterns and strains

- diversity in healthy dogs: A cross-sectional and longitudinal study. *Vet Microbiol.* 2012;160:420–7.
20. OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). Código sanitario para los animales terrestres. Título 6 Capítulo 6.9. [On-line; consultado 2015]. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-terrestre/acceso-en-linea/>
21. Osland AM, Vestby LK, Fanuelson H, Slettemeas JS, Sunde M. Clonal diversity and biofilm-forming ability of methicillin-resistant *Staphylococcus*. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:841–8.
22. Paul NC, Moodley A, Ghibaudo G, Guardabassi L. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus* in small animal veterinarians: Indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses Public Health.* 2011;58:533–9.
23. Roberson JR, Fox LK, Hancock DD, Besser TE. Evaluation of methods for differentiation of coagulase-positive staphylococci. *J Clin Microbiol.* 1992;30:3217–9.
24. Sasaki T, Kikuchi K, Tanaka Y, Takahashi N, Kamata S, Hiramatsu K. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J Clin Microbiol.* 2007;45:2770–8.
25. Schissler JR, Hillier A, Daniels JB, Cole LK, Gebreyes WG. Evaluation of Clinical Laboratory Standards Institute interpretive criteria for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *J Vet Diagn Invest.* 2009;21:684–8.
26. Steward CD, Raney PM, Morrell AK, Williams PP, McDougal LK, Jevitt L, McGowan JE Jr, Tenover FC. Testing for induction of clindamycin resistance in erythromycin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2005;43:1716–21.
27. Sutcliffe J, Grebe T, Tait-Kamradt A, Wondrack L. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:2562–6.
28. Tenover F, Moellering R. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2007;44:1208–15.
29. Van Duijkeren E, Catry B, Greko C, Moreno MA, Pomba MC, Pyörälä S, Ružauskas M, Sanders P, Threlfall EJ, Torren-Edo J, Törneke K, Scientific Advisory Group on Antimicrobials (SAGAM). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:2705–14.
30. Van Hoovels L, Vankeerberghen A, Boel A, Van Vaerenbergh K, De Beenhouwer H. First case of *Staphylococcus* infection in a human. *J Clin Microbiol.* 2006;309:4609–12.
31. Vannuffel P, Gigi J, Ezzedine H, Vandercam B, Delmee M, Wauters G, Gala JL. Specific detection of methicillin-resistant *Staphylococcus* species by multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2864–7.
32. Weese JS, Faires M, Brisson BA, Slavic D. Infection with methicillin-resistant *Staphylococcus* masquerading as cefoxitin susceptible in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 2009;235:1064–6.
33. Weese JS, van Duijkeren E. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus* in veterinary medicine. *Vet Microbiol.* 2010;140:418–29.
34. Wendlandt S, Febler AT, Monecke S, Ehrlich R, Schwarz S, Kadlec K. The diversity of antimicrobial resistance genes among staphylococci of animal origin. *Int J Med Microbiol.* 2013;303:338–49.
35. Wondrack L, Massa M, Yang BV, Sutcliffe J. Clinical strain of *Staphylococcus aureus* inactivates and causes efflux of macrolides. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:992–8.