

< Original Article >

대구지역 개와 고양이에서 분리된 *Staphylococcus pseudintermedius*의 fluoroquinolone 내성

조재근* · 김정미 · 김환득 · 김경희 · 양창렬
대구광역시보건환경연구원

Resistance to fluoroquinolone of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats in Daegu

Jae-Keun Cho*, Jeong-MI Kim, Hwan-Deuk Kim, Kyung-Hee Kim, Chang-Ryoul Yang

Kyung-Metropolitan Health & Environmental Research Institute, Daegu 42183, Korea

(Received 2 March 2017; revised 20 March 2017; accepted 21 March 2017)

Abstract

The purpose of this study was to investigate the fluoroquinolone (FQ) resistance and presence of *gyrA* and *grrA* gene in 87 *Staphylococcus pseudintermedius* isolates obtained from clinical samples of dogs and cats. Also, the profiles of FQ resistance compared with methicillin resistant *S. pseudintermedius* (MRSP) isolates. FQ resistance was observed for enrofloxacin (41.4%), ciprofloxacin (39.1%), norfloxacin (36.8%), ofloxacin and levofloxacin (32.2%, respectively), and moxifloxacin (31.0%). Thirty-eight (43.7%) of 87 *S. pseudintermedius* isolates were resistant to more than one FQ. Twenty-six (64.5%) of 38 FQ resistant isolates were resistant to all the six FQ tested. Of 38 FQ resistant isolates, *gyrA* gene was detected in all isolates but *grrA* gene was not found. Moreover, 19 MRSP isolates were resistant to enrofloxacin (63.2%), ciprofloxacin (57.9%), norfloxacin (52.6%), and ofloxacin, levofloxacin and moxifloxacin (47.4%, respectively). FQ resistance were highly prevalence in *S. pseudintermedius* isolates from dogs and cats. Our results emphasize the prudent use of antimicrobial agents to companion animals is necessary for prevent antimicrobial resistance.

Key words : *S. pseudintermedius*, MRSP, Fluoroquinolone, *gyrA*, *grrA*

서 론

Staphylococcus pseudintermedius (이전 *S. intermedius*)는 기회감염균으로 개와 고양이에서 피부와 귀 감염, 요로감염 및 수술 후 상처감염의 중요한 원인체이다. 또한 *S. pseudintermedius*는 건강한 개와 고양이의 피부와 점막 표면에 서식하는 정상세균총이다(van Duijkeren 등, 2011).

Fluoroquinolone (FQ)은 그람양성균과 그람음성균 모두에 광범위한 항균작용을 나타내는 합성항균제로

사람과 동물의 질병치료를 위해 널리 사용되고 있다(Heinen, 2002). Ciprofloxacin과 norfloxacin은 임상에서 최초로 승인된 FQ계 항균제이다. Enrofloxacin이 1989년에 개와 고양이에서 최초로 사용이 승인된 이후 orbifloxacin, difloxacin, marbofloxacin 및 pradofloxacin 등이 수의임상에서 사용되고 있다. 한편 ciprofloxacin은 사람에서만 사용이 승인되었지만 가끔 개와 고양이의 질병치료를 위해 사용되어지고 있다(Pallo-Zimmerman 등, 2010). 그러나 이들 항균제의 광범위한 사용으로 인한 methicillin 내성 *S. pseudintermedius* (MRSP)를 포함한 FQ 내성 *S. pseudintermedius*의 출현은 증가하고 있어 문제가 되고 있다(Loeffler 등, 2007;

*Corresponding author: Jae-Keun Cho, Tel. +82-53-760-1300, Fax. +82-53-760-1302, E-mail. thinking@daegu.go.kr

Zur 등, 2011; Onuma 등, 2012; Moodley 등, 2014).

FQ은 세균의 DNA 합성에 필요한 두 효소인 DNA gyrase와 topoisomerase IV의 작용을 방해하여 DNA 합성을 저해함으로써 항균작용을 나타내며, DNA gyrase는 *gyrA*와 *gyrB*로 topoisomerase IV는 *grlA*와 *grlB*로 구성되어 있다(Ruiz, 2003; Pallo-Zimmerman 등, 2010). FQ 내성은 DNA gyrase와 topoisomerase IV 유전자의 일부인 퀴놀론 내성 결정 부위(quinolone resistance determining region, QRDR)의 점돌연변이, 세포막 단백질인 porin의 구조변화 및 항균제 유출 펌프의 작동으로 인한 약물 투과력 변화에 의해 일어나는 것으로 알려져 있다(Ruiz, 2003; Jacoby, 2005). 그람 양성균에서 FQ 내성과 관련된 QRDR에서 변이는 *S. aureus*와 *S. pseudintermedius* 같은 일부 그람 양성균에서 발견되며, 이들 변이는 주로 DNA gyrase 내 Ser-84와 Glu-88 그리고 topoisomerase IV 내 Ser-80과 Glu-84번 위치에서 아미노산 변이가 가장 흔하다(Yamagishi 등, 1996; Hooper, 2002).

국내 개와 고양이 유래 *S. pseudintermedius*에서 FQ계 항균제의 내성에 관한 연구는 드물다(Yoo 등, 2010; Kang 등, 2014). 최근 다양한 유래의 항생제 내성균이 증가하고 있으며, 축산에서 사용하는 것과 동일한 항생제가 사람에서도 사용되고 있어 동물유래 항생제 내성균이 가축, 축산물, 환경 등을 통해 사람으로 전달될 경우 적절한 치료약제의 부재로 사회적으로 심각한 문제가 될 수 있다.

따라서 이번 연구는 임상질환을 가진 개와 고양이에서 분리된 *S. pseudintermedius* 87주에 대하여 FQ계 항균제에 대한 내성 양상을 조사하고, FQ에 내성을 보인 균주에 대해서는 내성 유전자의 검출을 실시하였다. 또한 MRSP 균주에서 FQ에 대한 내성 양상을 알아보았다.

재료 및 방법

공시재료

2013년 1월부터 2015년 12월까지 대구지역 동물병원에서 보건환경연구원으로 병성감정 의뢰된 개와 고양이의 가검물에서 분리하여 보관 중인 *S. pseudintermedius* 87주를 이번 시험에 사용하였다(Table 1).

항균제 감수성 시험

항균제 감수성시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012)의 방법에 준하여 디스크 확산법으로 실시하였다. 항생제 디스크는 Oxoid사(UK)의 ciprofloxacin (5 µg), enrofloxacin (10 µg), levofloxacin (5 µg), moxifloxacin (50 µg), norfloxacin (10 µg) 및 ofloxacin (5 µg) 등 6종을 사용하였다. 공시균을 Mueller-hinton broth (Oxoid, UK)에 접종하여 37°C에서 2~4시간 배양하여 균 농도를 McFarland No. 0.5로 조정된 후 멸균면봉을 이용하여 Mueller-Hinton agar (Oxoid, UK) 평판배지에 고르게 도포한 다음 항생제 디스크를 dispenser (Oxoid, UK)로 접종하였다. 35±2°C에서 16~18시간 배양 후 균 억제대의 크기를 측정하여 내성 여부를 판정하였다. 항균제 감수성 시험의 표준균주로는 *S. aureus* ATCC 25923을 사용하였다.

MRSP 검출

이전 연구(Cho 등, 2016)에서 공시균에 대한 항생제 감수성 시험 결과 oxacillin에 내성을 나타내고 PCR에 의해 *mecA* 유전자가 검출된 *S. pseudintermedius* 균주를 MRSP로 판정하였다(Moodley 등, 2014).

Genomic DNA 추출

공시균에 대한 genomic DNA 추출은 boiling법으로 실시하였다. 간단히 설명하면, tryptic soy broth (Oxoid, UK)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 진탕 배양하여 얻은 균 부유액 1.0 mL를 13,000 rpm에서 2분간 원심

Table 1. Distribution of 87 *S. pseudintermedius* isolates used in this study

Sites	No (%) of isolates		
	Dogs	Cats	Total
Anus	2	-	2 (2.3)
Ear	40	2	42 (48.3)
Nose	3	-	3 (3.4)
Skin	27	-	27 (31.0)
Udder	1	-	1 (1.2)
Urine	5	3	8 (9.2)
Vagina	1	-	1 (1.2)
Wound infection	2	1	3 (3.4)
Total	81	6	87 (100)

분리한 후 상층액을 제거한 다음 멸균 증류수 0.5 mL로 재 부유하였다. 균 부유액은 끓는 물에 10분간 가열한 다음 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 template DNA로 사용하였다.

***gryA* 및 *griA* 유전자 검출**

gryA 유전자의 검출은 *gryAs* (5'-ATGAGYGTAT-CGTKCWCCTGC-3')와 *gryAas* (5'-CCATW GARCCA-AAGTTACCTTG-3'), *griA* 유전자의 검출은 *griAs* (5'-AA-TACRYAYGATAARAATTC CG-3')와 *griAas* (5'-GT-YGIRTCATCATAGTTTGG-3) primer를 사용하여 Intorred(2007)의 방법에 따라 실시하였다. PCR 반응은 Maxime PCR PreMix (*i-Star Taq*, intron Biotech, Korea)에 각각의 10 pmol primer 1 µL와 template DNA 2 µL를 넣은 후 멸균된 증류수를 첨가하여 최종 반응량이 20 µL가 되게 하여 TProfessional Thermal Cycler (Biometra, Germany)를 이용하여 수행하였다. PCR 조건은 94°C에서 5분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 45초간 denaturation, 50°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 90초간 extension 과정을 총 35회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 5분간 final extension을 하였다. PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동을 실시한 후 *gryA*에서 261 bp, *griA*에서 289 bp 크기의 증폭산물을 확인하였다.

결 과

개와 고양이로부터 분리된 *S. pseudintermedius* 87주를 대상으로 enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, levofloxacin 및 moxifloxacin 등 6종의 FQ계 항균제에 대한 감수성 시험을 실시한 결과는 Table 2와 같다. *S. pseudintermedius*는 enrofloxacin에 41.4%

Table 2. Fluoroquinolone resistance in 87 *S. pseudintermedius* isolates

Antimicrobial agents	No. (%) of isolates		
	Resistant	Intermediate	Susceptible
Enrofloxacin	36 (41.4)	0 (0.0)	51 (58.6)
Ciprofloxacin	34 (39.1)	2 (2.3)	51 (58.6)
Norfloxacin	32 (36.8)	0 (0.0)	55 (63.2)
Ofloxacin	28 (32.2)	6 (8.3)	59 (67.8)
Levofloxacin	28 (32.2)	0 (0.0)	59 (67.8)
Moxifloxacin	27 (31.0)	1 (1.1)	59 (67.8)

(36주)로 가장 높은 내성률을 나타내었고, 다음은 ciprofloxacin에 39.1% (34주), norfloxacin에 36.8% (32주), ofloxacin과 levofloxacin에 각각 32.2% (28주) 순이었다. 반면 moxifloxacin은 31.0% (27주)로 가장 낮은 내성률을 나타내었다.

공시균 87주 중 38주(43.7%)는 한 종류 이상의 FQ에 내성을 나타내었다. FQ에 내성인 38주를 대상으로 다제내성 양상을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 38주 중 26주(68.5%)는 사용된 6종의 항균제에 모두 내성을 나타내었다. 또한 5제 내성균(enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin 및 levofloxacin) 및 4제 내성균(norfloxacin, ofloxacin, levofloxacin 및 moxifloxacin)이 각각 1주(2.6%), 3제 내성균 (enrofloxacin, ciprofloxacin 및 norfloxacin)이 3주(7.9%), enrofloxacin과 ciprofloxacin 및 enrofloxacin 과 norfloxacin 같은 2제 내성균은 각각 3주(7.9%)와 1주(2.6%)로 나타났다. Enrofloxacin 및 ciprofloxacin 같은 한 종류의 항균제에 대해서는 각각 1주(2.6%) 및 2주(5.3%)로 나타났다.

이전 연구에서 methicillin에 내성을 보인 MRSP 19주에 대한 FQ 내성 양상은 Table 4와 같다. MRSP 균주는 enrofloxacin에 63.2%에 가장 높은 내성률을 나타내었고 다음은 ciprofloxacin에 57.9%, norfloxacin에 52.6% 그리고 ofloxacin, levofloxacin 및 moxifloxacin에 각각 47.4%로 낮았다.

FQ계 항균제에 내성을 보인 38주를 대상으로 FQ의 내성 기전으로 알려진 DNA gyrase 및 topoisomerase IV 내에서 *gryA*와 *griA* 유전자의 검출을 시도한 결과, *gryA* 유전자는 38주 모두에서 검출되었으나 *griA* 유전자는 한주도 검출되지 않았다.

Table 3. Phenotypes of antimicrobial resistance in 38 fluoroquinolone resistant *S. pseudintermedius* isolates

Pattern of fluoroquinolone resistance*	No. of isolates (%)
ENR	2 (5.3)
CIP	1 (2.6)
ENR+CIP	3 (7.9)
ENR+NOR	1 (2.6)
ENR+CIP+NOR	3 (7.9)
NOR+OFL+LEV+MOX	1 (2.6)
ENR+CIP+NOR+OFL+LEV	1 (2.6)
ENR+CIP+NOR+OFL+LEV+MOX	26 (68.5)
Total	38 (100)

*ENR: enrofloxacin, CIP: ciprofloxacin, NOR: norfloxacin, OFL: ofloxacin, LEV: levofloxacin, MOX: moxifloxacin.

Table 4. Fluoroquinolone resistance in 19 MRSP isolates

Antimicrobial agents	No. (%) of isolates		
	Resistant	Intermediate	Susceptible
Enrofloxacin	12 (63.2)	0 (0.0)	7 (36.8)
Ciprofloxacin	11 (57.9)	1 (5.3)	7 (36.8)
Norfloxacin	10 (52.6)	0 (0.0)	9 (47.4)
Ofloxacin	9 (47.4)	0 (0.0)	10 (52.6)
Levofloxacin	9 (47.4)	0 (0.0)	10 (52.6)
Moxifloxacin	9 (47.4)	0 (0.0)	10 (52.6)

고 찰

FQ계 항균제는 penicillin 등의 β -lactam 계열의 항생제와 더불어 가장 많이 사용되고 있는 항생제이다 (EMA, 2014). 이번 연구에서는 개와 고양이에서 분리된 *S. pseudintermedius*에서 FQ 항균제에 대한 내성 양상과 FQ 내성과 관련이 있는 *gyrA*와 *grlA* 유전자의 검출을 시도하였다.

이번 연구의 결과 동물에서 사용이 승인된 enrofloxacin (41.1%)에 가장 높은 내성을 나타내었다. 이는 FQ계 항균제 중 enrofloxacin의 사용량이 가장 많은 것과 관련이 있다. 반면 moxifloxacin (31.0%)에 가장 낮은 내성을 보였다. 더욱이 levofloxacin과 moxifloxacin은 동물에서 사용되고 있지 않음에도 불구하고 내성을 나타낸 것은 FQ이 화학적, 구조적 유사성으로 인해 사람과 동물에서 사용되고 있는 약제에서 동시 내성이 일어날 수 있음을 의미한다(Yoo 등, 2010). 한편 ciprofloxacin은 enrofloxacin의 대사산물로 두 약제의 활성 영역은 유사하다(Pallo-Zimmerman 등, 2010). 이번 연구에서 ciprofloxacin에서 중간 내성을 고려할 때 이들 두 약제의 내성률은 같았다.

이번 연구의 결과는 Yoo 등(2010)이 농피증과 외이염 증상을 보인 개에서 enrofloxacin에 27.0%, ciprofloxacin에 25.7%, ofloxacin에 24.3%, levofloxacin에 20.3% 및 moxifloxacin에 18.9%의 성적 보다 높았다. 이는 국내 동물병원에서 퀴놀론 항균제에 대한 엄격한 사용 규제의 미비에 따른 항생제 남용과 오용의 결과로 생각된다. 반면 Kang 등(2014)이 건강한 개와 안질환을 가진 개에서 enrofloxacin에 38.8%, ciprofloxacin에 40.8%, ofloxacin에 38.8%, levofloxacin에 34.4% 및 moxifloxacin에 4.1%의 성적과 비교해 볼 때 enrofloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin 및 levofloxacin과는 유사한 결과를 얻었다. 그러나 moxifloxacin의 경우 이번 연구에서 상당히 높은 내성률을 보였다. 이에 대해서는

추가적인 조사가 필요할 것으로 생각된다.

질병 치료를 위해 항생제를 투여한 개에서 분리된 세균이 치료를 하지 않은 개에서 분리된 세균보다 높은 내성을 나타낸다(Rantala 등, 2004). 건강한 개와 고양이 유래 *S. pseudintermedius*에서 Intorre 등(2007)은 이탈리아에서 ciprofloxacin, enrofloxacin, levofloxacin, norfloxacin 및 ofloxacin에 각각 1.5%, moxifloxacin에 0%, Rubin과 Chirino-Trejo (2011)은 캐나다에서 enrofloxacin, ciprofloxacin 및 moxifloxacin에 각각 0%, Priyantha 등(2016)은 ciprofloxacin, levofloxacin 및 moxifloxacin에 각각 0%의 성적을 보고하여 매우 낮은 내성률을 나타내었다. 반면 농피증, 외이도염 같은 임상증상을 나타낸 개와 고양이 유래 *S. pseudintermedius*에서 FQ에 대한 내성률은 매우 다양하게 나타났다. Pedersen 등(2007)은 덴마크에서 enrofloxacin에 1%, Kawakami 등(2010)은 일본에서 ofloxacin에 62.9%, norfloxacin에 61.2%, Dziva 등(2015)은 Trinidad에서 enrofloxacin에 18.5%, ciprofloxacin에 20.0% 및 norfloxacin에 23.1%의 성적을 보고하였다. 이와 같은 항균제 내성률의 차이는 항생제 사용량, 질병의 유무, 시료채취 시기, 시료채취 부위 등 여러 가지 요인에 기인한 것으로 생각된다.

이번 연구에서 공시균의 43.7%가 한 종류 이상의 FQ계 항균제에 내성을 나타내었다. 특히 FQ 내성균의 68.5% (26주)는 moxifloxacin을 포함한 사용된 6종의 항균제에 모두 내성을 나타내어 *S. pseudintermedius*에서 다제 내성균의 출현이 심각함을 확인하였다. 개와 고양이에서 FQ 내성균의 출현율을 감소시키기 위해 동물병원에서 올바른 치료 약제의 선정을 위해 반드시 항생제 감수성 시험을 수행 후 치료가 행하여져야 한다. 아울러 원 헬스(One Health)의 관점에서 반려동물을 대상으로 항생제 사용실태 조사와 더불어 내성균 모니터링 사업이 필요하다고 생각된다.

개와 고양이 유래 MRSP 균주는 대부분 초기에 개발된 FQ계 항균제에 높은 내성을 나타내었다. Loeffler 등(2007)은 enrofloxacin에 100%, Wang 등(2012)은 enrofloxacin에 57.6%, Vigo 등(2015)은 ciprofloxacin에 42.8%, Kizerwetter-Swida 등(2016)은 enrofloxacin과 ciprofloxacin에 각각 94.7%의 높은 내성률을 보고하였다. 이번 연구에서 MRSP 균주는 enrofloxacin에 63.2%, ciprofloxacin에 57.9%의 내성률을 나타내어 내성률에서는 다소 차이가 있었지만 유사한 결과를 얻었다. MRSP와 FQ의 높은 내성률은 밀접한 관련이 있는 것으로 보고되고 있지만 출현 기전은 명확하지 않지 않

다(Bisognano 등, 2000; Loeffler 등, 2007).

FQ 내성은 DNA gyrase와 topoisomerase IV와 관련이 있다. 오래된 FQ계 항균제의 경우 DNA gyrase는 그람 음성균에서 topoisomerase IV는 그람 양성균에서 주요한 표적이다(Hooper, 2002; Blondeau, 2004). 반면 gatifloxacin과 moxifloxacin 같은 새로운 계열의 FQ는 그람 양성균에서 DNA gyrase와 topoisomerase IV 모두 억제한다(Lu 등, 1999; Peterson, 2001). 이번 연구에서 FQ 내성 유전자는 DNA gyrase의 *gyrA* 유전자만 검출되었고, topoisomerase IV의 *grlA* 유전자는 검출되지 않았다. 따라서 *S. pseudintermedius*의 FQ 내성은 DNA gyrase와 관련이 있는 것으로 나타났다. 반면 Intorre 등(2007)은 *S. intermedium*에서 FQ 내성은 *gyrA*와 *grlA* 내에서 이중 돌연변이와 관련이 있다고 하였다. 이번 연구에서는 실시하지 않았지만 DNA gyrase의 *gyrA* 내 돌연변이가 양상에 대해서는 향후 추가적인 조사가 필요할 것으로 생각된다.

*S. pseudintermedius*에서 FQ 내성균의 높은 출현은 향후 치료 약제의 선택에 어려움을 줄 수 있다. 또한 반려동물 증가와 반려동물에 대한 인식변화로 사람과 밀접하게 생활하는 패턴이 보편화됨에 따라 반려동물에서의 항생제 내성이 사람에게 전달 가능성이 증가될 수 있어 항생제의 신중한 사용이 요구된다.

결 론

개와 고양이로부터 분리된 *S. pseudintermedius* 87주를 대상으로 6종의 FQ 항균제에 대한 내성양상과 이들 항균제에 내성을 보인 38주에 대해 FQ 내성 유전자인 *gyrA*와 *grlA*의 검출을 실시한 결과는 다음과 같다. *S. pseudintermedius*는 enrofloxacin에 41.4%, ciprofloxacin에 39.1%, norfloxacin에 36.8%, levofloxacin과 ofloxacin에 각각 32.2% 그리고 moxifloxacin에 31.0%의 내성률을 나타내었다. 공시균 87주 중 38주(43.7%)가 사용된 한 종류 이상의 FQ에 내성을 나타내었다. 이들 38주 중 35주(92.1%)는 두 종류 이상의 항균제에 내성을 나타내었고, 26주(68.5%)는 사용된 6종의 항균제에 모두 내성을 나타내었다. *gyrA*는 FQ에 내성을 보인 38주 모두에서 검출되었으나 *grlA*는 한주도 검출되지 않았다. MRSP 19주는 enrofloxacin에 63.2%, ciprofloxacin에 57.9%, norfloxacin에 52.6% 그리고 ofloxacin, levofloxacin 및 moxifloxacin에 각각 47.4%의 내성률을 나타내었다.

REFERENCES

- Bisognano C, Vaudaux P, Rohner P, Lew DP, Hooper DC. 2000. Induction of fibronectin-binding proteins and increased adhesion of quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* by subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 1428-1437.
- Blondeau JM. 2004. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv Ophthalmol* 49: S73-S78.
- Cho JK, Lee MR, Kim JM, Kim HD. 2016. Methicillin-resistant or susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs and cats. *Korean J Vet Serv* 39: 175-181.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. M100-S22. Wayne, Pa, USA.
- Dziva F, Wint C, Auguste T, Heeraman C, Dacon C, Yu P, Koma LM. 2015. First identification of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains among coagulase-positive staphylococci isolated from dogs with otitis externa in Trinidad, West Indies. *Infect Ecol Epidemiol* 5: 29170-<http://dx.doi.org/10.3402/iee.v5.29170>.
- EMA. 2014. Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EEA countries in 2012(Fourth ESVAC report). European medicines agency. London, United Kingdom.
- Heinen E. 2002. Comparative serum pharmacokinetics of the fluoroquinolones enrofloxacin, difloxacin, marbofloxacin, and orbifloxacin in dogs after single oral administration. *J Vet Pharmacol Ther* 25: 1-5.
- Hooper DC. 2002. Fluoroquinolone resistance among gram-positive cocci. *Lancet Infect Dis* 2: 530-538.
- Intorre L, Vanni M, Di Bello D, Pretti C, Meucci V, Tognetti R, Soldani G, Cardini G, Jousson O. 2007. Antimicrobial susceptibility and mechanism of resistance to fluoroquinolones in *Staphylococcus intermedium* and *Staphylococcus schleiferi*. *J Vet Pharmacol Ther* 30: 464-469.
- Jacoby GA. 2005. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis* 41: S120-126.
- Kang MH, Chae MJ, Yoon JW, Lee SY, Yoo JH, Park HM. 2014. Resistance to fluoroquinolones and methicillin in ophthalmic isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from companion animals. *Can Vet J* 55: 678-682.
- Kawakami T, Shibata S, Murayama N, Nagata M, Nishifuji K, Iwasaki T, Fukata T. 2010. Antimicrobial susceptibility and methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* subsp. coagulans isolated from dogs with pyoderma in Japan. *J Vet Med Sci* 72: 1615-1619.
- Kizerwetter-Świda M, Chrobak-Chmiel D, Rzewuska M, Binek M. 2016. Resistance of canine methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains to pradofloxacin. *J Vet Diagn Invest* 28: 514-518.
- Loeffler A, Linek M, Moodley A, Guardabassi L, Sung JM,

- Winkler M, Weiss R, Lloyd DH. 2007. 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.
- Lu T, Zhao X, Drlica K. 1999. Gatifloxacin activity against quinolone-resistant gyrase: allele-specific enhancement of bacteriostatic and bactericidal activities by the C-8-methoxy group. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 2969-2974.
- Moodley A, Damborg P, Nielsen SS. 2014. Antimicrobial resistance in methicillin susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of canine origin: literature review from 1980 to 2013. *Vet Microbiol* 171: 337-341.
- Onuma K, Tanabe T, Sato H. 2012. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from healthy dogs and dogs affected with pyoderma in Japan. *Vet Dermatol* 23: 17-22.
- Pallo-Zimmerman LM, Byron JK, Graves TK. 2010. Fluoroquinolones: then and now. *Compend Contin Educ Vet* 32: E1-9.
- Pedersen K, Pedersen K, Jensen H, Finster K, Jensen VF, Heuer OE. 2007. Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. *J Antimicrob Chemother* 60: 775-781.
- Petersen U. 2001. The evolution of quinolone: from nalidixic acid to the quinolones of the third generation. *Pharm Unserer Zeit* 30: 376-381.
- Priyantha R, Gaunt MC, Rubin JE. 2016. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, Canada. *Can Vet J* 57: 65-69.
- Rantala M, Lahti E, Kuhalampil J, Pesonen S, Järvinen AK, Saijonmaa-Koulumies, Honkanen-Buzalski T. 2004. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. in dogs given antibiotics for chronic dermatological disorders, compared with non-treated control dogs. *Acta Vet Scand* 45: 37-45.
- Rubin JE, Chirino-Trejo M. 2011. Prevalence, sites of colonization, and antimicrobial resistance among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in Saskatoon, Canada. *J Vet Diagn Invest* 23: 351-354.
- Ruiz J. 2003. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother* 51: 1109-1117.
- van Duijkeren E, Catry B, Greko C, Moreno MA, Pomba MC, Pyörälä S, Ruzauskas M, Sanders P, Threlfall EJ, Torren-Edo J, Törneke K. 2011. Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother* 66: 2705-2714.
- Vigo GB, Giacoboni GI, Galletti PS, Pasterán FG, Corso AC. 2015. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from dog clinical samples. *Rev Argent Microbiol* 47: 206-211.
- Wang Y, Yang J, Logue CM, Liu K, Cao X, Zhang W, Shen J, Wu C. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma in North China. *J Appl Microbiol* 112: 623-630.
- Yamagishi J, Kojima T, Oyamada Y, Fujimoto K, Hattori H, Nakamura S, Inoue M. 1996. Alterations in the DNA topoisomerase IV *grlA* gene responsible for quinolone resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 1157-1163.
- Yoo JH, Yoon JW, Lee SY, Park HM. 2010. 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.
- Zur G, Elad D, Sterenzy-Agiv N. 2011. Increased resistance of *Staphylococcus pseudintermedius* to the commonly used antibiotics in canine dermatology. *Israel J Vet Med* 66: 143-150.