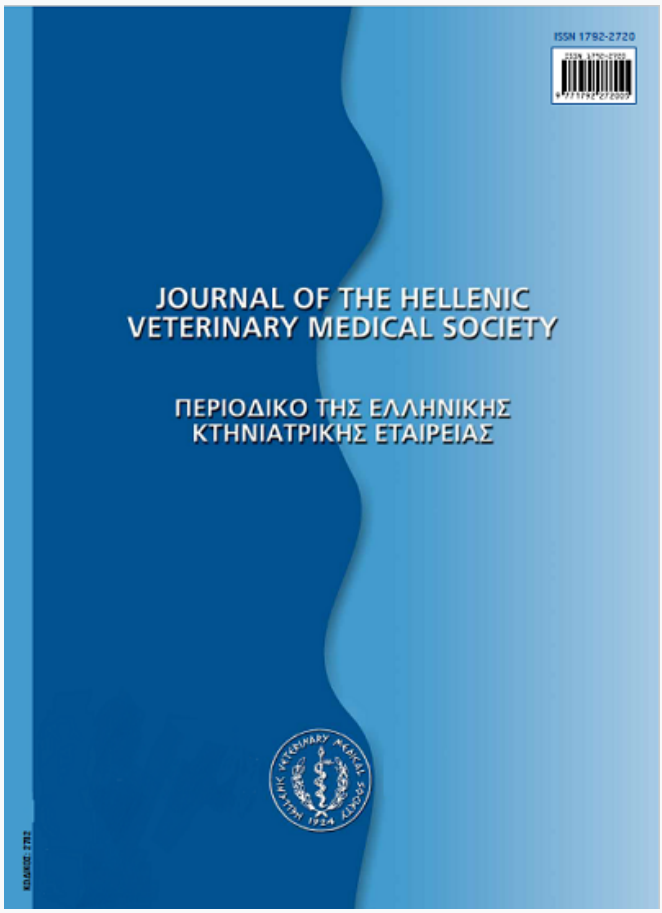
ePublishing

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 61, No 1 (2010)




# New aspects upon the classification of Staphylococcus intermedins

*E. PETRIDOU (Ε. ΠΕΤΡΙΔΟΥ), R. FARMAKI (Ρ. ΦΑΡΜΑΚΗ), A. F. KOUTINAS (Α.Φ. ΚΟΥΤΙΝΑΣ)*

doi: 10.12681/jhvms.14877

**To cite this article:**

PETRIDOU (Ε. ΠΕΤΡΙΔΟΥ) E., FARMAKI (Ρ. ΦΑΡΜΑΚΗ) R., & KOUTINAS (Α.Φ. ΚΟΥΤΙΝΑΣ) A. F. (2017). New aspects upon the classification of Staphylococcus intermedins. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *61*(1), 57–60. https://doi.org/10.12681/jhvms.14877

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 21/01/2026 09:31:30

JOURNAL OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY 2010 61(1): 57-60
ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 2010, 61(1): 57-60

Review article
Ανασκόπηση

# New aspects upon the classification of *Staphylococcus intermedius*

**Petridou E.**[1], DVM, PhD, **Farmaki R.**[2], DVM, PhD, **Koutinas A.F.**[3], DVM, PhD, DipECVD

[1] *Lab. of Microbiology and Infectious Diseases, School of Veterinary Medicine, Aristotle University, Thessaloniki*
[2] *Clinic of Medicine, Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly, Karditsa*
[3] *Companion Animal Clinic, School of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki*

# Νεότερα δεδομένα πάνω στην ταξινόμηση του *Staphylococcus intermedius*

**Ε. Πετρίδου**[1], DVM, PhD, **Ρ. Φαρμάκη**[2], DVM, PhD, **Α. Φ. Κουτίνας**[3], DVM, PhD, DipECVD

[1] *Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων, Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ.*
[2] *Παθολογία Ζώων Συντροφιάς, Κτηνιατρική Καρδίτσας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
[3] *Παθολογία Ζώων Συντροφιάς, Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ.*

**ABSTRACT.** In 1976, *Staphylococcus intermedius* was first described as being a new species isolated from pigeons, dogs, mink and horses. Until recently, the majority of coagulase-positive staphylococci originating from animals such as dogs and pigeons have been classified as *S. intermedius*. This species has been recognized to constitute normal skin flora of various animal species and to occasionally cause a variety of infections in dogs and cats. There have been six species of coagulase-positive staphylococci other than *Staphylococcus aureus*, namely *S.intermedius, S.schleiferi* subsp. *coagulans, S.hyicus, S. lutrae, S.delphini* and *S. pseudintermedius*. Sequence similarities of 16S rRNA genes among four of these species, except *S. hyicus* and *S. lutrae*, are 99% identical. In addition, it is very difficult to differentiate among *S. intermedius, S. delphini* and *S. pseudintermedius* phenotypically, and commercial kits are not available for the differentiation between of *S. pseudintermedius* and *S. delphini*. It has been shown that isolates phenotypically identified as *Staphylococcus intermedius* consist of four distinct species, including *S. intermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus delphini* group A and B, which together represent the *Staphylococcus intermedius* group (SIG). Moreover, *S. delphini* group B might be a novel species. In 2009, a new, rapid and inexpensive PCR-RFLP was developed and is capable of discriminating the SIG strains.

***Keywords:*** *Staphylococcus intermedius, Staphylococcus pseudintermedius*, SIG, classification, dogs

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Το 1976, ο *Staphylococcus intermedius* απομονώθηκε για πρώτη φορά από περιστέρια, σκύλους, λουτρεόλη και άλογα. Μέχρι πρόσφατα, η πλειονότητα των πηκτάση θετικών σταφυλοκόκκων, που απομονώνονταν από ζώα και κυρίως από σκύλους και γάτες, χαρακτηρίζονταν ως *S. intermedius*. Ο μικροοργανισμός αποτελεί μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του δέρματος διαφόρων ειδών ζώων, ενώ εμπλέκεται σε λοιμώξεις του σκύλου και της γάτας. Μέχρι σήμερα, εκτός από τον *S. aureus*, είναι γνωστά 6 είδη σταφυλόκκοκου θετικού στην πηκτάση *S. intermedius, S. schleiferi* subsp. *coagulans, S. hyicus, S. lutrae, S. delphini* και *S. pseudintermedius*. Τα τέσσερα είδη, εκτός δηλαδή από τον *S. hyicus* και τον *S. lutrae*, παρουσιάζουν ομολογία πάνω από 99% κατά την αλληλούχιση του 16S rRNA γονιδίου τους, με αποτέλεσμα να μην είναι εφικτή η διαφοροποίησή τους.

*Correspondence:* Petridou E.
Lab. of Microbiology and Infectious Diseases, School of Veterinary Medicine, Aristotle University, GR-541 24, Thessaloniki
Tel.: +30 2310 99 9854, Fax: +30 2310 99 9961, e-mail: epetri@vet.auth.gr

*Αλληλογραφία:* Ε. Πετρίδου
Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων, Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ, 541 24 Θεσσαλονίκη
Τηλ.: 2310 99 9854, Fax: 2310 99 9961, e-mail: epetri@vet.auth.gr

*Submission date: 20.05.2009*
*Approval date: 17.07.2009*

*Ημερομηνία υποβολής: 20.05.2009*
*Ημερομηνία εγκρίσεως: 17.07.2009*

Επιπλέον, η βιοχημική διαφοροποίηση των στελεχών *S. intermedius, S. delphini* και *S.pseudintermedius* με τα διαθέσιμα εμπορικά κιτ είναι αδύνατη αφού δεν μπορούν να διαφοροποιήσουν τον *S. pseudintermedius* και τον *S. delphini*. Έχει αποδειχθεί ότι στελέχη που έχουν ταυτοποιηθεί βιοχημικά ως *S. intermedius* αποτελούν 4 διαφορετικά είδη: *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* και *S. delphini* ομάδα Α και Β, από τις οποίες η Β πιθανώς να αποτελεί νέο είδος. Το 2009, αναπτύχθηκε μια νέα, γρήγορη, αξιόπιστη και οικονομική PCR-RFLP, που βασίζεται στην ανίχνευση του *pta* γονιδίου (με βάρος: 320bp) και είναι ικανή να διακρίνει τα στελέχη που συγκροτούν την ομάδα SIG (*Staphylococcus intermedius* Group).

**Λέξεις ευρετηρίασης:** *Staphylococcus intermedius, Staphylococcus pseudintermedius*, SIG, ταξινόμηση, σκύλοι.

Ο *Staphylococcus intermedius* περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Hajek το 1976. Μέχρι τότε, όλοι οι gram θετικοί παθογόνοι κόκκοι που απομονώνονταν από τα ζώα και ήταν β-αιμολυτικοί (με διπλή ζώνη αιμόλυσης) και θετικοί στην πηκτάση και την DNάση, χαρακτηρίζονταν ως *Staphylococcus aureus*. Αργότερα, τα θετικά στην πηκτάση είδη του σταφυλόκοκκου, εκτός από τον *Staphylococcus aureus*, που βρέθηκαν είναι τα *S.intermedius, S.schleiferi* subsp. *coagulans*, *S.hyicus*, *S.lutrae*, *S.delphini* και *S.pseudintermedius* (Freney και συν., 1999, Devriese και συν., 2005). Η διαφοροποίηση των παραπάνω ειδών ήταν δύσκολη φαινοτυπικά και γενοτυπικά. Η χρήση της 16S rDNA PCR με στόχο την αλληλουχία του 16S rRNA γονιδίου δεν βοήθησε ιδιαίτερα στην επίλυση του προβλήματος αφού για τα 4 από τα 6 είδη (δηλαδή εκτός του *S.lutrae* και *S.hyicus*) η συγγένεια (ομολογία) αλληλουχίας βρέθηκε να είναι μεγαλύτερη του 99% (Fox και συν., 1992, Takahashi και συν., 1999).

Ο *Staphylococcus intermedius* απομονώθηκε για πρώτη φορά από τα περιστέρια, το σκύλο, τη λουτρεόλη και το άλογο (Hajek 1976). Παρά το γεγονός ότι ο Hajek είχε διαπιστώσει ότι υπάρχει κάποια φαινοτυπική ανομοιογένεια μεταξύ των στελεχών που περιέγραφε και τα κατέτασσε ως *Staphylococcus intermedius*, η ταξινόμηση του είδους αυτού δεν είχε διερευνηθεί μέχρι το 2005.

Φαινοτυπικός διαχωρισμός μεταξύ των στελεχών δεν μπόρεσε να γίνει επειδή με τα εμπορικά κιτ δεν υπάρχει η δυνατότητα βιοχημικής διαφοροποίησης μεταξύ του *S.pseudintermedius* και του *S.delphini*. Αυτό μπόρεσε, όμως, να γίνει μεταξύ του *S.intermedius* και του *S.pseudintermedius* ή του *S.delphini*, αλλά όχι μεταξύ των δύο τελευταίων (Sasaki και συν. το 2007). Ο *S.delphini* απομονώθηκε από τα δελφίνια το 1988, ενώ ο *S.pseudintermedius* από τη γάτα, το σκύλο, το άλογο και τον παπαγάλο το 2005 (Varado και συν., 1988, Devriese και συν., 2005). Οι τελευταίοι ερευνητές, το 2005, περιέγραψαν το νέο είδος *Staphylococcus pseudintermedius* που απομόνωσαν για πρώτη φορά από το πνευμονικό παρέγχυμα γάτας. Ο χαρακτηρισμός του στελέχους ως νέου είδους βασίστηκε κυρίως στο πολύ χαμηλό ποσοστό του DNA-DNA υβριδισμού που λάμβαναν μεταξύ του στελέχους που προερχόταν από τη γάτα και ενός καλά χαρακτηρισμένου στελέχους του *Staphylococcus intermedius* που προερχόταν από το άλογο (38-46% χαμηλότερα από τις συνθήκες δοκιμής). Με την ίδια μέθοδο, η ομολογία με τον *Staphylococcus delphini* που προερχόταν από δελφίνια ήταν λίγο υψηλότερη, προσεγγίζοντας το 54%. Παρά τις όποιες φαινοτυπικές διαφορές, ήταν πολύ δύσκολο να διαφοροποιηθούν τα νέα είδη με τον τρόπο αυτό. Τον επόμενο χρόνο (2006) οι van Hoovels και συν. κατάφεραν να ταυτοποιήσουν τον *S.pseudintermedius* που απομονώθηκε από άνθρωπο με την αλληλουχία του *tuf* γονιδίου, αλλά και πάλι τα προβλήματα στην εφαρμογή της μεθόδου ήταν πολλά.

**Επαναταξινόμηση του *Staphylococcus intermedius***

Μέχρι πρόσφατα, η μοριακή ταυτοποίηση των σταφυλοκκόκων βασιζόταν στην ανίχνευση του γονιδίου nuc που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή θερμονουκλεάσης (Gudding,1983, Becker και συν., 2005). Η μέθοδος αυτή τροποποιήθηκε ώστε να μπορέσει να διαφοροποιηθεί ο *S.intermedius* από τους *S.hyicus* and *S.schleiferi* (Becker και συν. 2005). Οι Sasaki και συν. (2007) αναγνωρίζοντας το πρόβλημα προχώρησαν στην επαναταξινόμηση των στελεχών που είχαν προηγουμένως ταυτοποιηθεί ως *S.intermedius* με βάση τα φαινοτυπικά τους χαρακτηριστικά. Η επαναταξινόμηση βασίστηκε στη μοριακή φυλογενετική ανάλυση και στη μερική αλληλουχία των *sodA* και *hsp60* γονιδίων και όχι στη μέχρι τότε ανίχνευση του γονιδίου *nuc*. Οι ερευνητές αυτοί, αφού ανέλυσαν το φυλογενετικό δένδρο του *S.intermedius*, με βάση τα παραπάνω γονίδια μπόρεσαν να διακρίνουν 4 ομάδες, τον *S.intermedius*, τον *S.pseudintermedius* και τις Α και Β του *S. delphini*. Διατυπώθηκε μάλιστα η υπόθεση ότι η ομάδα Β του *S.delphini* είναι πιθανό να αποτελεί νέο είδος.

**Σταφυλοκοκκική δερματίτιδα στο σκύλο και τη γάτα**

Η σταφυλοκοκκική δερματίτιδα, που είναι η συχνότερη δερματίτιδα στο σκύλο (Hill και συν., 1994, Ihrke, 1996, Scott και συν, 2001) συνήθως είναι δευτερογενής σε άλλες εσωτερικές παθήσεις και δερματοπάθειες, όπως είναι οι παρασιτικές και οι αλλεργικές δερματίτιδες. Ανάλογα με το βάθος της φλεγμονής, η σταφυλοκοκκική δερματίτιδα διακρίνεται σε επιπολής και βαθειά. Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί τα είδη *S. aureus, S. intermedius, S. hyicus* και *S. schleiferi* (Morris και συν, 2006). Ο *S. aureus* είναι το κυρίαρχο παθογόνο βακτήριο στον άνθρωπο, ενώ στο σκύλο ο κυρίαρχος παθογόνος και σαπροφυτικός μικροοργανισμός του δέρματος και των βλεννογόνων είναι ο *Staphylococcus intermedius* (Quinn και συν., 1994, Harvey και συν., 1994, Pinchbeck και συν., 2006). Η σταφυλοκοκκική δερματίτιδα στη γάτα είναι σπάνια σε σύγκριση με το σκύλο (Scott και συν, 2001), με κύριους υπεύθυνους τους *S.intermedius* και *S.aureus* (Morris και συν, 2006).

**Νεότερα δεδομένα**

Τα περισσότερα στελέχη που προέρχονται από το σκύλο και ταυτοποιούνται με τις βιοχημικές και τις άλλες παραδοσιακές μεθόδους ως *Staphylococcus intermedius* έχει βρεθεί ότι ανήκουν στο νέο είδος *Staphylococcus pseudintermedius* (Sasaki και συν., 2007). Είναι πλέον γεγονός ότι τα είδη *S.intermedius*, *S.pseudintermedius* και *S.delphini*, που ξεχωρίζουν σαφώς από γενοτυπική άποψη, συνιστούν ομάδα που ονομάστηκε *Staphylococcus intermedius* Group (SIG). Ωστόσο, στα στελέχη που προέρχονται από άλλα είδη ζώων και από τον άνθρωπο πρέπει οπωσδήποτε να γίνεται φυλογενετική ανάλυση των *sodA* και *hsp60* γονιδίων (Devriese και συν., 2009).

Σύμφωνα με νεότερα δεδομένα, ο *S.pseudintermedius* και όχι ο *S.intermedius* φαίνεται ότι είναι το συνηθέστερο αίτιο της πυώδους δερματίτιδας του σκύλου. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα ευρείας έρευνας έδειξαν ότι στην πλειονότητά τους οι σταφυλόκοκκοι που είχαν απομονωθεί από περιστατικά δερματίτιδας ανήκαν στον *S.pseudintermedius*. Εντύπωση προκαλεί και το γεγονός ότι ο *S.delphini* έχει απομονωθεί από διάφορα είδη ζώων ακόμα και από το γάλα αγελάδων με μαστίτιδα, γεγονός που πιθανότατα τον κατατάσσει στους παθογόνους σταφυλόκοκκους (Bannoehr και συν. το 2009).

Επειδή ήταν επιτακτική η ανάγκη ανάπτυξης μοριακής μεθόδου με την οποία να μπορούν να διακριθούν τα είδη της ομάδας SIG, οι Bannoehr και συν. (2009) ανέπτυξαν μια γρήγορη και οικονομική PCR-RFLP που βασίζεται στην ανίχνευση του *pta* γονιδίου (μοριακό βάρος: 320bp). Το γονίδιο αυτό στον *S.pseudintermedius* δίνει δύο ζώνες ύστερα από πέψη με την ενδονουκλεάση περιορισμού MboI, που έχουν μοριακό βάρος 213 και 107 bp. Στα υπόλοιπα είδη της ομάδας SIG, και συγκεκριμένα στα *S.intermedius*, S. *delphini*, αλλά και στον *S. schleiferi*, η συγκεκριμένη περιοχή δεν υπάρχει στο γονιδίωμά τους. Στα στελέχη, όμως, του *S. aureus* η περιοχή αυτή υπάρχει, αν και στην ηλεκτροφόρηση δίνει προϊόντα με μοριακό βάρος 156 bp και 164 bp.

Εφαρμόζοντας τη μέθοδο αυτή, 85 από τα 86 στελέχη (98.8%) που απομονώθηκαν από σκύλους ταυτοποιήθηκαν ως *S.pseudintermedius*. Ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα σε άλλα είδη ζώων (13/14 από γάτες, 3/3 από αλεπούδες, 1/1 από αρκούδα), ενώ σημαντική είναι η πρώτη αναφορά για απομόνωση του *S.pseudintermedius* από αγελάδα (Bannoehr και συν. το 2009).

Πρέπει, τέλος, να τονιστεί ότι ο *S.pseudintermedius* έχει απομονωθεί και από βαριές βακτηριδιακές λοιμώξεις ανθρώπων, ενώ υπάρχει κίνδυνος μετάδοσης των στελεχών του που είναι ανθεκτικά στη μεθικιλλίνη (MRSP). Ένα τέτοιο γεγονός θα τον έκανε ιδιαίτερα παθογόνο για ανθρώπους και ζώα με σοβαρές επιπτώσεις στη δημόσια υγεία (Bannoehr και συν. το 2009). ■

## REFERENCES - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ


Bannoehr, J., Franco A., Iurescia M., Battisti A., Fitzgerald R. 2009 Molecular diagnostic identification of Staphylococcus pseudintermedius. J.Clin.Microbiol.

Becker, K., C. von Eiff, B.Keller, M.Bruck, J.Etienne, and G.Peters. 2005. Thermonuclease gene as a target for specific identification of Staphylococcus intermedius isolates: use of a PCR-DNA enzyme immunoassay. Diagn. Microbiol.Infect.Dis. 51:237-244

Devriese L.A., Vancanneyt, M., Baele M., Vaneechoutte, M., De Graef, E., Snauwaert, I., Dawyndt, P., Swings, J., Decostrere, A., Haesebrouck F. (2005) Staphylococcus pseudintermedius sp. nov., a coagulase-positive species from animals. Int.J.Syst.Evol. Microbiol. 55, 1569-1573

Devriese L.A., Hermans K., Baele M., Haesebrouck F. (2009) Staphylococcus pseudintermedius versus Staphylococcus intermedius. Vet.Microbiol. 133: 206-207

Fox, G.E., J.D. Wisotzkey, and P.Jurtshuk, Jr. (1992). How close is close: 16S rRNA sequence identify may not be sufficient to guarantee species identify. Int.J.Syst.Bacteriol. 42:166-170

Freney, J., W.E.Kloos, V. Hajek and J.A.Webster (1999). Recommended minimal standards for description of new staphylococcal species. Int.J.Syst.Bacteriol. 49: 489-502

Gudding, R. 1983. Differentiation of staphylococci on the basis of nuclease properties. J.Clin. Microbiol.18:1098-1101

Hajek, V. (1976). Staphylococcus intermedius, a new species isolated from animals. Int.J.Syst.Bacteriol.26,401-408

Harvey, R.G., Lloyd D.H. (1994) The distribution of Staphylococcus intermedius and coagulase-negative staphylococci on the hair, skin surface, within the hair follicles and on the mucus membranes of dogs. Vet. Derm. 5:75-81

Hill, P.B., Moriello, K.A. (1994) Canine pyoderma. Journal of American Veterinary Association. 204:334-40

Ihrke, P.J., (1996) Bacterial skin disease in the dog: A guide to canine pyoderma. Newark, NJ: Veterinary Learning Systems. 97

Morris, D.O., Rook K.A., Shofer F.S., Rankin S.C. (2006). Screening of Staphylococcus aureus, Staphylococcus intermedius, and Staphylococcus schleiferi isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). Vet. Derm. 17: 332-337

Pinchbeck, L.R., Cole, L.K., Hillier, A., Kowalski, J.J., Rajala-Schultz, P.J., Bannerman, T.L., York, S., 2006 Genotypic relatedness of staphylococcal strains isolated from pustules and carriage sites in dogs with superficial bacterial folliculitis. Am J Vet Res. 8, 1337-1346

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R., 1994 Staphylococcus species. Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing, AZ, USA, pp.118-126

Sasaki, T.,Kikuchi, K., Tanaka Y., Takahashi, N., Katama, S., Hiramatsu, K., 2007 Reclassification of phenotypically identified Staphylococcus intermedius strains. J.Clin.Microbiol. 45,2770-2778

Scott, D.W., Miller, W.H., Griffin, C.E., 2001, Muller and Kirk's Small Animal Dermatology, 6th edn. Philadelphia: W.B. Saunders.

Takahashi, T., I.Satoh and N Nikuchi. 1999. Phylogenetic relationships of 38 taxa of the genus Staphylococcus based 16S rRNA gene sequence analysis. Int.J.Syst.Bacteriol. 49:725-728

van Hoovels,L., Vankeerberghen, A., Boel, A., Van Vaerenbergh, K, De Beenhouwer, H.,2006. First case of Staphylococcus pseudintermedius infection in a human. J.Clin.Microbiol. 44, 4608-4612

Varado,P.E., R.Kilpper-Balz, F.Biavaasco, G.Satta, and K.H.Schleifer. 1988. Staphylococcus delphini sp.nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. Int.J.Syst.Bacteriol. 38: 436-439