

## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 53, No 4 (2002)



### Antibiotic resistance of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from 53 natural cases of canine pyoderma

M. N. SARIDOMICHELAKIS (Μ. Ν. ΣΑΡΙΔΟΜΙΧΕΛΑΚΗΣ), A. F. KOUTINAS (Α.Φ. ΚΟΥΤΙΝΑΣ), N. HELIADIS (Ν. ΗΛΙΑΔΗΣ), I. GEORGOPOULOU (Ι. ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΥ), L. LEONTIDES (Λ. ΛΕΟΝΤΙΔΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15388](https://doi.org/10.12681/jhvms.15388)

Copyright © 2018, MN SARIDOMICHELAKIS, AF KOUTINAS, N HELIADIS, I GEORGOPOULOU, L LEONTIDES



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

#### To cite this article:

SARIDOMICHELAKIS (Μ. Ν. ΣΑΡΙΔΟΜΙΧΕΛΑΚΗΣ) Μ. Ν., ΚΟΥΤΙΝΑΣ (Α.Φ. ΚΟΥΤΙΝΑΣ) Α. Φ., ΗΛΙΑΔΗΣ (Ν. ΗΛΙΑΔΗΣ) Ν., ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΥ (Ι. ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΥ) Ι., & ΛΕΟΝΤΙΔΗΣ (Λ. ΛΕΟΝΤΙΔΗΣ) Λ. (2018). Antibiotic resistance of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from 53 natural cases of canine pyoderma. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 53(4), 325–334. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15388>

## Αντιβιοαντοχή των στελεχών του *Staphylococcus intermedius* που απομονώθηκαν από 53 σκύλους με πυώδη δερματίτιδα

Μ.Ν. Σαριδομιχελάκης<sup>1</sup>, Α.Φ. Κουτίνας<sup>1</sup>,  
Ν. Ηλιάδης<sup>2</sup>, Ι. Γεωργοπούλου<sup>3</sup>, Λ. Λεοντίδης<sup>4</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 53 σκύλοι με επιπολής (n=17) ή εν τω βάθει (n=36) βακτηριδιακή δερματίτιδα, η διάγνωση της οποίας στηρίχθηκε στη μορφολογία των μακροσκοπικών αλλοιώσεων και επιβεβαιώθηκε με την κυτταρολογική εξέταση. Σε κανένα από τα ζώα αυτά δεν είχαν χορηγηθεί αντιβιοτικά στη διάρκεια του τελευταίου πριν από τη δειγματοληψία μήνα. Από το πυώδες εξίδρωμα των δερματικών αλλοιώσεων, αρχικά γινόταν καλλιέργεια σε αιματούχο άγαρ για την απομόνωση του σταφυλόκοκκου και στη συνέχεια η εξέταση των βιοχημικών ιδιοτήτων για την ταυτοποίηση του είδους, και ο έλεγχος της ευαισθησίας των στελεχών απέναντι σε 12 διαφορετικά αντιβιοτικά. Και από τους 53 σκύλους απομονώθηκε ο *S. intermedius*, η ανθεκτικότητα του οποίου ήταν 0% για την αμοξυκιλίνη/κλαβουλανικό οξύ, 11,3% για την οξακιλίνη, 7,5% για την κεφαλεξίνη, 5,7% για την ενροφλοξασίνη, 32,1% για την ερυθρομυκίνη, 11,3% για την τυλοζίνη, 20,8% για τη λινκομυκίνη, 18,9% για την κλινδαμυκίνη, 32,1% για τη δοξυκυκλίνη, 5,7% για την αμικασίνη, 7,5% για τη χλωραμφενικόλη και 92,5% για το συνδυασμό τριμεθοπρίμης/σουλφαμεθοξαζόλης. Μεταξύ της ανθεκτικότητας του *S. intermedius* στα παραπάνω αντιβιοτικά και της ηλικίας, της φυλής, του φύλου και των συνθηκών διαβίωσης των σκύλων, του βάθους της λοίμωξης (επιπολής ή εν τω βάθει), της ύπαρξης ή όχι υποκείμενων αιτίων και της τυχόν συστηματικής αντιβιοθεραπείας στη διάρκεια του τελευταίου χρόνου, δε διαπιστώθηκε κανένας συσχετισμός.

**Λέξεις ευρετηρίασης:** *Staphylococcus intermedius*, σκύλος, βακτηριδιακή δερματίτιδα, αντιβιοαντοχή.

## Antibiotic resistance of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from 53 natural cases of canine pyoderma

Saridomichelakis M.N.<sup>1</sup>, Koutinas A.F.<sup>1</sup>,  
Heliadis N.<sup>2</sup>, Georgopoulou I.<sup>3</sup>, Leontides L.<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Samples for bacterial cultures on blood agar were obtained from the skin lesions of 53 dogs demonstrating the typical clinical and cytological features of superficial (n=17) or deep (n=36) pyoderma. None of them had received any kind of antimicrobial therapy within the previous month. The *Staphylococcus* looking colonies were recultured on blood and Chapman agar for staphylococcal species identification and biotyping. All 53 coagulase-positive staphylococcal isolates were eventually identified as *S. intermedius*. The susceptibility for each of these isolates was tested against 12 different antibiotics with the disc diffusion method. Resistance rates were found to be 0% for amoxicillin/clavulanate, 11.3% for oxacillin, 7.5% for cefalexin, 5.7% for enrofloxacin, 32.1% for erythromycin, 11.3% for tylosin, 20.8% for lincomycin, 18.9% for clindamycin, 32.1% for doxycycline, 5.7% for ampicillin, 7.5% for chloramphenicol and 92.5% for trimethoprim/sulfamethoxazole. No correlation between the resistance pattern and either the age, breed, sex, and the animals' lifestyle, or the depth of skin infection, the presence or not of underlying diseases and any past treatment with antibiotics was identified.

**Key words:** *Staphylococcus intermedius*, dog, pyoderma, antibiotic resistance.

<sup>1</sup> Κλινική Παθολογίας Ζώων Συντροφιάς, Τμήμα Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

<sup>2</sup> Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

<sup>3</sup> Κλινική Παθολογίας Πτηνών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

<sup>4</sup> Εργαστήριο Βιοστατιστικής, Επιδημιολογίας και Οικονομίας Ζωικής Παραγωγής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>1</sup> Clinic of Companion Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotles University of Thessaloniki

<sup>2</sup> Department of Microbiology and Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotles University of Thessaloniki

<sup>3</sup> Clinic of Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotles University of Thessaloniki

<sup>4</sup> Laboratory of Biostatistics, Epidemiology and Economics of Animal Production, School of Veterinary Medicine, University of Thessaly



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στη σταφυλοκοκκική δερματίτιδα, που θεωρείται η συχότερη δερματοπάθεια του σκύλου (Ihrke 1987, Mason 1991), το υπεύθυνο βακτηρίδιο είναι ο *Staphylococcus intermedius*, ενώ οι θετικοί στην πηκτάση *S. aureus* και *S. hyicus* απομονώνονται περιστασιακά ή σπάνια (Lloyd και συν 1996, Holm και συν 1997). Η σημασία των αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων, που απομονώνονται από ορισμένα περιστατικά πυώδους δερματίτιδας, δεν έχει διεκρινιστεί μέχρι σήμερα (Noli και συν 1995).

Αν και γενικά υποστηρίζεται ότι η ευαισθησία του *S. intermedius* στα διάφορα αντιβιοτικά δεν έχει ουσιαστικά μεταβληθεί στη διάρκεια των τελευταίων 20 χρόνων (Scott και συν 2001), πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι τα στελέχη που απομονώνονται από τις πυώδεις δερματίτιδες σε σκύλους γίνονται ολοένα και ανθεκτικότερα (DeBoer 1997, Pellerin και συν 1997). Η αντιβιοαντοχή στον *S. intermedius* επιτυγχάνεται προοδευτικά, μέσω χρωμοσωματικών μεταβολών και συνήθως έχει παροδικό χαρακτήρα (Ihrke 1996, Mason 2001). Δεν συμβαίνει όμως το ίδιο με τους *S. aureus* και *S. hyicus*, όπου οι πιθανότητες εμφάνισης αντιβιοαντοχής μέσω πλασμιδίων είναι αυξημένες (Lloyd 1995). Η ανθεκτικότητα στα διάφορα αντιβιοτικά μπορεί εξάλλου να μεταδοθεί μεταξύ των διαφόρων ειδών του σταφυλόκοκκου (Naidoo και Lloyd 1984), ενώ παράλληλα η μετάδοση αυτή είναι δυνατή από το σκύλο στον άνθρωπο, ύστερα από επαφή (DeSaxe και Lloyd 1982, Hoie και Fossum 1989, Harvey και συν 1994). Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να έχει αρνητική επίπτωση στη δημόσια υγεία (Lloyd και συν 1996).

Επειδή στη χώρα μας γίνεται αλόγιστη χρήση των εγκεκριμένων και μη εγκεκριμένων αντιβιοτικών για το σκύλο στην πράξη, ο βασικός σκοπός της μελέτης ήταν η διαπίστωση τυχόν ανθεκτικότητάς του ή των σταφυλοκόκκων απέναντι σε διάφορα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται συχνά (αμοξυκιλλίνη/κλαβουλανικό οξύ, κεφαλεξίνη, ενροφλοξασίνη, κλινδαμυκίνη, τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη), ή σπάνια (οξακιλλίνη, ερυθρομυκίνη, λινκομυκίνη, χλωραμφενικόλη) σε περιστατικά πυώδους δερματίτιδας στο σκύλο. Η έρευνα αυτή επεκτάθηκε και σε αντιβιοτικά όπως η τυλοζίνη, η δοξυκυκλίνη και η αμικασίνη, για τα οποία δεν υπάρχει επαρκής επιστημονική τεκμηρίωση. Επιπλέον, ελέγχθηκε η πιθανότητα επίδρασης της ηλικίας, της φυλής, του φύλου, των συνθηκών διαβίωσης, του βάθους της λοίμωξης (επιπολής, εν τω βάθει), της ύπαρξης ή όχι υποκείμενου αιτίου και της τυχόν συστηματικής αντιβιοθεραπείας στο παρελθόν, πάνω στην εμφάνιση αντιβιοαντοχής. Απ' ό,τι γνωρίζουμε, πρόκειται για την πρώτη τέτοιου είδους μελέτη που έχει γίνει ποτέ στην Ελλάδα.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### Ζώα, δειγματοληψία και καλλιέργειες

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 53 σκύλοι που παρουσίαζαν πυώδη δερματίτιδα. Τα ζώα προσκομίστηκαν στην Κλινική Παθολογίας Ζώων Συντροφιάς, από τον Ιούνιο 1999 μέχρι και το Φεβρουάριο 2001,

## INTRODUCTION

In staphylococcal pyoderma, perhaps the most common skin disorder in the dog (Ihrke 1987, Mason 1991), *Staphylococcus intermedius* is the main offender, with the coagulase-positive *S. aureus* and *S. hyicus* secondarily incriminated (Lloyd et al 1996, Holm et al 1997). The pathogenic role of coagulase-negative staphylococcal species still remains speculative (Noli et al 1995).

Despite the general belief that the susceptibility patterns of *S. intermedius* have not been substantially changed over the last two decades (Scott et al 2001), recent information indicates that isolates from canine pyoderma cases are becoming ever resistant (DeBoer 1997, Pellerin et al 1997). The bacterium rarely processes plasmids associated with antibiotic resistance (Noble and Kent 1992), but it may acquire it by the slow process of chromosomal mutation, though transiently (Ihrke 1996, Mason 2001). With infections due to *S. aureus* and *S. hyicus* the level of plasmid-mediated resistance to various antibiotics is higher (Lloyd 1995). Since transmission of antibiotic resistance between staphylococci (Naidoo and Lloyd 1984), as well as that between humans and dogs through direct contact (DeSaxe and Lloyd 1982, Hoie and Fossum 1989, Harvey et al 1994) do occur, public health officials should be in alert (Lloyd et al 1996).

Since in our area, the antibiotics, either licensed or not for dogs, are usually overused, the present study was mainly undertaken to determine the resistance to various antimicrobials, that are commonly (amoxicilline/clavulanate, cefalexin, enrofloxacin, clindamycin, trimethoprim/sulfamethoxazole), or uncommonly (oxacillin, erythromycin, lincomycin, chloramphenicol) used in canine pyoderma, at least in this country. The susceptibility of staphylococcal isolates to tylosin, doxycycline and ampicillin, hardly been investigated, was an additional purpose of this study. The possible influence of the age, breed, sex and the animals' lifestyle, as well as the depth of skin infection, the presence or not of underlying diseases and the previous systemic antibiotic therapy on the resistance of our staphylococcal isolates was also determined. To our knowledge, this is the first attempt to investigate the antibiotic resistance of staphylococcal species isolated from canine pyoderma cases in Greece.

## MATERIALS AND METHODS

### Case material, sampling and bacterial cultures

Specimens were obtained from the skin lesions of 53 dogs with pyoderma. These animals had been admitted to the Clinic of Companion Animal Medicine, Aristotles University of Thessaloniki, between June 1999 and February 2001, for various dermatological or internal medical problems. The dogs' age ranged from 2 months to 14 years (median: 3.5 years) and they represented 15 pure breeds (31/53-58.5%), or were crossbreeds (11/53-20.8%) and mongrels (11/53-20.8%). Regarding their sex, 29



για διάφορες δερματοπάθειες ή για άλλες παθολογικές καταστάσεις. Η ηλικία τους κυμαινόταν από 2 μήνες μέχρι 14 χρόνια (διάμεσος: 3,5 χρόνια) και ανήκαν σε 15 αμιγείς φυλές (31/53-58,5%), ή ήταν μιγάδες (11/53-20,8%) και ακαθόριστης γενεάς (11/53-20,8%). Οι 29 (54,7%) σκύλοι ήταν αρσενικού και οι 24 (45,3%) θηλυκού γένους και ζούσαν αποκλειστικά μέσα στο σπίτι (25/53-47,2%) ή σε εξωτερικούς χώρους (28/53-52,8%). Η πυώδης δερματίτιδα ήταν επιπολής σε 17 (32,1%) περιστατικά (θυλακίτιδα, φλυκταινώδης δερματίτιδα) και εν τω βάθει (εν τω βάθει θυλακίτιδα-δοθηνίωση, υποδερματίτιδα) στα υπόλοιπα 36 (67,9%). Στα περισσότερα ζώα (27/53-50,9%) η δερματίτιδα αυτή ήταν δευτερογενής σε άλλες δερματοπάθειες, όπως η δευτερογενής (10/27), οι αλλεργικές δερματίτιδες (5/27), το μολυσματικό κηρίο (3/27), η λεισημανίωση (2/27), η φυλλώδης πέμφιγα (2/27), η σαρκοπτική ψώρα, η σημηγματαδενίτιδα, η ερεθιστική από επαφή δερματίτιδα, ο υποθυρεοειδισμός και τα βαθιά τραύματα (από ένα περιστατικό η καθεμία). Σε 8/53 (15,1%) περιστατικά η πυώδης δερματίτιδα θεωρήθηκε πρωτογενής, αφού παρά την εκτεταμένη έρευνα, δε βρέθηκε κάποιο υποκείμενο αίτιο. Τέλος, σε 18/53 (34%) σκύλους τα πιθανά υποκείμενα αίτια παρέμειναν άγνωστα επειδή οι ιδιοκτήτες δεν επέτρεψαν να γίνουν όλες οι απαραίτητες εξετάσεις. Και στα 53 πάντως περιστατικά η κλινική διάγνωση της πυώδους δερματίτιδας επιβεβαιώθηκε με την ανεύρεση φαγοκυτταρωμένων κόκκων και εκφυλισμένων ουδετερόφιλων στην κυτταρολογική εξέταση επιχρισμάτων από το πυώδες εξίδρωμα των δερματικών αλλοιώσεων. Σε κανένα από τους σκύλους δεν είχαν χορηγηθεί αντιβιοτικά τουλάχιστο κατά τη διάρκεια του τελευταίου πριν από τη δειγματοληψία μήνα. Αντίθετα, σε συνολικά εννέα σκύλους χορηγήθηκαν αντιβιοτικά από το στόμα κατά τη διάρκεια του τελευταίου χρόνου, που ήταν γνωστά μόνο για τους έξι από αυτούς και περιλάμβαναν την κεφαλεξίνη, την αμοξυκιλλίνη/κλαβουλανικό οξύ, την κεφαδροξίλη, την κλινδαμυκίνη, την ενροφλοξασίνη και την τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη (για ένα περιστατικό το καθένα).

Τα δείγματα πάρηταν με αποστειρωμένο βαμβακοφόρο σπειρό (Eurotubo®, Spain) από ακέραιες φλύκταινες (επιπολής δερματίτιδα) ή από ακέραιες φλύκταινες, δοθηνίνες και συρίγγια (εν τω βάθει δερματίτιδα), ύστερα από κούρεμα του τριχώματος και επιφανειακή αντισηψία των αλλοιώσεων με οινόπνευμα 70°. Το εξίδρωμα στεγνόταν στην επιφάνεια αιματούχου άγαρ με 7% άσηπτο απινωδογονώμενο αίμα προβάτου, και επωάζονταν στη συνέχεια στους 37°C για 24-48 ώρες. Από μια ύποπτη για *Staphylococcus* sp. αποικία, διαμέτρου μέχρι 4 mm, γινόταν ανακαλλιέργεια σε αιματούχο άγαρ και υπόστρωμα Chapman. Η ταυτοποίηση του *Staphylococcus* sp. στηρίχθηκε στη μικροσκοπική εξέταση, ύστερα από κατά Gram χρώση, στη δοκιμή της καταλάσης και τη δοκιμή της πηκτάσης με πλάσμα κουνελιού, ενώ για την ταυτοποίηση του είδους ακολουθήθηκε η μεθοδολογία των Quinn και συν (1994). Δεν καταβλήθηκε προσπάθεια για την ταυτοποίηση άλλων ειδών βακτηριδίων, που ενδεχομένως συνυπήρχαν.

(54,7%) were intact males and 24 (45,3%) intact females, with an indoors (25/53-47,2%) or outdoors (28/53-52,8%) lifestyle. Seventeen dogs (32,1%) had superficial pyoderma (folliculitis, impetigo) and 36 (67,9%) deep pyoderma (deep folliculitis-furunculosis, cellulitis). In most of the cases (27/53-50,9%) the pyoderma appeared secondarily to other skin diseases, such as demodicosis (10/27), allergies (5/27), dermatophytosis kerion (3/27), leishmaniosis (2/27), pemphigus foliaceus (2/27), sarcoptic mange, sebaceous adenitis, irritant contact dermatitis, hypothyroidism and deep trauma (one case each). In 8/53 (15,1%) dogs the pyoderma was felt to be primary, since no underlying disease could be found despite the extensive work-up, while in 18/53 (34%) cases the possibility for an underlying disease still remains, because the owners refused an in-depth diagnostic investigation. For every single dog the clinical diagnosis of pyoderma was confirmed by exudate cytology (phagocytosed cocci, degenerated neutrophils). Only dogs which had not received any kind of antimicrobial therapy within the previous month, were included in the study. However, a total of 9 dogs had been treated with cefalexin, amoxicillin / clavulanate, cefadroxil, clindamycin, enrofloxacin and trimethoprim / sulfamethoxazole (one, each) during the last year, whereas for the remaining three animals no such information could be obtained.

All the samples were taken with sterile swabs (Eurotubo®, Spain) from intact pustules (superficial pyodermas) and intact pustules, furuncles or fistulous tracts (deep pyodermas), after clipping away the local haircoat and disinfecting the lesional skin with 70° alcohol. The swabs were streaked onto blood agar plates, enriched with 7% sterile defibrinated sheep blood, and incubated at 37°C for 24 to 48 h. The *Staphylococcus*-looking colonies, measuring up to 4mm in diameter, were further cultured on blood and Chapman agar. The staphylococcal species were identified on the basis of gram stain, catalase reaction and coagulase tube test and were further biotyped according to Quinn et al (1994). No attempt was made to isolate concomitant bacterial species, if any.

### Susceptibility tests

These tests were carried out on Mueller-Hinton agar incubated at 37°C for 18h (Bauer et al 1966). Discs (bio-Merieux, sa, France) containing amoxicillin/ clavulanate (30 µg), oxacillin (1 µg), cefalexin (30 µg), enrofloxacin (5 µg), erythromycin (15 µg), tylosin (30 µg), lincomycin (2 µg), clindamycin (2 µg), doxycycline (30 µg), ampicillin (30 µg), chloramphenicol (30 µg) and trimethoprim/sulfamethoxazole (25 µg) were used. Growth inhibitory zone diameters were measured and scored, as susceptible, intermediate or resistant, according to the manufacturer's guidelines. For statistical purposes the intermediate category was combined with the resistant.

### Statistical analysis

Staphylococcal resistance patterns to every single



### Δοκιμή ευαισθησίας στα διάφορα αντιβιοτικά

Η δοκιμή αυτή έγινε σε άγαρ Mueller-Hinton ύστερα από επώαση στους 37°C για 18 ώρες (Bauer και συν 1966). Χρησιμοποιήθηκαν δισκία (bioMerieux, sa, France) που περιείχαν αμοξικιλίνη/κλαβουλανικό οξύ (30 µg), οξακιλλίνη (1 µg), κεφαλεξίνη (30 µg), ενροφλοξασίνη (5 µg), ερυθρομυκίνη (15 µg), τυλοζίνη (30 µg), λινκομυκίνη (2 µg), κλινδαμυκίνη (2 µg), δοξκυκλίνη (30 µg), αμικασίνη (30 µg), χλωραμφενικόλη (30 µg) και τριμεθοπρίμη/σουλφαιμεθοξαζόλη (25 µg). Μετά τη μέτρηση της διαμέτρου της ζώνης αναστολής, οι σταφυλόκοκκοι κατατάχθηκαν ως ευαίσθητοι, ενδιάμεσοι ευαισθησίας και ανθεκτικοί, σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας. Για την αύξηση της ισχύος των στατιστικών δοκιμών, η δεύτερη κατηγορία ενοποιήθηκε με την τρίτη.

### Στατιστική επεξεργασία

Η κατανομή της ανθεκτικότητας των σταφυλόκοκκων σε καθένα από τα αντιβιοτικά καθώς και των διαφόρων στοιχείων των ζώων αρχικά περιγράφηκαν με τη βοήθεια του λογισμικού SAS έκδοση 8e (Statistical Analysis Systems 2000). Ακολούθως ελέγχθηκε η στατιστική σημαντικότητα των πιθανών συσχετισμών μεταξύ της αντιβιοαντοχής και της ηλικίας, της φυλής, του φύλου και των συνθηκών διαβίωσης των σκύλων, του βάθους της λοίμωξης (επιπολής, εν τω βάθει), της ύπαρξης ή όχι υποκείμενου αιτίου (δευτερογενής, πρωτογενής) και της τυχόν προηγούμενης συστηματικής αντιβιοθεραπείας ελέγχθηκε σε πολυπαραγοντικά μοντέλα λογιστικής ανάλυσης παλινδρόμησης στο λογισμικό SAS PROC LOGISTIC. Οι μεταβλητές κάθε αρχικού πολυπαραγοντικού μοντέλου ελαττώνονταν με μια βήμα προς βήμα προσέγγιση (προς τα πίσω απομάκρυνση μίας μεταβλητής ακολουθούμενη από την προς τα εμπρός επιλογή των μεταβλητών εκείνων που είχαν απομακρυνθεί σε προηγούμενα βήματα), με βάση, σε κάθε βήμα, τα αποτελέσματα της δοκιμής του λόγου μέγιστης πιθανοφάνειας. Η βήμα προς βήμα ελάττωση του μοντέλου σταματούσε όταν μεταβλητές που απέμεναν ήταν σημαντικές στο επίπεδο σημαντικότητας 5%. Η στατιστική κατασκευή των πολυπαραγοντικών μοντέλων λογιστικής ανάλυσης παλινδρόμησης ήταν αυτή που προτάθηκε από τους Hosmer και Lemeshow (1989).

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά απομονώθηκαν 53 θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι που ταυτοποιήθηκαν ως *S. intermedius*. Στον Πίνακα 1 φαίνονται τα αποτελέσματα της δοκιμής ευαισθησίας των στελεχών αυτών στα διάφορα αντιβιοτικά. Δε διαπιστώθηκε συσχετισμός μεταξύ της αντιβιοαντοχής του *S. intermedius* και της ηλικίας, της φυλής, του φύλου και των συνθηκών διαβίωσης των σκύλων, του βάθους της λοίμωξης (επιπολής, εν τω βάθει), της ύπαρξης ή όχι υποκείμενου αιτίου και της τυχόν προηγούμενης συστηματικής αντιβιοθεραπείας.

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μέχρι σήμερα από τον άνθρωπο και τα διάφορα είδη

antibiotic and the host factors were initially described in SAS ver 8e (Statistical Analysis Systems 2000). Subsequently, the possible associations between the resistance and the age, breed, sex animals' lifestyle, depth of pyoderma, presence or absence of underlying diseases and the administration of systemic antibiotics during the last year, were tested for significance in multivariable logistic regression models in SAS PROC LOGISTIC. The initial multivariable models were reduced in a stepwise approach (backward elimination of a variable followed by a test for forward selection of variables eliminated at previous steps) by employing a likelihood ratio test at each step. Model reduction was terminated when variables in the model were significant at  $P \leq 0.05$  after applying the model-building strategy suggested by Hosmer and Lemeshow (1989).

### RESULTS

A total of 53 coagulase-positive staphylococcal isolates were obtained from an equal number of dogs and all were identified as *S. intermedius*. The results of the antibiogram to these isolates are shown on Table 1. No correlation between the staphylococcal resistance to the antibiotics tested and the age, breed, sex, animals' lifestyle, depth of the infection, presence or absence of underlying diseases or the previous administration of systemic antibiotics was identified.

### DISCUSSION

At least 10 coagulase-negative staphylococcal species, two coagulase-positive species (*S. intermedius* and *S. aureus*) and one coagulase-instable species (*S. hyicus*) have been isolated from both humans and animals (Kloos 1980, Kloos and Wolfshohl 1982). In the dog, at least some strains of *S. intermedius* belong to the resident flora of the skin, because they are frequently isolated from the hair coat and skin of normal animals (Scott et al 2001). This organism appears to be acquired from the dam during the early neonatal period (Allaker et al 1992, Saijonmaa-Kouloumies and Lloyd 2002).

The primary pathogen of canine pyoderma is *S. intermedius*, having been isolated from 68.9 to 100% of the cases (Pedersen Morner et al 1996, Saijonmaa-Kouloumies and Lloyd 1996, Holm et al 1997, Bourdeau 1998, Bourdeau and Blumstein 1998), as the results of our study have also shown. That was not the case for *S. aureus*, recovered from up to 10% of pyoderma cases (Harvey and Noble 1994) and of course for the much less prevalent *S. hyicus* (Medleau et al 1986, Lloyd 1995, Saijonmaa-Kouloumies and Lloyd 1996). This fact could be explained by the relatively small number of dogs sampled or the different distribution of the coagulase-positive staphylococcal species in canine pyoderma worldwide (Scott et al 2001).

The standard disk diffusion assay, that was used in the antibiograms, should be in accordance with the MIC of the



ζώων έχουν απομονωθεί τουλάχιστο 10 είδη αρνητικών στην πηκτάση σταφυλοκόκκων, δύο είδη θετικών στην πηκτάση (*S. intermedius* και *S. aureus*) και ένα είδος που άλλοτε παράγει πηκτάση και άλλοτε όχι (*S. hyicus*) (Kloos 1980, Kloos και Wolfshohl 1982). Σήμερα είναι γνωστό ότι ορισμένα τουλάχιστο στελέχη του *S. intermedius*, ανήκουν στη μικροβιακή χλωρίδα του δέρματος του σκύλου, αφού απομονώνονται ιδιαίτερα συχνά από το τρίχωμα και το δέρμα των υγιών ζώων (Scott και συν 2001). Το βακτηριότιδο αυτό φαίνεται ότι μεταδίδεται από τη σκύλα στα κουτάβια της λίγο μετά τη γέννησή τους (Allaker και συν 1992, Saijonmaa-Koulumies και Lloyd 2002).

*O. S. intermedius* είναι ο συχνότερα απομονούμενος μικροοργανισμός από τις αλλοιώσεις της πυώδους δερματίτιδας του σκύλου, σε ποσοστά που κυμαίνονται από 68,9 ως 100% (Pedersen Morner και συν 1996, Saijonmaa-Koulumies και Lloyd 1996, Holm και συν 1997, Bourdeau 1998, Bourdeau και Blumstein 1998), όπως άλλωστε και στη δική μας έρευνα. Δεν απομονώθηκαν ο *S. aureus*, που έχει βρεθεί σε ποσοστό μέχρι και 10% (Harvey και Noble 1994) και ο ακόμα σπανιότερος *S. hyicus* (Medleau και συν 1986, Lloyd 1995, Saijonmaa-Koulumies και Lloyd 1996). Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στο σχετικά μικρό αριθμό των δειγμάτων, αν και είναι γνωστό ότι η συχνότητα με την οποία απομονώνονται οι τρεις αυτοί θετικοί στην πηκτάση σταφυλόκοκκοι από τους σκύλους με πυώδη δερματίτιδα διαφέρει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων χωρών (Scott και συν 2001).

Τα αποτελέσματα της δοκιμής διάχυσης από δισκία, που χρησιμοποιήθηκε για τα αντιβιογράμματα, πρέπει να συνδέονται άμεσα με την ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής (MIC) των διάφορων βακτηριδίων (Bauer και συν 1966, Barry και Thorsnberry 1980). Για το σκοπό αυτό ακολουθήθηκαν πιστά οι σχετικές οδηγίες για τη σωστή εκτίμηση των αποτελεσμάτων (Hirsh και Ruehl 1984). Βέβαια, η αξία του *in vitro* ελέγχου της αντιβιοαντοχής ενός θετικού στην πηκτάση στελέχους του σταφυλοκόκκου αμφισβητείται, αφού στην πραγματικότητα περισσότερα από ένα στελέχη ή ακόμα και είδη, με διαφορετική ευαισθησία στα αντιβιοτικά, μπορεί να ευθύνονται για την πυώδη δερματίτιδα (Wegener και Pedersen 1992, Saijonmaa-Koulumies και Lloyd 1996, Scott και συν 2001). Επιπλέον, τα *in vitro* αποτελέσματα δε συμβαδίζουν πάντα με την *in vivo* αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου αντιβιοτικού, αφού στηρίζονται στη συγκέντρωσή του στον ορό του αίματος και όχι στο δέρμα (DeManuelle 2000, Scott και συν 2001).

Στα περισσότερα περιστατικά πυώδους δερματίτιδας η επιλογή του αντιβιοτικού γίνεται εμπειρικά (Ihrke 1984, Noli 1998, Scott και συν 2001). Όμως το αντιβιογράμμα κρίνεται απαραίτητο στις μικτές λοιμώξεις όταν διαπιστώνονται φαγοκυτταρωμένοι κόκκοι και βάκιλλοι, η εμπειρική αντιβιοθεραπεία αποτυγχάνει, τα περιστατικά υποτροπιάζουν ή η λοίμωξη είναι εν τω βάθει (Ihrke 1984, Noli 1998, Harvey και Hunter 1999, Scott και συν 2001). Η επιλογή των αντιβιοτικών στηρίχθηκε όχι μόνο στην ευ-

**Πίνακας 1.** Ανθεκτικότητα των στελεχών του *Staphylococcus intermedius* που απομονώθηκαν από 53 σκύλους με επιπολής ή εν τω βάθει πυώδη δερματίτιδα σε 12 «δερμοτρόπα» αντιβιοτικά.

Αντιβιοτικά	Σύνολο ζώων (n=53)	Ζώα με επιπολής πυώδη δερματίτιδα (n=17)	Ζώα με εν τω βάθει πυώδη δερματίτιδα (n=36)
Αμοξικιλίνη/ κλαβουλανικό οξύ	0 (0)*	0 (0)	0 (0)
Οξακιλλίνη	6 (11.3)	2 (11.8)	4 (23.5)
Κεφαλεξίνη	4 (7.5)	2 (11.8)	2 (5.5)
Ενροφλοξασίνη	3 (5.7)	2 (11.8)	1 (2.8)
Ερυθρομυκίνη	17 (32.1)	7 (41.2)	10 (27.8)
Τυλοζίνη	6 (11.3)	3 (17.6)	3 (8.3)
Λινκομυκίνη	11 (20.8)	6 (35.3)	5 (13.9)
Κλινδαμυκίνη	10 (18.9)	5 (29.4)	5 (13.9)
Δοξυκυκλίνη	17 (32.1)	8 (47.1)	9 (25)
Αμικασίνη	3 (5.7)	1 (5.9)	2 (5.5)
Χλωραμφενικόλη	4 (7.5)	2 (11.8)	2 (5.5)
Τριμεθοπρίμη/ σουλφामεθοξαζόλη	49 (92.5)	16 (94.1)	33 (91.7)

\* Απόλυτος αριθμός και εκατοστιαία αναλογία μέσα στην παρένθεση

**Table 1.** Resistance of *Staphylococcus intermedius* isolates, obtained from 53 dogs with superficial or deep pyoderma, to various antibiotics.

Antibiotics	Total (n=53)	Superficial pyoderma (n=17)	Deep pyoderma (n=36)
Amoxicillin/clavulanate	0 (0)*	0 (0)	0 (0)
Oxacillin	6 (11.3)	2 (11.8)	4 (23.5)
Cefalexin	4 (7.5)	2 (11.8)	2 (5.5)
Enrofloxacin	3 (5.7)	2 (11.8)	1 (2.8)
Erythromycin	17 (32.1)	7 (41.2)	10 (27.8)
Tylosin	6 (11.3)	3 (17.6)	3 (8.3)
Lincomycin	11 (20.8)	6 (35.3)	5 (13.9)
Clindamycin	10 (18.9)	5 (29.4)	5 (13.9)
Doxycycline	17 (32.1)	8 (47.1)	9 (25)
Amicacin	3 (5.7)	1 (5.9)	2 (5.5)
Chloramphenicol	4 (7.5)	2 (11.8)	2 (5.5)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	49 (92.5)	16 (94.1)	33 (91.7)

\* Absolute number and percentage in parentheses

isolates (Bauer et al 1966, Barry and Thorsnberry 1980). To meet this point, the strict guidelines of the accompanying chart, developed for this assay, were followed (Hirsh and Ruehl 1984). Nevertheless, the value of antimicrobial susceptibility testing based on single isolates of coagulase-positive staphylococci has been questioned,



ούτατη χρησιμοποίησή τους στην κτηνιατρική δερματολογία (Scott και συν 2001), αλλά και στο γεγονός ότι θεωρούνται πρώτης εκλογής για την επιτολής (ερυθρομυκίνη, τυλοζίνη, λινκομυκίνη, κλινδαμυκίνη, χλωραμφενικόλη, τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη), την εν τω βάθει και την υποτροπιάζουσα πυώδη δερματίτιδα (αμοξυκιλλίνη/κλαβουλανικό οξύ, οξακιλλίνη, κεφαλεξίνη) καθώς και για τις μικτές λοιμώξεις του δέρματος από κόκκους και βακίλλους (ενροφλοξασίνη, αμικασίνη) (Noli 1998, Noli και Boothe 1999). Η δοξυκυκλίνη συμπεριλήφθηκε όχι επειδή θεωρείται αντιβιοτικό εκλογής στην πυώδη δερματίτιδα (Bettenay και συν 1994), αλλά επειδή χρησιμοποιείται ευρύτατα στη θεραπεία της μονοκυτταρικής ερλιχίωσης του σκύλου (*Ehrlichia canis*) που είναι ιδιαίτερα συχνή στη χώρα μας. Επισημαίνεται ότι η τελευταία ενδέχεται να προδιαθέτει στην εγκατάσταση της εν τω βάθει πυώδους δερματίτιδας (Cerundolo και συν 1998). Στην παρούσα μελέτη δε χρησιμοποιήθηκαν τα αντιβιοτικά εκείνα που, αν και χορηγούνται συχνά στην κλινική πράξη, είναι ευαίσθητα στις β-λακταμάσες (π.χ. πενικιλίνη, αμπικιλίνη, αμοξυκιλλίνη), δεν επιτυγχάνουν ικανοποιητικές συγκεντρώσεις στο δέρμα ή προκαλούν γρήγορα την εμφάνιση αντιβιοαντοχής (π.χ. στρεπτομυκίνη, οξυτετρακυκλίνη, σουλφοναμίδες) (Noli και συν 1995, Reedy 1995).

Στη δική μας μελέτη, όπως εξάλλου και σε προηγούμενες που έγιναν στη Δανία (Wegener και Pedersen 1992, Pedersen και Wegener 1995), τη Γερμανία (Stegemann και συν 1996) και τις ΗΠΑ (Cox και συν 1984, Roy και συν 1984, Frank και Kunkle 1993) δε διαπιστώθηκε ανθεκτικότητα του *S. intermedius* στο συνδυασμό αμοξυκιλλίνης/κλαβουλανικού οξέος. Αντίθετα, το μεγαλύτερο ποσοστό αντιβιοαντοχής στον παραπάνω συνδυασμό (17%) βρέθηκε σε μελέτη που περιλάμβανε 86 στελέχη του *S. intermedius*, στο Ηνωμένο Βασίλειο (Woldehiwet και Jones 1990). Αν και η ανθεκτικότητα των παθογόνων σταφυλοκόκκων στην οξακιλλίνη, μια ανθεκτική στη β-λακταμάση πενικιλίνη, θεωρείται γενικά πολύ μικρή (Lloyd και συν 1996, Morner και συν 1996, Holm και συν 1997), τα αποτελέσματά μας, και εκείνα μιας ισπανικής μελέτης (Piriz και συν 1995), τη δείχνουν να βρίσκεται σχετικά ψηλά (11,3% και 13-33%, αντίστοιχα). Είναι λοιπόν φανερό ότι η αντιβιοαντοχή των σταφυλοκόκκων του σκύλου στις ισοξαζολικές πενικιλίνες (οξακιλλίνη, κλοξακιλλίνη), που επιτυγχάνεται μέσω των μεταβολών των βακτηριδιακών πρωτεϊνών με τις οποίες συνδέονται τα αντιβιοτικά αυτά, αυξάνει, όπως άλλωστε έχει διαπιστωθεί και στον άνθρωπο (Harvey και Hunter 1999).

Ακόμα και ύστερα από μακροχρόνια χορήγησή, ανθεκτικότητα στην κεφαλεξίνη εμφανίζεται με συχνότητα που κυμαίνεται από 0 μέχρι 5 % (Cox και συν 1984, Phillips και Williams 1984, Medleau και συν 1986, Noble και Kent 1992, Noli και συν 1995, Reedy 1995, Kruse και συν 1996, Lloyd και συν 1996, Stegeman και συν 1996, Pellerin και συν 1997). Όμως, το υψηλό ποσοστό αντιβιοαντοχής (7,5%) της δικής μας μελέτης, θα μπορούσε ενδεχομένως να αποδοθεί στη συχνή και ευρύτατη χρήση κεφαλοσπο-

as more than one strains, with different susceptibilities to antibiotics may be present on the same pyoderma patient (Wegener and Pedersen 1992, Saijonmaa-Koulumies and Lloyd 1996, Scott et al 2001). Furthermore, the *in vitro* results, based on MIC, several times fail to predict the *in vivo* efficacy. Consequently, direct measurement of drug concentrations in the skin should be pursued, when possible (DeManuelle 2000, Scott et al 2001).

In canine pyoderma cases, antibiotics most often are chosen empirically (Ihrke 1984, Noli 1998, Scott et al 2001). However, antibiograms are mandatory in mixed infections, where phagocytosed cocci and rods are seen on cytology, when the empirical treatment has failed to give the anticipated results and in recurrent or deep pyodermas (Ihrke 1984, Noli 1998, Harvey and Hunter 1999; Scott et al 2001). In this study, the antibacterials tested, included some first and superficial pyodermas (erythromycin, tylosin, lincomycin, clindamycin, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole), recurrent or deep pyodermas (amoxicillin/clavulanate, oxacillin, cefalexin) and mixed infections with rods (enrofloxacin, amikacin) choices (Noli 1998, Noli and Boothe 1999). Doxycycline was included, not only because of its good efficacy in canine pyoderma (Bettenay et al 1994), but of its widespread use in Greece, where monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*) is a very common disease. Recently, it has been reported that the latter disease may play a predisposing role in canine pyoderma (Cerundolo et al 1998). Other commonly used antibacterials were not tested, because they are sensitive to beta-lactamase (e.g. penicillin, ampicillin, amoxicillin), are insufficiently distributed to the skin and/or cause rapid induction of bacterial resistance (e.g. streptomycin, oxytetracycline, non-potentiated sulfonamides) (Noli et al 1995, Reedy 1995).

In this series, the absence of *S. intermedius* resistance to amoxicillin / clavulanate is what was also found in similar studies in Denmark (Wegener and Pedersen 1992, Pedersen and Wegener 1995), Germany (Stegemann et al 1996) and in the United States (Cox et al 1984, Roy et al 1984, Frank and Kunkle 1993). The higher resistance rate to this antibacterial combination (17%) has been reported in a British study with 86 canine *S. intermedius* isolates (Woldehiwet and Jones 1990). Although in most reports the resistance to oxacillin, a beta-lactamase resistant penicillin, is minimal (Lloyd et al 1996, Morner et al 1996, Holm et al 1997), our results, together with that of a Spanish study (Piriz et al 1995) have shown relatively high resistance levels (11.3% and 13-33%, respectively). It is postulated that the development of staphylococcal resistance to isoxazolyl penicillins (oxacillin, cloxacillin), mediated through changes in penicillin-binding proteins, has been increasing in both humans and animals (Harvey and Hunter 1999).

Even after repeated use, the development of bacterial resistance to cefalexin, a first generation cephalosporin, is quite uncommon, with reported figures varying from 0 to



ριών στη χώρα μας. Επισημαίνεται ότι οι συγγραφείς έχουν διαπιστώσει ότι ορισμένα περιστατικά με εν τω βάθει πυώδη δερματίτιδα δεν ανταποκρίθηκαν στις κεφαλοσπορίνες και ιδιαίτερα στην κεφαδροξίλη.

Αν και η αντιβιοαντοχή στην ενροφλοξασίνη εμφανίζεται σπάνια (Frank και Kunkle 1993, Pedersen και Wegener 1995, Lloyd και συν 1996, Lloyd και συν 1999), έχουν διαπιστωθεί περιστατικά με εν τω βάθει πυώδη δερματίτιδα που δεν ανταποκρίθηκαν σ' αυτή, αλλά στις κεφαλοσπορίνες (Scott 1997). Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει τη σχετικά υψηλή ανθεκτικότητα (5,7%) που διαπιστώθηκε στην παρούσα μελέτη, πιθανότατα μέσω της μετάλλαξης των γονιδίων *gyrA* ή/και *norA* του *S. intermedius* (Lloyd και συν 1999).

Ένα από τα κυριότερα μειονεκτήματα των μακρολιδίων (ερυθρομυκίνη, τυλοζίνη) είναι η γρήγορη εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών (Noli και Boothe 1999). Για τους παθογόνους σταφυλοκόκκους του σκύλου, η ανθεκτικότητα αυτή κυμαίνεται από 2 ως 43% για την ερυθρομυκίνη (Holm και συν 1997, Noli και Boothe 1999) και από 9,5 ως 10% για την τυλοζίνη (Scott και συν 1994, Scott και συν 1996), όπως άλλωστε βρέθηκε και στη δική μας μελέτη (32,1% και 11,3%, αντίστοιχα). Η υψηλότερη ανθεκτικότητα στην ερυθρομυκίνη σε σύγκριση με την τυλοζίνη, που παρατηρήθηκε και από άλλους ερευνητές (Noli και Boothe 1999), πιθανότατα οφείλεται στη βραδύτερη εγκατάστασή της με την τυλοζίνη (Scott και συν 1994). Μια εξίσου σπουδαία εξήγηση είναι η πολύ σπάνια χρησιμοποίηση της τυλοζίνης στην ιατρική του σκύλου στην Ελλάδα.

Οι λινκοσαμίδες (λινκομυκίνη, κλινδαμυκίνη), όπως και τα μακρολίδια, προκαλούν εύκολα την εμφάνιση αντιβιοαντοχής, μέσω μεταβολών στα ριβοσωμάτια των βακτηριδίων (Kunkle 1987, Noli και Boothe 1999). Τα ποσοστά ανθεκτικότητας για τους θετικούς στην πηκτάση σταφυλοκόκκους φθάνουν μέχρι και το 37% (λινκομυκίνη) ή το 41% (κλινδαμυκίνη) (Cox και συν 1984, Noli και Boothe 1999). Επειδή στη χώρα μας η λινκομυκίνη χρησιμοποιείται σχετικά σπάνια, η πιθανότερη εξήγηση του παραπάνω φαινομένου είναι η διασταυρούμενη αντιβιοαντοχή με την κλινδαμυκίνη (Noli και Boothe 1999).

Σε μελέτη που έγινε στην Αυστραλία βρέθηκε ότι το 94% των στελεχών του *S. intermedius* από περιστατικά με πυώδη δερματίτιδα ήταν ευαίσθητα στη δοξυκυκλίνη (Bettenay και συν 1994), σε σχέση με το 67,9% της δικής μας. Επιπλέον, στην πρώτη πάνω από το 50% των ζώων ανταποκρίθηκε ικανοποιητικά στη δοξυκυκλίνη που χορηγήθηκε για 3 εβδομάδες. Αντίθετα, σε γαλλική έρευνα μόνο το 60-65% των στελεχών του *S. intermedius* που απομονώθηκαν τόσο από υγιείς σκύλους όσο και από σκύλους με πυώδη δερματίτιδα ήταν ευαίσθητα στη δοξυκυκλίνη (Pellerin και συν 1997). Προς το παρόν πάντως, δε συνιστάται ιδιαίτερα η χρησιμοποίησή της στη θεραπεία της πυώδους δερματίτιδας του σκύλου (Scott και συν 2001).

Το ποσοστό ανθεκτικότητας στην αμικασίνη (5,7%), που συνήθως χρησιμοποιείται σε βαριές ή μικτές βακτηριακές λοιμώξεις (π.χ. σηψαιμία λόγω γενικευμένης

5% (Cox et al 1984, Phillips and Williams 1984, Medleau et al 1986, Noble and Kent 1992, Noli et al 1995, Reedy 1995, Kruse et al 1996, Lloyd et al 1996, Stegeman et al 1996, Pellerin et al 1997). The relatively high resistance rate (7.5%), found in this series, could be attributed to the widespread use of cephalosporins in our area. Furthermore, we have seen some treatment failures, especially with cefadroxil, in dogs with long-standing deep pyoderma.

Although enrofloxacin rarely induces bacterial resistance (Frank and Kunkle 1993, Pedersen and Wegener 1995, Lloyd et al 1996, Lloyd et al 1999), we and other investigators (Scott 1997) have been experiencing a certain number of deep pyoderma cases that responded poorly to this medication, in contrast to cephalosporins. This observation would explain the higher than expected resistance rate (5.7%) in the present *in vitro* study, reportedly mediated through mutations in the *gyrA* and/or *norA* genes (Lloyd et al 1999).

One of the major disadvantages of macrolides (erythromycin, tylosin) is their association with high levels of bacterial resistance (Noli and Boothe 1999). In particular, canine staphylococcal isolates have shown resistance levels ranging from 2-43% for erythromycin (Holm et al 1997, Noli and Boothe 1999) and 9.5-10% for tylosin (Scott et al 1994, Scott et al 1996), which agree with our levels of 32.1% and 11.3%, respectively. This higher resistance to erythromycin than to tylosin, also reported by other investigators (Noli and Boothe 1999), may be due to either the more progressive development of resistance to tylosin (Scott et al 1994) or to its very limited use in canine medicine, at least in this country. The same is true for lincosamides (lincomycin, clindamycin) where bacterial resistance is facilitated through ribosomal alterations (Kunkle 1987, Noli and Boothe 1999). For coagulase-positive staphylococci, resistance figures as high as 37% (lincomycin) and 41% (clindamycin), have been reported (Cox et al 1984, Noli and Boothe 1999). As lincomycin is uncommonly used in dogs, the resistance (20.8%) to this antibiotic could be partially explained by its cross-resistance with clindamycin (Noli and Boothe 1999).

In an Australian study, *S. intermedius* showed 94% sensitivity to doxycycline (Bettenay et al 1994), the use of which gave good to excellent results in more than 50% of pyoderma cases. Our lower results (67.9%) are similar to that of a French study where only 60-65% of *S. intermedius* isolates from clinically healthy and pyoderma dogs were sensitive to this antibiotic (Pellerin et al 1997). At the present, doxycycline is considered a poor choice in the treatment of canine pyoderma (Scott et al 2001). The higher than expected resistance (5.7%) to amikacin was surprising, since this is actually a "rescue antibiotic", normally used in stubborn or life-threatening infections (Cox et al 1984, Scott et al 2001). Chloramphenicol has been rarely used in dogs in Greece since the eighties, which explains the high susceptibility rate (92.5%) of our *S. intermedius* isolates. In contrast, resistance rates as high as



πυοδεμοδήκωσης), ήταν μεγαλύτερο από το αναμενόμενο (Cox και συν 1984, Scott και συν 2001). Η ουσιαστικά μη χρησιμοποίηση της χλωραμφενικόλης στη χώρα μας, τουλάχιστο από τη δεκαετία του '80, φαίνεται να εξηγεί την υψηλή ευαισθησία (92,5%) του *S. intermedius*, σε αντίθεση με άλλες χώρες στις οποίες το ποσοστό των ανθεκτικών στελεχών μπορεί να φθάσει μέχρι και το 40% (Pellerin και συν 1997). Αντίθετα, η ανθεκτικότητα στο συνδυασμό τριμεθοπρίμης / σουλφοναμίδης ήταν υπερβολικά υψηλή, συγκρινόμενη ακόμη και με τα δεδομένα της Ιταλίας (50-70 %) (Noli 1998). Σε άλλες πάλι μελέτες από τις ΗΠΑ (Cox και συν 1984, Medleau και συν 1986, Reedy 1995), το Ηνωμένο Βασίλειο (Woldehiwet και Jones 1990) και την Ολλανδία (Noli και συν 1995) τα ποσοστά ανθεκτικότητας κυμαίνονταν από 1 ως 43%. Προφανώς η συχνή χρήση ή ακόμα και η κατάχρηση του παραπάνω συνδυασμού οδήγησε στην εμφάνιση του δυσάρεστου αυτού φαινομένου. Οι συγγραφείς έχουν σταματήσει να χρησιμοποιούν το συνδυασμό τριμεθοπρίμης / σουλφοναμιδών στην πυώδη δερματίτιδα του σκύλου, χωρίς όμως να μπορούν να συστήσουν το ίδιο για τους συνδυασμούς βακιλλοπρίμης ή ορμετοπρίμης / σουλφοναμιδών, επειδή δεν περιλήφθηκαν στη μελέτη αυτή.

Η ηλικία, η φυλή, το φύλο και οι συνθήκες διαβίωσης δεν είχαν καμία επίδραση στην ευαισθησία του *S. intermedius* στα διάφορα αντιβιοτικά, όπως εξάλλου διαπιστώθηκε και στο συσχετισμό μεταξύ της ηλικίας των σκύλων και της αντιβιοαντοχής των θετικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων που είχαν απομονωθεί από διάφορα όργανα και ιστούς (Hinton και συν 1978). Αν και έχει υποστηριχθεί ότι στελέχη του *Staphylococcus* sp με ανθεκτικότητα απέναντι σε πολλά αντιβιοτικά απομονώνονται συχνότερα από την εν τω βάθει σε σύγκριση με την επιπολής πυώδη δερματίτιδα (Noble και Kent 1992), η μελέτη αυτή δεν έδειξε κάτι τέτοιο, όπως εξάλλου και άλλες προηγούμενες (Medleau και συν 1986, Conceicao και συν 1998).

Τα υψηλότερα επίπεδα ανθεκτικότητας στα διάφορα αντιβιοτικά σε σχέση με τις περισσότερες προηγούμενες μελέτες δε θα μπορούσαν να ερμηνευτούν με βάση το είδος του σταφυλοκόκκου που απομονώθηκε στις καλλιέργειες, αφού οι *S. aureus* και *S. hyicus* είναι εξίσου ή και περισσότεροι ανθεκτικοί σε συγκρινόμενοι με τον *S. intermedius* (Woldehiwet και Jones 1990, Lloyd 1995). Συνεπώς η μόνη λογική εξήγηση πιθανότατα είναι η κατάχρηση των φαρμάκων αυτών στη χώρα μας για την αντιμετώπιση διάφορων παθολογικών και δερματολογικών προβλημάτων του σκύλου στην καθημερινή πράξη. Άλλωστε, κινητήρια δύναμη για την εμφάνιση της αντιβιοαντοχής είναι η επαναλαμβανόμενη έκθεση των μικροοργανισμών στα διάφορα αντιβιοτικά (Schwarz και Noble 1999) και ιδιαίτερα στα μακρολίδια, τις λινκοσαμίδες, και το συνδυασμό τριμεθοπρίμης/σουλφοναμιδών. Το γεγονός ότι δε διαπιστώθηκε συσχετισμός μεταξύ προηγούμενης αντιβιοθεραπείας και ανθεκτικότητας των στελεχών του *S. intermedius* που απομονώθηκαν, θα μπορούσε να οφείλεται στο μικρό αριθμό των ζώων στην κατηγορία αυτή. □

40% have been reported in other European countries (Pellerin et al 1997). In our series, the overall rate of resistance to trimethoprim/sulfonamide combination was extremely high (92.5%). Low (1%) and high (up to 50-70%) resistance rates were observed in the Netherlands (Noli et al 1995) and Italy (Noli 1998), respectively. Other studies in the United States and the United Kingdom (Cox et al 1984, Medleau et al 1986, Woldehiwet and Jones 1990, Reedy 1995) reported resistances varying from 2 to 43%. The overuse of potentiated sulfonamides in our area may explain such a high resistance. Consequently, the authors don't recommend the combination with trimethoprim in the treatment of canine pyoderma, at least in Greece. However, the combinations either with baquilloprim or ormetoprim could not be blamed, simply because they were not included in our panel.

Similar to Hinton et al (1978), no effect could be found regarding the animals' age, breed, gender or lifestyle on the sensitivity of *S. intermedius* isolates to the tested antimicrobials. The suggestion that multiresistant strains of *Staphylococcus* sp are more often isolated from deep than from superficial pyodermas (Noble and Kent 1992) could not be confirmed by the results of this study and of those of Medleau et al (1986) and Conceicao et al (1998).

Of course, our higher resistance rates compared to those of similar studies could not be attributed to the staphylococcal species isolated, since they share common sensitivities (Woldehiwet and Jones 1990, Lloyd 1995). Again, the irrational use of these antibacterials is the most plausible explanation. It is widely acknowledged that the emergence of antibacterial resistance is mainly due to the repeated exposure to antibiotics (Schwarz and Noble 1999), and especially to macrolides, lincosamides and potentiated sulfonamides (Scott et al 2001). Finally, the reason for the lack of any association between the systemic antibiotherapy during the past year and the resistance profile of the staphylococcal isolates, is probably the small number (9/53) of the dogs belonging to this category. □



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

- Allaker RP, Jensen L, Lloyd DH, Lamport AI (1992). Colonization of neonatal puppies by staphylococci. Br Vet J, 148: 523-528.
- Barry AL, Thornsberrry C (1980). Susceptibility testing: diffusion test procedures. In: Manual of Clinical Microbiology. 3rd ed, American Society for Microbiology, Washington DC: 463-474.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris KC, Turk M (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Pathol, 45: 493-496.
- Bettenay S, Mueller R, Dell'Osa D (1994). Efficacy of doxycycline in canine and feline pyoderma. Proc 12th Ann Cong ESVD-ECVD: 64-65.
- Bourdeau P (1998). Treatment of canine pyodermas with an oral long acting association: baquiloprim + sufladimethoxine (Zanquilan®). In: Advances in Veterinary Dermatology. Vol 3, Butterworth – Heinemann, Oxford: 541-542.
- Bourdeau P, Blumstein P (1998). Comparison of two methods in the evaluation of antibiotics in canine pyodermas. Example with the associations amoxicillin + clavulanic acid (Synulox®) and baquiloprim + sulphadimethoxin (Zanquilan®). Proc 15th Ann Cong ESVD-ECVD: 169-170.
- Cerundolo R, de Caprariis D, Manna L, Gravino AE (1998). Recurrent deep pyoderma in German shepherd dogs with underlying ehrlichiosis and hypergammaglobulinaemia. Vet Dermatol, 9: 135-142.
- Conceicao LG, Figueiredo G, Fabris VE, Lopes CAM, Franco SRVS (1998). Identification of bacterial flora and antimicrobial staphylococcal sensitivity from canine pyoderma in Brazil. In: Advances in Veterinary Dermatology. Vol 3, Butterworth – Heinemann, Oxford: 546-547.
- Cox HU, Hoskins JD, Riy AF, Newman SS, Luther DG (1984). Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive staphylococci isolated from Louisiana dogs. Amer J Vet Res, 45: 2039-2042.
- DeBoer DJ (1997). Recurrent canine pyoderma: predisposing factors and diagnostic approach. Proc 14th Ann Cong ESVD - ECVD: 9-12.
- DeManuelle (2000) Deep pyoderma: getting the right drug to the right place. Compend Cont Educ Pract Vet, 22 (Suppl): 69-72.
- DeSaxe M, Lloyd DH (1982). Antibiotic resistance and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from dogs. Assoc Vet Clin Pharmacol Therap Proc, 6: 50-54.
- Frank LA, Kunkle GA (1993). Comparison of the efficacy of cefadroxil and generic and proprietary cephalixin in the treatment of pyoderma in dogs. J Am Vet Med Assoc, 203: 530-533.
- Harvey RG, Noble WC (1994). A temporal study comparing the carriage of *Staphylococcus intermedius* on normal dogs with atopic dogs in clinical remission. Vet Dermatol, 5: 21-25.
- Harvey RG, Marples RR, Noble WC (1994). Nasal carriage of *Staphylococcus intermedius* in humans in contact with dogs. Microb Ecol Hlth Dis, 7: 225-227.
- Harvey RG, Hunter PA (1999). The properties and use of penicillins in the veterinary field, with special reference to skin infections in dogs and cats. Vet Dermatol 10: 177-186.
- Hinton M, Marston M, Hedges R (1978). The antibiotic resistance of pathogenic staphylococci and streptococci isolated from dogs. J Small Anim Pract, 19: 229-235.
- Hirsh DC, Ruchl WW (1984). A rational approach to the selection of an antimicrobial agent. J Amer Vet Med Assoc, 185: 1058-1061.
- Hoie S, Fossum K (1989). Antibodies to staphylococcal DNases from different animal species, including humans. J Clin Microbiol, 27: 2444-2447.
- Holm B, Raue H, Bergstrom K, Peterson U, Morner A (1997). Antibiotic susceptibility of staphylococci isolated in Sweden from primary and recurring canine pyoderma. Proc 14th Ann Cong ESVD-ECVD: 192.
- Hosmer BW, Lemeshow S (1989). Applied Logistic Regression. John Wiley and Sons, New York: 106-118.
- Ihrke PJ (1984). Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the skin in small animals. J Amer Vet Med Assoc, 185: 1165-1168.
- Ihrke PJ (1987). An overview of bacterial skin disease in the dog. Brit Vet J, 143: 112-118.
- Ihrke PJ (1996). Bacterial Skin Disease in the Dog. A Guide to Canine Pyoderma. Bayer Inc.
- Kloos WE (1980). Natural populations of the genus *Staphylococcus*. Ann Rev Microbiol, 34: 559-592.
- Kloos WE, Wolfshohl JF (1982). Identification of the *Staphylococcus* species with the API STAPH – IDENT system. J Clin Microbiol, 16: 509-516.
- Kruse H, Hofshagen M, Thoresen SI, Bredal WP, Vollset I, Soli NE (1996). The antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine dermatitis. Vet Res Com, 20: 205-214
- Kunkle GA (1987). New considerations for rational antibiotic therapy of cutaneous staphylococcal infection in the dog. Semin Vet Med Surg, 2: 212-220.
- Lloyd DH (1995). Update on pyoderma and yeast dermatitis. In: 19th Annual Waltham/OSU Symposium for the Treatment of Small Animal Diseases – Dermatology. Waltham, USA Inc: pp. 7-11.
- Lloyd DH, Lamport AI, Feeney C (1996). Sensitivity to antibiotics amongst cutaneous and mucosal isolates of canine pathogenic staphylococci in the UK, 1980-96. Vet Dermatol, 7: 171-175.
- Lloyd DH, Lamport AI, Noble WC, Howell SA (1999). Fluoroquinolone resistance in *Staphylococcus intermedius*. Vet Dermatol, 10: 249-251.
- Mason IS (1991). Canine pyoderma. J Small Anim Pract, 32: 381-386.
- Mason IS (2001). Antibiotic selection in practice. Proc 17th Ann Cong ASVD-ACVD: 57-60.
- Medleau L, Long RE, Brown J, Miller WH (1986). Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine pyodermas. Am J Vet Res, 47: 229-231.
- Morner AP, Bergstrom K, Greko C, Franklin A (1996). Antibiotic sensitivity of staphylococci isolated from cases of canine pyoderma. Comend Cont Educ Pract Vet, 18 (Suppl): 48.
- Naidoo J, Lloyd DH (1984). Transmission of genes between staphylococci on skin. In: Antimicrobials and Agriculture. Butterworths, London: 284-292.
- Noble WC, Kent LE (1992). Antibiotic resistance in *Staphylococcus intermedius* isolated from cases of pyoderma in the dog. Vet Dermatol, 3: 71-74.
- Noli C, Houwers D, Willemse T (1995). Study of the resistance patterns of *Staphylococcus* spp. isolated from dogs with pyoderma. Proc 12th Ann Cong ESVD-ECVD: 216.
- Noli C (1998). Systemic antibacterial therapy. Proc 15th Ann Cong ESVD – ECVD: pp. 43-47.
- Noli C, Boothe D (1999). Macrolides and lincosamides. Vet Dermatol, 10: 217-223.
- Pedersen K, Wegener HC (1995). Antimicrobial susceptibility and rRNA gene restriction patterns among *Staphylococcus intermedius* from healthy dogs and from dogs suffering from pyoderma or otitis externa. Acta Vet Scand, 36: 335-342.
- Pedersen Morner A, Bergstrom K, Greko C, Franklin A (1996). Antibiotic sensitivity of Staphylococci isolated from cases of canine pyoderma. Compend Cont Educ Pract Vet, 18 (Suppl): 48.
- Pellerin JL, Bourdeau P, Navarro A (1997). Epidemiosurveillance of antimicrobial resistance of *Staphylococcus intermedius* isolates



- from dogs. Proc 14th Ann Cong ESVD – ECVD: 198.
- Phillips WE, Williams BJ (1984). Antimicrobial susceptibility patterns of canine *Staphylococcus intermedius* isolated from veterinary clinical specimens. Amer J Vet Res, 45: 2376-2379.
- Piriz S, De La Fuente R, Valle J, Mateos E, Hurtado MA, Cid D, Ruiz-Santaquitteria JA, Vadillo S (1995). Comparative in vitro activity of 11  $\beta$ -lactam antibiotics against *Staphylococcus intermedius* strains isolated from staphylococcal dermatitis in dogs. J Vet Med B, 42: 293-300.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR (1994). *Staphylococcus* species. In: Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing, Spain: 118-126.
- Reedy LM (1995). Comparative results of 100 antibiotic sensitivity tests on *Staphylococcus intermedius* (1982-1994). Proc 11th Meeting AAVD. – ACVD: 91.
- Roy AF, Newman SS, Cox HU, Hoskins JD (1984). Effect of beta-lactamase of *Staphylococcus intermedius* on disk agar diffusion susceptibility tests. Cornell Vet, 74: 354-360.
- Saijonmaa Koulumies LE, Lloyd DH (1996). Colonization of canine skin with bacteria. Vet Dermatol, 7: 153-162.
- Saijonmaa-Kouloumies LE, Lloyd DH (2002). Colonization of neonatal puppies by *Staphylococcus intermedius*. Vet Dermatol, 13: 123-130.
- Scott DW, Miller WH, Cayatte SM, Bagladi MS (1994). Efficacy of tylosin tablets for the treatment of pyoderma due to *Staphylococcus intermedius* infection in dogs. Can Vet J, 35: 617-621.
- Scott DW, Miller WH Jr, Rothstein SE, Bagladi MS (1996). Further studies on the efficacy of tylosin tablets for the treatment of pyoderma due to *Staphylococcus intermedius* infection in dogs. Can Vet J, 37: 617-618.
- Scott DW (1997). Enrofloxacin-resistant *S. intermedius*. Vet Dermatol, 8: 144.
- Scott DW, Miller WH, Griffin CE (2001). Bacterial skin diseases. In: Small Animal Dermatology. 6th ed, WB Saunders, Philadelphia: 274-335.
- Statistical Analysis Systems (2000). SAS Release 8e, SAS Institute, Cary, NC.
- Stegemann M, Heukamp U, Scheer M, Krebber R (1996). Kinetics of antibacterial activity after administration of enrofloxacin in dog serum and skin: in vitro susceptibility of field isolates. Compend Cont Educ Pract Vet, 18 (Suppl): 30-34.
- Schwarz S, Noble WC (1999). Aspects of bacterial resistance to antimicrobials used in veterinary dermatological practice. Vet Dermatol, 10: 163-176.
- Wegener HC, Pedersen K (1992). Variations in antibiograms and plasmid profiles among multiple isolates of *Staphylococcus intermedius* from pyoderma in dogs. Acta Vet Scand, 33: 391-394.
- Woldehiwet Z, Jones JJ (1990). Species distribution of coagulase-positive staphylococci isolated from dogs. Vet Rec, 126: 485.