

DIAGNOSTIK AV STAFYLOKOCKER HOS HUND OCH MÄNNISKA

Bakgrund

Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) får många frågor från oroade djurägare vars hundar är bärare av meticillinresistent *Staphylococcus (S.) pseudintermedius* (MRSP). Frågorna handlar om hur farlig denna multiresistenta bakterie är för dem själva, för deras barn och familj. Det finns idag inget som tyder på MRSP är mer sjukdomsframkallande jämfört med de ”vanliga” meticillinkänsliga *S. pseudintermedius*. Det är dock oklart i vilken omfattning som *S. pseudintermedius* verkligen orsakar infektioner hos människa på grund av den enkla orsaken att bakterien faktiskt inte diagnosticeras vid bakteriologiskt laboratorium inom humanmedicinen. Det är också troligt att *S. pseudintermedius* kan fel diagnosticeras inom humanmedicinen som den närbesläktade *S. aureus*. Även i litteraturen finns få fall beskrivna av *S. pseudintermedius* som infektionsorsak hos människa men det råder osäkerhet kring diagnostiken.

S. pseudintermedius (tidigare kallad *Staphylococcus intermedius*) är en av hundens vanligaste hudbakterie och en vanlig orsak till bland annat hudinfektioner och sårskador hos hund. Hudproblem är dessutom den vanligaste orsaken till att hundägare söker veterinärvård för sin hund. Den närbesläktade *S. aureus* är däremot människans stafylokock som bland annat orsakar variga sårinfektioner och bölder.

Meticillinresistent *S. aureus* (MRSA) är inom humanmedicinen klassad som allmänfarlig vilket innebär att den anses lika allvarlig för människors hälsa som till exempel HIV och att smittspårning alltid ska ske när MRSA påvisas hos människa (se Smittskyddsinsitutet

<http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/meticillinresistenta-gula-stafylokocker/>). Inom veterinärmedicinen är alla koagulaspositiva meticillinresistenta stafylokocker (inklusive MRSA och MRSP) anmälningspliktiga sedan januari 2008. Sedan första fallet av MRSP konstaterades 2006 har antalet MRSP ökat (se övervakningsrapporten svensk veterinärmedicinsk antibiotikaresistensmonitorering, SVARM 2011,

http://www.sva.se/upload/Redesign2011/Pdf/Om_SVA/publikationer/Trycksaker/Svarm2011.pdf).

Meticillinresistens innebär att stafylokocken bär på *mecA*-gen som medför resistens för samtliga kliniskt godkända betalaktamantibiotika; i den grupp ingår bland annat vanligt penicillin, amoxicillin med klavulansyra och även cefalosporiner. Det vill säga för den inom både veterinär- och humanmedicinen viktigaste och mest använda antibiotikagruppen till exempel hudproblem hos de flesta hundar i Sverige behandlas idag med cefalosporiner. Förutom att meticillinresistenta stafylokocker är okänsliga för betalaktamantibiotika är de också ofta resistenta mot flera andra antibiotikaklasser vilket gör att de ofta kan bli klassade som multiresistenta. Dessa bakterier kan därför orsaka infektioner som är extremt svåra att behandla då valet av terapi är begränsat till ett fåtal antibiotika och i värsta fall att inga antibiotika finns att tillgå.

I och med att meticillinresistens hos *S. pseudintermedius* och andra koagulaspositiva meticillinresistenta stafylokocker blir allt vanligare är det viktigt att ha en korrekt diagnostik av stafylokocker. Likaså är utbredningen av olika stafylokockarter hos hund otillräckligt studerat. Med hjälp av dagens molekylärbiologiska metoder gör att kvaliteten på stafylokockdiagnostiken kan höjas avsevärt jämfört med dagens biokemiska jämsningar som ofta kan ha svårt att särskilja närbesläktade stafylokocker. Dessa metoder blir dessutom allt vanligare och billigare att använda i rutindiagnostiken på bakteriologiskt laboratorium.

Eftersom *S. pseudintermedius* och *S. aureus* är de vanligaste orsakerna till bakteriella infektioner är det också viktigt att förstå både förekomsten och släktskap mellan olika artvarianter för att kunna utföra släktskapsundersökningar som behövs vid till exempel vid smittspårning. Bra och stabila typningsmetoder är därför nödvändiga att ha tillgång till. En molekylärmetod som ökat kraftigt i popularitet för släktskapsundersökningar under de senaste åren för *S. pseudintermedius* och *S. aureus* är *spa*-typning då den jämfört med många andra typningsmetoder är enklare, snabbare och billigare. *Spa*-

typning har också den fördelen att den kan användas för att både smittspåra enskilda kliniska utbrott och göra internationella jämförelser. .

Klinisk relevans

Bakteriologisk odling är ett viktigt redskap för både veterinärer och läkare för att kunna göra rätt val av antibiotika vid en behandling av en infektion. För att resistensbestämningen ska utföras och tolkas rätt är det essentiellt att den isolerade bakterien är adekvat diagnosticerad, det vill säga att bakteriearten är korrekt. Detta har blivit än väsentligare sedan meticillinresistens konstaterats hos stafylokocker.

Meticillinresistenta stafylokocker är ett gemensamt kunskapsområde för veterinärer och läkare men det är olika allvarlighetsgrad om det handlar om MRSA eller MRSP som konstaterats. Med förbättrad diagnostik kommer veterinären att få ett korrektare svar på den bakteriologiska provtagningen som i sin tur ger mer optimal vägledning för hanteringen av den enskilda patienten. Dessutom kommer rapportering och övervakning av meticillinresistenta koagulaspositiva stafylokocker bli säkrare vilket i sin tur kommer att förbättra rådgivningen från veterinära myndigheter såsom SVA och Statens Jordbruksverket till djurägare, veterinärer, andra myndigheter och läkare.

Studiens övergripande mål och frågeställningar

De två delstudierna innebär att påtala brister och därigenom frammana förbättring inom bakteriologidiagnostiken för stafylokocker som finns isolerade hos hund samt undersöka om hundens vanligaste stafylokok, *S. pseudintermedis*, kan vara felaktigt diagnosticeras som *S. aureus* då den orsakar infektion hos människa. Det är också prioriterat att få en så tydlig bild som möjligt av spridningen och förekomst av specifika stafylokocker (speciellt *S. pseudintermedius*). Då detta är en förutsättning för att på ett mer adekvat sätt göra riskbedömningar, insättande av åtgärder, utförande av diagnostik och behandlingsstrategier. Det övergripande målet är att veterinärer och de veterinära myndigheterna ska kunna ge en korrektare rådgivning till djurägare och även andra veterinärer.

Beskrivning av undersökning

Studie ett – populationsstudie

Studiens syfte: Undersöka med molekylärbiologiska metoder vilka stafylokokarter som koloniserar friska hundar i Sverige. Det ingår också att jämföra mellan artbestämning gjord med biokemiska jäsningsar med molekylärbiologisk artbestämning. Förutom vilken art kommer även släktskapsundersökning att göras för att se hur besläktade *S. pseudintermedius* från friska hundar är och hur fördelningen av olika varianter ser ut.

Studiens upplägg: Det finns ett unikt material om 250 stafylokocker friska hundar provtagna på hundutställning (Zwenson 2007) som tidigare diagnosticerats med biokemiska tester. Dessa ska arttypas med molekylärbiologisk metod (se Analyser), *spa*-typas och resistensbestämmas.

Till denna studie gjordes under hösten 2012 även en screening för MRSA och MRSP hos 100 friska hundar som inkom till djursjukhus över Sverige. Syftet med detta var att kunna bättre bedöma och kommunicera risken för att friska hundar bär på någon av dessa bakterier till framförallt praktiserande veterinärer.

Studie två – hundbett hos människa

Studiens syfte: Utröna om, *S. pseudintermedis* är en orsak till infektion efter hundbett hos människa samt undersöka hur ofta *S. pseudintermedius* feldiagnosticerats som *S. aureus* hos människor med infektion efter hundbett . Även försöka avgöra om det är någon eller några specifika varianter som är mer vanligt förekommande och jämföra med resultaten i studie ett det vill säga hur vanliga den är hos friska hundar.

Studiens upplägg: *S. aureus* som isolerats från hundbett på människa skickas till SVA för att undersökas molekylärbiologiskt, se avsnittet metodik. Följande läkare och mikrobiologer ställer sig positiva att delta i studien. Ungefär 10 *S. aureus* från hundbett per år och laboratorium beräknas att inkomma till SVA. Följande laboratorium kommer att delta Karolinska Universitetslaboratoriet (Karin Jung, överläkare), Huddinge bakteriologiska laboratorium (Karin Jung, överläkare), bakteriologiska laboratorium vid Sahlgrenska Universitetssjukhuset (Christina) Åhrén, enhetsöverläkare), avdelning för klinisk mikrobiologi vid Akademiska sjukhuset (Angela Lagerqvist Vidh, mikrobiolog).

Analyser

I studie ett användes en PCR-analys som särskiljer de vanligaste koagulaspositiva stafylokockerna (*S. aureus*, *S. pseudintermedius*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. scheiferi* och *S. hyicus*). För de isolat som gav negativt resultat i denna PCR analyserades i MALDI-TOF, vilket är en ny avancerad analysteknik för bakteriediagnostik där bakteriens ribosomala protein undersöks genom masspektrometri och de spektra man erhåller korreleras sedan automatiskt mot en databas med etablerade spektra. Denna teknik har fått stort genomslag inom humansidan under de senaste åren på grund av dess snabbhet, enkla procedur, säkerhet och kostnadseffektivitet. Sedan 2012 finns även denna teknik att tillgå vid SVA. Inom projektet utfördes därför även en utvärdering av denna tekniks möjlighet att identifiera *S. pseudintermedius*.

Spa-typning för *S. aureus* där genen för protein A sekvenseras gjordes enligt rutindiagnostiken på Smittskyddsinstitutet (1) och för *S. pseudintermedius* användes den metod som är beskriven av Moodley *et al.* (2009)(1). Dessvärre visade denna studie att metoden beskriven av Moodley *et al.* från 2009 var den inte tillämpbar på ett stort urval av *S. pseudintermedius* och på ovanligare varianter av MRSP.

Då *spa*-typning visade sig ej tillämpbar i den nuvarande studien valde vi att tillämpa en annan släktskapsmetod inom projektet, en så kallad multi-locus sequence typing (MLST). MLST betyder att sju ”house-keeping”_gener sekvenseras och resultaten analyseras mot en databas. Den aktuella metoden som vi valde att sätta upp är framtagen av Stephen Kania från universitetet i Tennessee, USA, och databasen sköts av Vincent Perreten, universitetet i Bern. Vi är som tredje land i världen med att användas hos av den metod som är beskriven av Kania, men i framtiden kommer denna metod och databas finns tillgänglig i en öppen databas på nätet likt andra MLST-metoder beskrivna för andra bakteriearter. I jämförelse med *spa* har dock MLST en lägre upplösning, men är å andra sidan stabilare över tiden.

Vi valde också att undersöka olika toxiner, såsom leukocidin, exfoliatin och enterotoxin, hos de *S. pseudintermedius* isolerade från hundbett hos människa. Detta skedde med ett samarbete med en spansk forskargrupp från universitetet i Rioja. Carmen Torres ansvarar för denna grupp och hennes doktorand, Elena Gómez, gjorde analyserna. De analyserade våra isolat enligt de metoder som finns beskrivna i referenserna 2-8. Sedan ska toxingenerna hos *S. pseudintermedius* isolerade från friska hundar att undersökas i detta samarbete för att jämföra om antalet eller sortens toxiner skiljer sig mellan *S. pseudintermedius* isolerade från normala hundar för att se om vissa *S. pseudintermedius* som återfinns i hundbett är mer benägna att skapa infektioner.

Fenotypisk bakteriediagnostik med sockerartsjäsning med maltos och trehalos samt test för DNAs och resistensbestämning gjordes enligt rutindiagnostiken på SVA.

Tack vare detta projekt fick vi även möjlighet att delta i en utbrottsutredning på akademiska sjukhuset i Uppsala där fyra patienter smittades med MRSP där tre av dessa fick infektioner i deras bensår. Dessa isolat undersöktes med ytterligare en annan sort släktskapsanalysmetod, pulsfältsgel-elektrofores (PFGE) (10) som är en mer diskriminerande men också tidskrävande och kostsam. PFGE används framförallt vid utbrottsutredningar.

Resultat

I studie ett visade PCR:n för koagulaspositiva stafylokocker att den fenotypiska testningen gav en annan stafylokokart istället för *S. pseudintermedius* i nio isolat utav 111 testade (8,1 %). Elva *S. pseudintermedius*-isolaten (10,7 %) kunde *spa*-typas där alla tillhörde olika *spa*-typer. Resistensläget för de korrekta *S. pseudintermedius* visas i Tabell 1. Här visade utvärderingen av MALDI-TOF att den tekniken kunde särskilja *S. aureus* från *S. pseudintermedius*.

I screeningstudien kunde 71 stafylokocker isoleras från 100 friska hundar och ingen av dessa var bärare av varken MRSA eller MRSP. Utav dessa 71 stafylokocker var 46 *S. pseudintermedius* och 10 var *S. aureus* när de artbestämdes med PCR medan 15 var inte möjliga att arttypa med denna metod. Resistensläget för dessa *S. pseudintermedius* visas i Tabell 1

I studie två skickades 102 misstänkta *S. aureus* isolerade från hundbett hos människa. Tjugotvå laboratorier fördelade över följande län bidrog med isolat: Stockholm, Uppsala, Västra Götaland, Halland, Skåne, Värmland och Jönköping. Dessa tillhörde 58 olika *spa*-typer där varje isolat representerade en *spa*-typ förutom nio isolat som tillhörde t015 och dessa var spridda över flera län. Utav de 102 isolaten, var 13 felaktigt artbestämda och dessa var istället *S. pseudintermedius* (12,7 %). Resistensläget för dessa *S. pseudintermedius* visas i Tabell 1.

Då *spa*-typning visade sig ej användbar för *S. pseudintermedius*, valde vi att tillämpa en annan släktskapsmetod inom projektet, en så kallad multi-locus sequence typing (MLST). Ingen av dessa var typningsbara med *spa*-typning, däremot gick alla att typa med MLST och resultaten kommer att fås senare från Vincent Perreten. Dessa 13 *S. pseudintermedius* bar alla på toxinerna leukocidin, exfoliatin och enterotoxin. Tre av dessa hade även ovanligare variant av exfoliatin och ett isolat hade ovanligare form av enterotoxin.

Resultat från utbrottsutredning vid akademiska sjukhuset i Uppsala presenterades på en konferens om meticillinresistenta stafylokocker inom veterinärmedicinen anordnad av American Society of Microbiology i Washington DC i september 2011 (11). I korthet redovisades att sommaren 2011 infekterades fyra patienter på dermatologikliniken med MRSP där alla tillhörde samma *spa*-typ. Vid detta utbrott visade sig att alla MRSP hade lika PFGE-mönster vilket tyder på att de var mycket nära besläktade, men mönstret skiljer sig från det vanligaste PFGE-mönstret hos MRSP isolerade från hund i Europa (12). Dessa patienter hade ingen hundkontakt men underliggande sjukdomar som diabetes och hjärtkärlsjukdomar.

Tabell 1. Resistens hos *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. p.*) isolerad från friska hundar 2006 respektive 2012 samt från hundbett hos människa

Antibiotika	Brytpunkter för resistens (mg/L) ^a	% Resistenta isolat		
		S. p. från friska hundar 2006	S. p. från friska hundar 2011	S. p. isolerad hundbett
Cefalotin	>4	0	0	0
Erytromycin	>4	14	6	23
Fluorokinolonner ^b	>4	<1	0	0
Fusidin syra	>4	13	10	23
Gentamicin	>16	0	0	8
Klindamycin	>4	12	6	23
Oxacillin	>1	2	0	8
Penicillin	Testad för penicilinas	82	87	100
Tetracyklin	>8	31	13	31
Trimetoprim	>16	2	1	8

^aBrytpunkter enligt svensk veterinärmedicinsk antibiotikaresistens monitorering, SVARM förutom för trimetoprim hämtades från Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) dokument. ^bEnrofloxacin eller ciprofloxacin användes som testsubstans

Diskussion

Detta projekt stödjer det som redan är beskrivet i litteraturen att *S. pseudintermedius* den vanligaste stafylokocken hos hundar. Här kunde vi visa det med både med fenotypisk och genotypiska metoder MRSP är ovanligt i den friska hundpopulationen. MRSP var ovanligt i den svenska hundpopulationen både i undersökning från 2006 och nu 2012 även då antalet fall har ökat dramatiskt under dessa år. Detta kan tyda på att fallen framförallt genereras genom utbrott på djursjukhusen och det är ingen stor smittspridning som sker inom den friska hundpopulationen.

Släktskapsundersökning vid nationellt och internationellt smittspårnings arbete och lokala utbrott är förutsättning. Gärna att metodiken är enkel att utföra, snabb och billig. *Spa*-typning är betydligt enklare och snabbare än PFGE och fungerar utmärkt på *S. aureus* och MRSA. Den har även visat sig vara lika diskriminerande i utbrottsutredningar (13). MLST är en metod som visar på släktskap för det nationella eller internationella perspektivet men är inte tillräckligt diskriminerande för smittspårning vid lokala utbrott. Tyvärr visade detta projekt att analys av *spa*-genen hos *S. pseudintermedius* är mindre lämplig och ytterligare förbättring av analysmetoden behövs för att den ska kunna vara användbar. Däremot kunde projektet visa att MLST fungerade utmärkt.

Fenotypisk testning av stafylokocker enligt rutindiagnostiken på SVA ger rätt stafylokockart i 91 % av undersökningar medan de humanmedicinska laboratorierna ger korrekt bakteriologisk diagnos i 87 % av isolaten. Dessa siffror tyder i alla fall på att laboratorierna måste vara observanta om fynd görs av MRSA eller MRSP då det är viktigt att artbestämningen blir rätt. Dessa siffror kommer att öka i och med att den moderna molekylbiologiska metoden MALDI-TOF tas i bruk i ökande omfattning för detta projekt kunde visa att MALDI-TOF kunde enkelt särskilja mellan *S. aureus* och *S. pseudintermedius*.

Detta projekt kunde även konstatera i enlighet med litteraturen att *S. pseudintermedius* och MRSP kan orsaka infektioner hos människa, både efter hundbett men även i bensår. Men i infektioner i sår efter hundbett är *S. aureus* den dominerande stafylokocken. Vår undersökning visar att dessa *S. aureus* inte är besläktade utan tillhör troligen människans egen flora som orsakar infektioner vid hundbett. Emellertid i vår studie undersökte vi isolaten med en säkrare artbestämningsmetod jämfört med äldre publicerade resultat. Dessutom är det första beskrivna utbrott av MRSP på humansjukhus undersökt inom detta projekt.

De flesta *S. pseudintermedius* isolerade från hundbett hos människa var inte mer sjukdomsframkallande jämfört med de som isoleras från friska hundar dvs de bär på de vanliga toxingenerna (Carmen Torres, personlig kommunikation). Några få isolat hade dock några andra toxiner som kommer att undersökas närmare för att försöka förstå deras kliniska relevans. Sedan ska förekomsten av toxingener också undersökas hos *S. pseudintermedius* isolerade den svenska friska hundpopulationen.

Resistenssituationen idag för *S. pseudintermedius* hos friska hundar tycks ha förbättrats jämfört med 2006. Studiedesignen är dock inte densamma för dessa två undersökningar vilket kanske kan förklara delar av utfallet. Däremot verkar resistenssituationen hos *S. pseudintermedius* isolerade från hundbett ha förvärvat något mer resistens jämfört med de isolat som kommer från friska hundar. Det är dock oklart hur detta ska förklaras.

Resultat från denna studie kommer att kommuniceras till både läkar- och veterinärkåren och laboratorierna inom både de human- och veterinärmedicin i Sverige. Sedan kommer även resultaten att presenteras internationellt under 2013 i en eller flera peer-reviewed tidskrift. Det är viktigt att öka medvetenheten om förekomsten av *S. pseudintermedius* och MRSP hos läkarekåren. Även om inget tyder på att MRSP är vanligt hos svenska hundar och inte heller att den är mer sjukdomsframkallande är dock en infektion med MRSP mer svårbehandlat då den ofta är multiresistent(12). Därför är en korrekt artidentifiering viktigt med för att kunna behandla med rätt antibiotikum.

Sammanfattning och slutsatser

De två vanligaste koagulaspositiva stafylokockerna som är sjukdomsframkallande inom både human- och veterinärmedicinen är *S. aureus* och *S. pseudintermedius* kan förväxlas i traditionell bakteriediagnostik. Meticillinresistenta varianter av dessa två stafylokockarter medieras dessutom av samma gen. Både MRSA och MRSP har påvisat hos hund där antalet fall med MRSP är övervägande. Både meticillinkänsliga *S. pseudintermedius* och MRSP kan ge infekterade sår efter hundbett hos människa men allra vanligast är att människans stafylokock, *S. aureus*, orsakar infektionen. Detta är viktig information att kommunicera till läkare och humanmedicinska laboratorier. Detta projekt visar även att *S. pseudintermedius* är den vanligaste stafylokocken hos friska hundar medan förekomsten av MRSP är låg och att metodiken för enkel analys av släktskap mellan *S. pseudintermedius*-isolat måste förbättras. Behovet av korrekt bakteriediagnostik inom både human- och veterinärmedicinen är ytterst väsentligt för behandling och smittspårning och där nyare teknik kommer att underlätta detta.

Referenser

1. Harmsen, D., H. Claus, H., et al., Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. 2003. J Clin Microbiol, 41: 5442-8.
2. Moodley A, Stegger M, Ben Zakour NL, Fitzgerald JR, Guardabassi L. Tandem repeat sequence analysis of staphylococcal protein A (spa) gene in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. Vet Microbiol. 2009 Mar 30;135(3-4):320-6
3. Hwang SY, Kim SH, Jang EJ, Kwon NH, Park YK, Koo HC, Jung WK, Kim JM, and Park YH. Novel multiplex PCR for the detection of the *Staphylococcus aureus* superantigen and its application to raw meat isolates in Korea. Int J Food Microbiol 2007;117:99-105.
4. Futagawa-Saito K, Suzuki M, Ohsawa M, Ohshima S, Sakurai N, Ba-Thein W, Fukuyasu T. Identification and prevalence of an enterotoxin-related gene, se-int, in *Staphylococcus intermedius* isolates from dogs and pigeons. J Appl Microbiol. 2004b; 96(6):1361-1366.
5. Edwards VM, Deringer JR, Callantine SD, Deobald CF, Berger PH, Kapur V, Stauffacher CV, Bohach GA. Characterization of the canine type C enterotoxin produced by *Staphylococcus intermedius* pyoderma isolates. Infect Immun. 1997; 65(6):2346-2352.
6. Futagawa-Saito K, Sugiyama T, Karube S, Sakurai N, Ba-Thein W, Fukuyasu T. Prevalence and characterization of leukotoxin-producing *Staphylococcus intermedius* in Isolates from dogs and pigeons. J Clin Microbiol. 2004a; 42(11):5324-5326.
7. Lautz S, Kanbar T, Alber J, Lämmle C, Weiss R, Prenger-Berninghoff E, Zschöck M. Dissemination of the gene encoding exfoliative toxin of *Staphylococcus intermedius* among strains isolated from dogs during routine microbiological diagnostics. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2006; 53(9):434-438.
8. Futagawa-Saito K, Makino S, Sunaga F, Kato Y, Sakurai-Komada N, Ba-Thein W, Fukuyasu T. Identification of first exfoliative toxin in *Staphylococcus pseudintermedius*. FEMS Microbiol Lett. 2009; 301(2):176-180.
9. Iyori K, Hisatsune J, Kawakami T, Shibata S, Murayama N, Ide K, Nagata M, Fukata T, Iwasaki T, Oshima K, Hattori M, Sugai M, Nishifuji K. Identification of a novel *Staphylococcus pseudintermedius* exfoliative toxin gene and its prevalence in isolates from canines with pyoderma and healthy dogs. FEMS Microbiol Lett. 2010;312(2):169-75.
10. Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A, De Ryck R, Struelens M, Zinn CE, et al. Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 1574-85.

11. Gustaf Starlander, Stefan Börjesson, Lisa Lundström, Åsa Melhus and Ulrika Grönlund Andersson. Methicillin resistant *S. pseudintermedius* - an emerging nosocomial pathogen in humans hospitals? 2nd ASM-ESCMID Conference on Methicillin-resistant Staphylococci in Animals: Veterinary and Public Health, Washington, USA.
12. Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, Grönlund Andersson U, Finn M, Greko C, Moodley A, Kania SA, Frank LA, Bemis DA, Franco A, Iurescia M, Battisti A, Duim B, Wagenaar JA, van Duijkeren E, Weese JS, Fitzgerald JR, Rossano A, Guardabassi L. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Jun;65(6):1145-54.
13. Petersson AC, Olsson-Liljequist B, Miorner H, Haeggman S. Evaluating the usefulness of spa typing, in comparison with pulsed-field gel electrophoresis, for epidemiological typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a low-prevalence region in Sweden 2000-2004. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16: 456-62.