

ARAŞTIRMA MAKALESİ

RESEARCH ARTICLE

Sağlıklı Köpeklerin Dış Kulak Kanalı İtlen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları

Yahya KUYUCUOĞLU,^{1*} ZülfiKar Kadir SARITAŞ²

Kocatepe Vet J (2010) 3 (2): 19-23

Anahtar Kelimeler
Sağlıklı Köpek
Kulak
Mikroorganizma
Antibiyotik

Key Words
Healthy Dog
Ear
Microorganism
Antibiotic

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı
Afyonkarahisar
Türkiye

²Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Cerrahi Anabilim Dalı
Afyonkarahisar
Türkiye

* Corresponding author

Email: kyuyucuoglu@aku.edu.tr
Tel: 90 272 228 1312
Fax: 90 272 228 1349

ÖZET

Bu çalışma sağlıklı 141 köpeğin dış kulak kanalının mikrobiyolojik muayenesi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla planlandı. Köpek kulaklarından en yüksek oranda *Staphylococcus aureus* (%31.5) tanımlanmıştır. Bu mikroorganizmayı sırasıyla *Streptococcus spp.* (%16.4), *Bacillus spp.* (%12.3), *Staphylococcus intermedius* (%9.5), *Proteus spp.* (%8.2), *Pseudomonas aeruginosa* (%8.2), *Escherichia coli* (%6.8), *Candida spp.* (%4.2) ve *Aspergillus spp.* (%3.5) izledi. İstatistiksel olarak sağlıklı köpeklerin kulak kanalından izole edilen mikroorganizmalar arasındaki farklılık önemli bulundu ($p<0.05$). İzole edilen suşlara antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* ve *Staphylococcus intermedius* türlerinin büyük çoğunluğu amoksisilin/klavulanik asit, ceftiofur ve gentamisine yüksek oranda duyarlı bulundu. Sonuç olarak otitis eksterna tedavisinde gentamisin, amoksisilin/klavulanik asit ve antifungal kombinasyonlarının kullanılmasının yararlı olabileceği kanısına varıldı.

●●●

Identification and Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms Isolated from External Ear Canal of Healthy Dogs

SUMMARY

The study was conducted to determine the microbiological examination and antibiotics susceptibility of the external ear canal of healthy 141 dogs. The most frequently isolated microorganism from dog ears was *Staphylococcus aureus* (31.5%), followed by *Streptococcus spp.* (16.4%), *Bacillus spp.* (12.3%), *Staphylococcus intermedius* (9.5%), *Proteus spp.* (8.2%), *Pseudomonas aeruginosa* (8.2%), *Escherichia coli* (6.8%), *Candida spp.* (4.2%) and *Aspergillus spp.* (3.5%), respectively. A statistical analysis of the results suggest that isolation of these microorganisms is significant ($p<0.05$) in ear canal of healthy dogs. Furthermore, the antimicrobial susceptibility tests of isolated strains were analysed. Majority of the *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* and *Staphylococcus intermedius* strains were highly susceptible to amoxicillin/clavulanic acid, ceftiofur and gentamicin. The study indicates that gentamisin, amoxicillin/clavulanic acid and antifungal agents continue to be useful in the therapy of otitis externa.

GİRİŞ

Köpeklerin dış kulak kanalında bulunan mikroorganizmalar ve otitis externa ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır.^{1,2,3} Fernandez ve ark.⁴ köpek ve kedilerde otitis eksterna prevalansını %5 ile %20 arasında rapor etmişlerdir. Otitis eksterna küçük hayvan kliniklerinde çok yaygın olarak karşılaşılan ve multifaktöriyel etiyojolojiye sahip bir hastalıktır ve hastalığın hazırlayıcı sebepleri arasında; ısı, rutubet, kulak kirliliği, yaş, cinsiyet, ırk, travma, aşırıduyarlılık, otoimmün hastalıklar, anatomik yapı ve pH gibi pek çok neden sayılabileceği gibi, kulak akarları ve yabancı cisimler de predispoze faktörler olarak bilinmektedir.^{2,4,5,6}

Köpek otitis eksterna vakalarından en çok izole edilen mikroorganizmalar arasında *S. aureus* ve *S. intermedius* %30 -%50 oranlarında rapor edilmiştir.^{7,8} Ayrıca otitis eksternalı köpeklerden *Proteus spp.* coagulase negative staphylococci, *E. coli*, *Corynebacterium spp.* ve *Pseudomonas aeruginosa* yaygın olarak izole edilen bakteriler olarak bildirilmektedir ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın kronik otitis eksterna olgularında büyük rol aldığı çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir.^{9,10}

Keskin ve ark.² 81 otitisli köpeğin 79 (%97.5)'undan izolasyon yapıldığını ve en yüksek oranda *S. aureus*, *Malassezia pachydermatitis* (%21.6), *Pseudomonas spp.* (%9.6), *E.coli* ve *Candida spp.* (%2.4) izole ettiklerini bildirmişlerdir. Akay ve ark.¹¹ otitis eksternalı köpeklerden %27.0 *P.aeruginosa*, %18.1 *S. aureus*, %18.1 *S.epidermidis*, %12.1 *Proteus mirabilis*, %9.09 *E.coli*, %6.06 *C. Pyogenes*, %3.03 *S. pyogenes*, %3.03 *Citrobacter spp.* ve %3.03 oranında antrakoid etkenler izole edildiğini rapor etmişlerdir.

Mikotik mikroorganizmalar arasında en yaygın olarak izole edilen tür *Malassezia pachydermatitis*'tir.^{2,12} Ayrıca otitisli ve sağlıklı köpeklerin kulak svap örneklerinden, *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Microsporium spp.* ve *Trichophyton spp.* türlerinin izole edildiği bildirilmektedir.^{4,12,13}

Otitis eksterna vakalarında sıklıkla antibiyotikler kullanılmaktadır. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda antibiyotiklere duyarlılığın değişiklik gösterdiği ve artan oranlarda dirençlilik saptandığı bildirilmektedir.^{1,2,14,15}

Bu çalışmada, sağlıklı köpeklerin dış kulak kanalından alınan svap örneklerinden mikroorganizma izolasyonu ve bu etkenlere karşı antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kulak svap örnekleri: Bu çalışmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kliniklerine getirilen çeşitli ırk, yaş ve cinsiyetteki sağlıklı 141 köpeğe ait kulak svap örnekleri materyal olarak kul-

lanıldı. Kulak svap örnekleri Stuart transport medium (oxid, Basingstoke, UK) içerisine alındı ve 4°C muhafaza edildi.

Kulak svap örneklerinden aerobik bakteri izolasyonu ve identifikasyonu: Köpeklerin kulağından steril svaplarla alınan örnekler, %7'lik koyun Kanlı Agar (Oxoid CM55), MacConkey Agar (Oxoid CM0109) ve Eosin Methylene Blue (EMB) Agar'a (Oxoid CM0069) ekilerek 37°C'de aerobik şartlarda 24-48 saat inkübe edildi. Kanlı Agar'da üreyen bakterilerin koloni morfolojileri ve hemoliz özellikleri incelendi. Elde edilen kültürlerden Gram boyama yapıldıktan sonra koloniler kanlı agara pasajları yapılarak saf kültürleri elde edildi. Svap örneklerinden mantar izolasyonu amacıyla %0.05 kloramfenikol ilave edilmiş Sabouraud Glucose Agar (SGA) kullanıldı. İzole edilen mikroorganizmaların identifikasyonları klasik yöntemlere göre yapıldı.^{16,17} (Çizelge 1).

Antibiyotik duyarlılık testi: İzolasyon ve identifikasyonları yapılan bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri %5 koyun kanı ilave edilmiş Müller Hinton Agar (oxid)'da disk difüzyon testi National Committee for Clinical Laboratory Standards'a göre yapıldı.¹⁸

İstatistikî analiz: Mikrobiyolojik bulguların istatistiksel analizinde Chi-squared test kullanıldı ve $p<0.05$ değeri önemli kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, 141 köpekten alınan svap örneklerinden 73 (%51.7) aerobik bakteri izole edildi. İzole edilen mikroorganizmaların 23 (%31.5)'ü *S. aureus*, 12 (%16.4)'si *Streptococcus spp.*, 9 (%12.3)'ü *Bacillus spp.*, 7 (%9.5)'si *S. intermedius*, 6 (%8.2)'si *proteus spp.* ve *Pseudomonas aeruginosa*, 5 (%6.8)'i *E.coli*, 2 (%2.7)'si *Pasteurella spp.* ve *Citrobacter spp.* ve 1 (%1.3)'i *Acinetobacter spp.* olarak identifiye edildi ($p<0.05$) (Çizelge 1). Ayrıca 141 svap örneğinin 6 (%4.2)'sinden *Candida spp.* ve 5 (%3.5)'inden de *Aspergillus spp.* identifikasyonu yapıldı (Çizelge 2).

İzole edilen bakterilerin %69.8'i danoflaksasine, %57.5'i rifaksimine, %73.9'u amoksisilin klavolonik asite, %46.5'i vankomisine, %45.2'si amoksisiline, %35.6'sı tetrasikline, %27.3'ü penisiline, %23.2'si eritromisine, %53.4'ü gentamisine ve %71.2 si ise ceftiofura duyarlı bulundu (Çizelge 3).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Köpeklerde dış kulak yolunun bakteriyel ve fungal florası ile ilgili olarak dünyada birçok araştırma yapılmıştır.^{1,2,3,4,9,10} Küçük hayvan kliniklerinde otitis eksternanın çok yaygın olarak görüldüğü ve prevalansının %5-20 arasında değiştiği bildirilmiştir.⁴ Bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarının kulak hastalıklarına sekonder olarak katıldığı ve kulak kanalında primer bir hasar oluştuğunda normal florada bulunan mikroorganizmaların sekonder enfeksiyonlara yol açtığı rapor edilmiştir.^{19,20}

Otitis eksternalı köpeklerden sıklıkla *Staphylococcus spp.* olmak üzere, %29.9 *Str. canis*, %14.4 *Proteus spp.* ve %10.3 oranında *E. coli* izole edildiği bildirilmiştir.^{4,5} Keskin ve ark.² klinik olarak otitis eksterna teşhisi konan köpeklere ait klinik materyallerin mikrobiyolojik muayenesi sonucunda %46.9 *S. aureus*, %4.8 *Proteus spp.* ve % 2.4 oranında da *E.coli* izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Penna ve ark.²¹ otitisli köpeklerden %14.3 oranında *S. aureus* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada %31.5 *Staphylococcus spp.*, olmak üzere, %16.4 *Streptococcus spp.*, %8.2 *Proteus spp.* ve %6.8 *E. coli* izolasyon oranları araştırmacıların^{1, 2,5} bulgularına yakın değerlerde bulunmuştur. Keskin ve ark.² ve Lyskova ve ark.¹ yaptıkları çalışmalarda *Pseudomonas aeruginosa* izolasyon oranlarını % 9.6 ve %7.2 olarak rapor etmişlerdir. Sunulan bu çalışmada *P. aeruginosa* %8.2 oranında izole edilmiş ve araştırmacıların bulguları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Köpeklerin dış kulak kanalından izole edilen *S. intermedius*'un toksin üretimi ve süperantijen olma özelliği ile zoonotik öneme sahip bir bakteri türü olabileceği belirtilmektedir.^{22,23,24} Lyskova ve ark.¹ *S. intermedius*'un izolasyon oranının sağlıklı köpeklerde otitisli köpeklere göre daha düşük oranlarda (%24.2) olduğunu rapor etmişlerdir. Oliveira ve ark.³ ise otitisli köpeklerden %54.8 oranında *S. intermedius* izole etmişlerdir. Bu çalışmada sağlıklı köpeklerin kulaklarından alınan svap örneklerinden %9.5 oranında *S. intermedius* izole edilmiştir. Lyskova ve ark.¹ otitisli köpeklerden %3.1 oranında *Candida spp.* ve %2.1 oranında *Aspergillus fumigatus* izolasyonu yaptıklarını, sağlıklı köpeklerin dış kulak kanalından ise maya ve mantar türü izole edilmediğini bildirmişlerdir. Yoshida ve ark.²⁵ sağlıklı köpeklerin kulak kanalından %12.3 oranında maya izole edildiğini rapor etmişlerdir. Benzer çalışmalarda^{4,13} *Candida spp.* ve *Aspergillus fumigatus* izolasyonlarının yapıldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada sağlıklı köpeklerin dış kulak kanalından %4.2 *Candida spp.* ve %3.5 oranında *Aspergillus spp.* izolasyonu yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda^{1,2,3,15,21} ilk sırada *Staphylococcus spp.* izolasyonu görülmekle birlikte diğer bakterilerin farklı oranlarda olduğu dikkati çekmektedir. Bu farklılıkların coğrafik ve değişik ırk özelliklerine bağlı olabileceği belirtilmiştir.²⁶

Sağlıklı ve otitis eksternalı köpeklerden alınan svaplardan izole edilen mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılıkları ile ilgili pek çok çalışmada farklı sonuçlar alınmıştır. Son yıllarda çoğul dirençlilik yaygın bir bulgu olarak gösterilmektedir. Lyskova ve ark.¹ otitisli köpeklerden izole ettikleri 7 *P. aeruginosa* suşunun 6 antibiyotige dirençli bulunduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında benzer oranlarda çoğul dirençlilik saptanmıştır. Bu bulgular antibiyotiklere dirençlilik prevalansının artarak devam ettiğini göstermektedir. Bu çalışmada izole edilen *S. aureus* suşları amoksisilin klavulanik asit ve ceftiofura %91.3, gentamisine %82.6 ve danoflaksasine %65.2 oranlarında duyarlı bulundu. *Staphylococcus spp.* ve *Streptococcus spp.* suşlarının tetrasikline dirençliliği, Gram negatif basillere ise duyarlı bulunması Lyskova ve ark.¹'nın bulguları ile paralellik göstermektedir. Oliveira ve ark.³ *S. intermedius* suşlarının eritromisine (%27.1) dirençli bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada izole edilen *S. intermedius* suşları da (%28.5) yaklaşık olarak aynı oranda dirençli bulunmuştur.

Sonuç olarak, köpeklerin dış kulak kanalından izole edilen mikroorganizmaların çok çeşitlilik gösterdiği ve primer hasara bağlı olarak otitise sebep olabilecek mikroorganizmalar olduğu belirlenmiştir. Genel olarak pek çok bakteri ve mantar türü otitis eksternaya sebep olmakta ve tedavide antibiyotik seçimi oldukça önem taşımaktadır. İzole edilen mikroorganizmalara antibiyotiklerin değişik oranlarda dirençli olduğu dikkate alınmalı ve antibiyotik duyarlılık testleri mutlaka yapılmalıdır. Yapılan bu çalışmada otitis eksterna vakalarında gentamisin ve amoksisilin klavulanik asit yanında antifungal kombinasyonlarının önemli bir tedavi seçeneği olabileceği kanısına varılmıştır ■

Çizelge 1. Sağlıklı köpeklerin dış kulak kanalından izole edilen bakteriler
Table 1. Isolation of bacteria from external ear canal of healthy dogs

Mikroorganizma	(n)	(%)
<i>S. aureus</i> .	23	31.5
<i>Streptococcus spp.</i>	12	16.4
<i>Bacillus spp.</i>	9	2.3
<i>S. intermedius</i>	7	9.5
<i>Proteus spp.</i>	6	8.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	6	8.2
<i>E.coli</i>	5	6.8
<i>Pasteurella spp.</i>	2	2.7
<i>Citrobacter spp.</i>	2	2.7
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	1.3
Toplam	73	100

Çizelge 2. Sağlıklı köpeklerin dış kulak kanalından izole edilen mantarlar
Table 2. Isolation of fungi from external ear canal of healthy dogs

Türler	n =141 svap	%
<i>Candida spp.</i>	6	4.2
<i>Aspergillus spp.</i>	5	3.5

Çizelge 3. Sağlıklı köpeklerin dış kulak kanalından izole edilen mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları
Table 3. Antibiotics susceptibility of bacteria isolated from external ear canal of healthy dogs

Mikroorganizma	Suş Sayısı	Danofloksasin		Rifaksimin		Amoksisilin Klavulanik asit		Vankomisin		Amoksisilin		Tetrasiklin		Penisilin		Eftromisin		Gentamisin		Ceftiofur	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>S. aureus</i>	23	15	65.2	19	82.6	21	91.3	18	78.2	12	52.1	7	30.4	10	43.4	9	39.1	19	82.6	21	91.3
<i>S. intermedius</i>	7	5	71.4	5	71.4	6	85.7	5	71.4	4	57.1	2	28.5	3	42.8	2	28.5	5	71.4	6	85.7
<i>Streptococcus spp.</i>	12	8	66.6	7	58.3	10	83.3	5	41.7	7	58.3	2	16.6	4	33.3	2	16.6	10	83.3	10	83.3
<i>E.coli</i>	5	4	80.0	3	60.0	4	80.0	2	40.0	3	60.0	4	80.0	1	20.0	1	20.0	2	40.0	3	60.0
<i>Bacillus spp.</i>	9	7	77.7	7	77.7	9	100	4	44.4	7	77.7	3	33.3	2	22.2	2	22.2	3	33.3	6	66.6
<i>Proteus spp.</i>	6	4	66.6	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	5	83.3	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	3	50.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	2	33.3
<i>Pasteurella spp.</i>	2	2	100	-	0.0	1	50.0	-	0.0	-	0.0	2	100	-	0.0	1	50.0	-	0.0	1	50.0
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	1	100	1	100	1	100	-	0.0	-	0.0	1	100	-	0.0	-	0.0	-	0.0	1	100
<i>Citrobacter spp.</i>	2	2	100	-	0.0	2	100	-	0.0	-	0.0	2	100	-	0.0	-	0.0	-	0.0	2	100
Toplam	73	51	69.8	42	57.5	54	73.9	34	46.5	33	45.2	26	35.6	20	27.3	17	23.2	39	53.4	52	71.2

KAYNAKLAR

1. Lyskova P, Vydralova M, Mazurova J (2007) Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria and yeasts isolated from healthy dogs and dogs with otitis externa. *J Vet Med A*, 54: 559-563.
2. Keskin O, Kökçü L, Akan M (1999) Otitis eksternalı köpeklerden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 46: 163-168.
3. Oliveira LC, Leite CAL, Brilhante RSN, Carvalho CBM (2008) Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis. *Can Vet J*, 49: 785-788.
4. Fernandez G, Barboza G, Villalobos A, Para O, Finol G, Ramirez RA (2006) Isolation and identification of microorganisms present in 53 dogs suffering otitis externa. *Rev Cient-Fac Cien V*, 16:23-30.
5. Blanco JL, Guedeja-Marron J, Blanco I, Garcia ME (2000) Optimum incubation condition for the isolation of yeasts from canine otitis externa. *J Vet Med B*, 47:599-605.
6. Doyle RS, Skelly C, Bellenger CR (2004) Surgical management of 43 cases of chronic otitis externa in the dog. *Ir Vet J*, 57: 22-30.
7. Besignor E, Legeay D, Medaille C (2000) Prospective study on otitis externa in the adult dog in France. *Prat Med Chir Anim*, 35: 405-414.
8. May ER, Hnilica KA, Frank LA, Jones RD, Bemis DA (2005) Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma, or both. *J Am Vet Med Assoc*, 227: 928-931.
9. Martin Barrasa JL, Lupiola Gomez P, Gonzales Lama Z, Tejedor Junco TM (2000) Antibacterial susceptibility pattern of *Pseudomonas* strains isolated from chronic canine otitis externa. *J Vet Med B*, 47:191-196.
10. Tejedor Junco TM, Martin Barrasa JL (2002) Identification of antimicrobial susceptibility of coagulase positive Staphylococci isolated from healthy dogs and dogs suffering from otitis externa. *J Vet Med B*, 49:419-423.
11. Akay Ö, Aslanbey D, Arda M, Candaş A, Aydın N, İzgür M, Diker S (1984) Otitis eksternalı köpeklerden izole edilen mikroorganizmalar ve bunların antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine bir araştırma. *A Ü Vet Fak Derg*, 31: 452-462.
12. Crespo MJ, Abarca ML, Cabanes FC (2000) Atypical lipid dependent *Malassezia* species isolated from dogs with otitis externa. *J Clin Microbiol*, 38: 2383-2385.
13. Kumar A, Singh K, Sharma A (2002) Prevalence of *Malassezia pachydermatitis* and other organisms in healthy and infected dogs ears. *Isr Vet Med Assoc*, 57: 145-148.
14. Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobial resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 54: 321-332.
15. Lilenbaum W, Veras M, Blum E, Souza GN (2000) Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. *Lett Appl Microbiol*, 31(1): 42-45.
16. Quinn P J, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell Publishing Professional, Iowa.
17. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (1994) Facultatively Anaerobic Gram-negative Rods (in) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed., 175-290, Williams and Wilkins, 428 East Preston Street, Baltimore, Maryland 21202, USA.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2001) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Eleventh Informational Supplement, NCCLS document 100-S11, Weyne, PA, 21.
19. Kiss G, Radvanyi S, Szigeti G (1997) New combination for the therapy of canine otitis externa. I. Microbiology of otitis externa. *J Small Anim Pract*, 38:51-56.
20. Hariharan H, Coles M, Poole D, Lund L, Page R (2006) Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *Can Vet J*, 47: 253-255.
21. Pena Bi Vargas R, Medeiros L, Martins GM, Martins Rr, Lilenbaum W (2010) Species distribution and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from canine otitis externa. *Vet Dermatol*, 21(3): 292-296.
22. Becker K, Keller B, Eiff C (2001) Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus intermedius*. *Appl Environ Microbiol*, 67: 5551-5557.
23. Hendricks A, Schuberth H, Schueler K, Lloyd DH (2002) Frequency of superantigen-producing *Staphylococcus intermedius* isolated from canine proderma and proliferation-inducing potential of superantigen in dogs. *Res Vet Sci*, 73: 273-277.
24. Teraucki R, Sato H, Hasegawa T, Yamaguchi T, Aizawa C, Maehara N (2003) Isolation of exfoliative toxin from *Staphylococcus intermedius* and its local toxicity in dogs. *Vet Microbiol*, 94: 19-29.
25. Yoshida N, Naito F, Fukata T (2002) Studies of certain factors affecting the microenvironment and microflora of the external ear of the dog in health and disease. *J Vet Med Sci*, 64: 1145-1147.
26. Graham-Mize CA, Rosser EJ, (2004) Comparison of microbial isolates and susceptibility from external ear canal of dogs with otitis externa. *J Am Anim Hosp Assoc*, 40: 102-108.