

개의 외이도에서 분리한 포도상구균의 항생제 내성 및 병독성 유전자

조재근* · 이정우 · 김정옥 · 김정미

대구광역시보건환경연구원

Antimicrobial resistance and virulence factors in staphylococci isolated from canine otitis externa

Jae-Keun Cho*, Jung-Woo Lee, Joung-Ok Kim, Jeong-Mi Kim

Metropolitan Health & Environmental Research Institute, Daegu 42183, Korea

The aim of this study was to investigate the prevalence of antimicrobial resistance and virulence factors in staphylococci isolated from canine otitis externa. A total 295 causative microorganisms were isolated. The most common isolated species were *Staphylococcus (S) pseudintermedius* (94 isolates) followed by *Pseudomonas aeruginosa* (60 isolates), *S. schleiferi* (25 isolates), *Escherichia coli* (23 isolates) and *Proteus mirabilis* (20 isolates). Staphylococci isolates were showed high resistance to penicillin (78.6%), erythromycin (55.9%), tetracycline (52.4%), clindamycin (51.7%) and ciprofloxacin (42.8%). Of the 145 staphylococci isolates, 49 (33.8%) methicillin-resistant staphylococci (MRS) were observed, distributed among *S. pseudintermedius* (n=34), *S. schleiferi* (n=6), *S. epidermis* (n=4), *S. hominis* (n=2), *S. aureus*, *S. caprae* and *S. saprophyticus* (n=1, respectively). Forty-three (87.8%) of 49 MRS and 10 (10.4%) of 96 methicillin-susceptibility staphylococci harbored *mecA* gene. About 80% of MRS were multidrug-resistant with resistance to at least one antibiotic in three or more antibiotic classes. Resistance genes *blaZ* (93/114, 81.5%), *ermB* (35/81, 43.2%), *ermC* (3/81, 3.7%), *aacA-aphD* (50/54, 92.5%), *tetM* (69/76, 90.7%) and *tetK* (6/76, 7.8%) were detected among resistant isolates. Virulence factors genes *lukF* and *lukS* were found in 100%(145/145) and 43.4%(63/145), respectively. Genes encoding *ermA*, *eta*, *etb* and *tsst* were not detected. To the best of our knowledge, this is the first study which investigated for the presence of genes encoding antimicrobial resistance and staphylococcal toxins in staphylococci isolated from canine otitis externa. A continuous monitoring and surveillance program to prevent antimicrobial resistance in companion animals is demanded.

Received June 24, 2022
Revised July 25, 2022
Accepted July 27, 2022

Corresponding author:

Jae-Keun Cho

E-mail: salmonella00@korea.kr

https://orcid.org/0000-0003-3498-8101

Key Words: Dog, Staphylococcus, Antimicrobial resistance, Resistance genes, Virulence factors

서론

개에서 가장 흔한 귀의 질환인 외이염은 세균, 효모균, 진균 등의 여러 감염원이 복합적으로 나타나는 호발 질환으로 발생률은 7.5%~16.5%이다(Miller 등, 2013). *Staphylococcus* spp. 는 사람과 동물의 피부나 점막에 상재하는 기회감염균인 동시에 개의 임상 시료에서 가장 빈번히 분리되는 병원체로 외이염

과 농피증 등의 주요 원인균으로 알려져 있다. 한편 *Pseudomonas* spp., *Escherichia (E) coli*, *Proteus* spp., *Malassezia pachydermatis* 등도 외이염의 원인균으로 많이 분리되고 있다 (Oliveira 등, 2005; De Martino 등, 2016).

외이염의 치료를 위해 선택되는 약제는 국소적인 투약과 전신적인 투약이 병행되는 것이 일반적이지만 우선적으로 경험적 항생제가 사용되고 있고 이러한 항생제의 장기간 사용은 치



료의 실패 또는 내성균 출현의 원인이 되고 있다(Petersen 등, 2002). 반려동물은 항생제 내성의 저장소 역할을 하며, 항생제 내성균 또는 내성 유전자는 직간접적으로 사람 및 환경에 전파될 수 있다(Guardabassi 등, 2004). Staphylococci에서 항생제 내성은 여러 가지 내성 유전자에 의해 발현된다. 특히 methicillin 내성 staphylococci (MRS)는 사람과 동물의 주요 병원체로 내성 획득은 penicillin-binding protein-2a의 생산을 암호화하는 *mecA* 유전자에 의해 결정된다(Loncaric 등, 2019). MRS는 β -lactam 계열의 항생제뿐만 아니라 aminoglycosides, macrolides, tetracyclines 등과 같은 계열의 항생제에도 내성을 보이는 다약제 내성균으로, MRS에 감염되면 사용할 수 있는 항생제가 극히 제한되므로 치료에 어려움을 줄 수 있다(Perreten 등, 2010; Dziva 등, 2015).

Staphylococci는 다양한 독성 인자를 생산하며 숙주의 면역반응을 방해하여 중증의 감염을 일으킨다. 이들 독소로는 식중독의 원인이 되는 staphylococcal enterotoxin, toxic shock syndrome을 유발하는 toxic shock syndrome toxin (*tsst*), 백혈구를 파괴하는 백혈구 용해 독소인 leukocidin, 피부박탈효소인 exfoliative toxin A와 B (*eta*와 *etb*) 등이 있다(Futagawa-Saito 등, 2004; Noguchi, 2006; Bertelloni 등, 2015).

최근까지 국내에서 외이염, 농피증 같은 피부질환이 있는 개에서 staphylococci에 관한 연구의 대부분은 *Staphylococcus* (*S*) *pseudintermedius*를 대상으로 실시되고 있다. 이번 연구에서는 외이염의 증상을 보인 개를 대상으로 원인 미생물을 분리하고, 이들 분리균 중 staphylococci에 대해서는 항생제 내성 양상 및 MRS의 출현 빈도를 조사하였다. 아울러 특정 계열의 항생제에 대해 내성을 보인 균주에 대해서는 약제 내성 유전자의 보유현황을 알아보았다. 또한 staphylococci의 병원성과 관련이 있는 것으로 알려진 병독성 유전자의 분포 정도를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

균 분리 및 동정

2019년 1월부터 2020년 12월까지 대구지역 동물병원에서 외이염의 증상을 보인 개 330두의 외이도에서 시료를 채취하여 균 분리를 실시하였다. 멸균 면봉에 스왑한 시료를 Blood agar (아산제약, Korea)와 MacConkey agar (Oxoid, UK)에 직접 도말하여 37°C에서 24시간 배양 후, 의심되는 집락은 Trypti-

case soy agar (Oxoid, UK)에서 순수 분리 후 MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany)를 이용하여 동정하였다.

항생제 감수성 시험

항균제 감수성 시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute의 기준(2017)에 따라 디스크 확산법으로 실시하였다. 항생제 디스크는 Oxoid사(UK)의 oxacillin (1 μ g, OX), cefoxitin (30 μ g, FOX), penicillin (10 UI, PC), gentamicin (10 μ g, GM), amikacin (30 μ g, AN), tobramycin (10 μ g, TB), erythromycin (15 μ g, EM), tetracycline (30 μ g, TC), minocycline (30 μ g, MC), ciprofloxacin (5 μ g, CIP), enrofloxacin (10 μ g, ENR), clindamycin (2 μ g, DA), trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75 μ g, SXT), chloramphenicol (30 μ g, CM), rifampin (5 μ g, RD), quinupristin-dalfopristin (15 μ g, QD), linezolid (30 μ g, LZD) 등 17종을 공시하였다. *S. pseudintermedius*와 *S. schleiferi*는 OX에, 나머지 staphylococci는 FOX에 내성인 균주를 MRS로 판정하였다. 항균제 감수성 시험의 표준균주로는 *S. aureus* ATCC 25923을 사용하였다.

Genomic DNA 추출

공시균에 대한 genomic DNA 추출은 boiling 법으로 실시하였다. 우선 tryptic soy broth (Oxoid, UK)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 진탕 배양하여 얻은 균 부유액 1.0 mL를 13,000 rpm에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 다음 멸균 증류수 0.5 mL로 재 부유하였다. 부유액은 끓는 물에 10분간 가열한 다음 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 template DNA로 사용하였다.

약제 내성 유전자 및 병독성 유전자의 검출

약제 내성 유전자(*mecA*, *blaZ*, *aacA-aphD*, *tetM*, *tetK*, *ermA*, *ermB* 및 *ermC*)와 병독성 유전자(*lukS*, *lukF*, *eta*, *etb* 및 *tsst*)의 검출은 PCR을 이용하여 이전 연구자들의 방법에 따라 실시하였다(Nakaminami 등, 2020; Silva 등, 2021). PCR 반응은 Maxime PCR PreMix (*i*-StarTag, Intron, Korea)에 각각의 10 pmol primer 1 μ L와 template DNA 1 μ L를 넣은 후, 멸균된 증류수를 첨가하여 최종 반응량이 20 μ L되게 하

여 Tprofessional Thermal Cycler (Biometra, Germany)를 이용하여, 초기 denaturation 후, denaturation, annealing, extension 과정을 반복하고 최종 extension을 실시하였다. 증폭된 산물은 1.5% agarose gel에서 100 V로 30분간 전기영동을 실시한 후 GelDoc Go Imaging System (Bio-RAD, USA)을 이용하여 확인하였다.

결 과

외이염 증상을 보인 개 330두의 외이도에서 시료를 채취하여 균 분리를 실시한 결과 총 36종 295주의 원인 미생물이 분리되었다(Table 1). *Staphylococcus* spp.와 *Pseudomonas* spp.가 각각 145주(49.1%)와 64주(21.6%)로 많이 분리되었다. 균종별로는 *S. pseudintermedius*가 94주(31.9%)로 가장 많았고 다음은 *Pseudomonas (P) aeruginosa* 60주(23.3%), *S. schleiferi* 25주(8.5%), *E. coli* 23주(7.8%), *Proteus (Pr) mirabilis* 20주(6.8%), *Enterococcus faecalis* 8주(2.7%), *S. aureus* 6주(2.0%), *S. caprae*, *S. hominis* 및 *Sphingomonas paucimobilis* 각각 5주(1.7%) 순이었다. 나머지 균주들은 5주 이하로 분리되었다. 이번 연구에서 수행된 모든 실험은 외이염의 원인균으로 가장 많이 분리된 staphylococci를 대상으로만 실시하였다.

Staphylococci 145주에 대한 항생제 감수성 시험 결과는 Table 2와 같다. Staphylococci의 86.2% (125주)가 사용된 한 종류 이상의 약제에 내성을 나타내었으며, 67.5% (98주)는 3가지 이상 계열의 항생제에 대해 내성을 보인 다약제 내성균이었다(Table 3). 전반적으로 staphylococci는 PC에 78.6%로 가장 높은 내성률을 나타내었고 다음은 EM 55.9%, TC 52.4%, DA 51.4%, CIP 42.8%, GM 34.5%, ENR 33.1%, SXT 30.3% 및 TB 20.7% 순이었다. MC, AN, CM, RD, QD 및 LZD에 대하여는 5% 이하의 내성률을 나타내었다. 항생제 감수성 결과를 균종별로 비교해 볼 때, *S. pseudintermedius*는 PC, EM, DA 및 TC에 각각 95.7%, 77.7%, 75.5% 및 74.5%의 높은 내성률을 나타내었고 CIP, CM, GM, SXT, ENR 및 TB에는 47.9~39.4%의 중등도 내성률을 보였다. 한편 분리균의 수는 적었지만 *S. aureus*는 CIP에 66.7%, *S. caprae*는 PC와 EM에 각각 100%와 60%, *S. hominis*는 PC에 80%, *S. epidermis*는 PC와 TB에 각각 100%, GM에 75%, CIP에 50%의 높은 내성률을 나타내었고, 사용된 나머지 항생제에 대해서는 전 균주가 높은 감수성을 나타내었다. *S. schleiferi*의 경우 CIP, ENR 및 PC에 24~16%의 낮은 내성률을 나타내었을 뿐 나머지 항생제에 대해서는

Table 1. Distribution of 295 bacteria isolated from dogs with otitis externa

Genes	Bacterial species	No. of isolates (%)	
<i>Enterobacteriaceae</i> (n=54)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 (0.7)	
	<i>K. pneumoniae</i>	2 (0.7)	
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (0.3)	
	<i>Escherichia coli</i>	23 (7.8)	
	<i>Morganella morganii</i>	1 (0.3)	
	<i>Proteus mirabilis</i>	20 (6.8)	
	<i>Serratia marcescens</i>	5 (1.7)	
<i>Enterococcus</i> spp. (n=9)	<i>E. faecalis</i>	8 (2.7)	
	<i>E. faecium</i>	1 (0.3)	
<i>Pseudomonas</i> spp. (n=64)	<i>P. aeruginosa</i>	60 (20.3)	
	<i>P. lutea</i>	2 (0.7)	
	<i>P. putida</i>	1 (0.3)	
	<i>P. stutzeri</i>	1 (0.3)	
	<i>S. aureus</i>	6 (2.0)	
<i>Staphylococcus</i> spp. (n=145)	<i>S. caprae</i>	5 (1.7)	
	<i>S. chromogenes</i>	1 (0.3)	
	<i>S. epidermis</i>	4 (1.4)	
	<i>S. hemolyticus</i>	1 (0.3)	
	<i>S. hominis</i>	5 (1.7)	
	<i>S. lentus</i>	1 (0.3)	
	<i>S. lugdunensis</i>	1 (0.3)	
	<i>S. pseudintermedius</i>	94 (31.9)	
	<i>S. saprophyticus</i>	1 (0.3)	
	<i>S. schleiferi</i>	25 (8.5)	
	<i>S. warneri</i>	1 (0.3)	
	Others (n=23)	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	5 (1.7)
		<i>Kocuria kristinae</i>	3 (1.0)
		<i>K. rosea</i>	3 (1.0)
<i>Granulicatella elegans</i>		3 (1.0)	
<i>Corynebacterium auriscanis</i>		2 (0.7)	
<i>Micrococcus luteus</i>		2 (0.7)	
<i>Streptococcus parasanguinis</i>		2 (0.7)	
<i>Alloiococcus otitis</i>		1 (0.3)	
<i>Malassezia pachydermatis</i>		1 (0.3)	
<i>Pasteurella canis</i>		1 (0.3)	
Total		295 (100)	

100% 감수성을 나타내었다.

Staphylococci 145주 중 OX 또는 FOX에 내성을 보인 MRS는 *S. pseudintermedius* 34주, *S. schleiferi* 6주, *S. aureus* 1주 *S. caprae* 1주, *S. hominis* 2주, *S. epidermis* 4주, *S. saprophyticus* 1주 등 총 49주(33.8%)이었다. Methicillin에 내성 또는 감수성을 보인 균주를 대상으로 *mecA* 유전자의 보유현황

Table 2. Antimicrobial susceptibility of 145 staphylococci isolated from dogs with otitis externa

Antimicrobial agents	No. of resistant isolates (%)							Total
	<i>S. pseudintermedius</i> (n=94)	<i>S. schleiferi</i> (n=25)	<i>S. aureus</i> (n=6)	<i>S. caprae</i> (n=5)	<i>S. hominis</i> (n=5)	<i>S. epidermis</i> (n=4)	Others* (n=6)	
oxacillin or ceftiofur	34 (36.2)	6 (24.0)	1 (16.7)	1 (20.0)	2 (40.0)	4 (100)	1 (16.7)	49 (33.8)
penicillin	90 (95.7)	4 (16.0)	2 (33.3)	5 (100)	4 (80.0)	4 (100)	5 (83.3)	114 (78.6)
gentamicin	42 (44.7)	0 (0.0)	1 (16.7)	0 (0.0)	3 (0.0)	3 (75.0)	1 (16.7)	50 (34.5)
amikacin	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (25.0)	1 (16.7)	2 (1.4)
tobramycin	22 (23.4)	0 (0.0)	1 (16.7)	0 (0.0)	1 (20.0)	4 (100)	2 (33.3)	30 (20.7)
erythromycin	73 (77.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (60.0)	2 (40.0)	1 (25.0)	2 (33.3)	81 (55.9)
tetracycline	70 (74.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	2 (40.0)	2 (40.0)	1 (16.7)	76 (52.4)
minocycline	3 (3.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (16.7)	4 (2.8)
ciprofloxacin	45 (47.9)	6 (24.0)	4 (66.7)	2 (40.0)	1 (20.0)	2 (50.0)	2 (33.3)	62 (42.8)
enrofloxacin	37 (39.4)	5 (20.0)	2 (33.3)	2 (40.0)	1 (20.0)	0 (0.0)	1 (16.7)	48 (33.1)
clindamycin	71 (75.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	2 (40.0)	1 (25.0)	0 (0.0)	75 (51.7)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	41 (43.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	2 (40.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	44 (30.3)
chloramphenicol	45 (47.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)
rifampin	2 (2.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.4)
Quinupristin-Dalfopristin	5 (5.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.4)
linezolid	6 (6.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (4.1)

**S. chromogenes*, *S. hemolyticus*, *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*.

Table 3. Distribution of multi-drug resistant in 145 staphylococci isolated from dogs with otitis externa

No. of antimicrobial classes	No. of resistant isolates (%)							Total
	<i>S. pseudintermedius</i> (n=94)	<i>S. schleiferi</i> (n=25)	<i>S. aureus</i> (n=6)	<i>S. caprae</i> (n=5)	<i>S. hominis</i> (n=5)	<i>S. epidermis</i> (n=4)	Others (n=6)	
3	6	1	1			2	2	12 (8.2)
4	6		1		1		1	9 (6.2)
5	15			1	1	1		18 (12.4)
6	23			1				24 (16.5)
7	16				1	1		18 (12.4)
8	13							13 (8.9)
9	4							4 (2.7)
Total	83 (67.5)	1 (4.0)	2 (33.3)	2 (40.0)	3 (60.0)	4 (100)	3 (50.0)	98 (67.5)

**S. chromogenes*, *S. hemolyticus*, *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*.

을 조사한 결과는 Table 4와 같다. Methicillin에 내성을 보인 49주 중 *mecA* 유전자는 *S. pseudintermedius* 29주(85.3%), *S. schleiferi* 6주(100%), *S. aureus* 1주(100%), *S. hominis* 2주(100%), *S. epidermis* 4주(100%), *S. saprophyticus* 1주(100%) 등 43주(87.8%)에서 검출되었다. 반면 *mecA* 유전자는 methicillin 감수성 staphylococci (MSS)에서도 10주(*S. pseudintermedius* 7주, *S. schleiferi* 2주 및 *S. aureus* 1주)가 확인되었다.

각각의 항생제에 내성을 보인 균주를 대상으로 내성 유전자

의 보유현황을 조사한 결과는 Table 5와 같다. *blaZ* 유전자는 81.5% (93/114; *S. pseudintermedius* 73주, *S. schleiferi* 3주, *S. aureus* 1주, *S. caprae* 2주, *S. hominis* 3주, *S. epidermis* 4주, *S. chromogenes* 1주, *S. lentus* 1주, *S. lugdunensis* 1주 및 *S. warneri* 1주)에서 검출되었다. *ermB* 유전자는 43.2% (35/81; *S. pseudintermedius* 34주, *S. caprae* 1주, *S. lentus* 3주 및 *S. warneri* 1주)에서, *ermC*는 3.7% (3/81; *S. hominis* 2주 및 *S. epidermis* 1주)에서 검출되었으나, *ermA* 유전자는 검출되지 않았다. *aacA-aphD* 유전자는

Table 4. Distribution of *mecA* gene in 145 staphylococci isolated from dogs with otitis externa

Species	No of isolates	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus</i> spp.		Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus</i> spp.	
		No. of isolates	<i>mecA</i> (+)	No. of isolates	<i>mecA</i> (+)
<i>S. aureus</i>	6	1	1 (100)	5	1 (20.0)
<i>S. caprae</i>	5	1	0 (0.0)	4	0 (0.0)
<i>S. chromogenes</i>	1	0	0 (0.0)	1	0 (0.0)
<i>S. epidermis</i>	4	4	4 (100)	0	0 (0.0)
<i>S. hemolyticus</i>	1	0	0 (0.0)	1	0 (0.0)
<i>S. hominis</i>	5	2	2 (100)	3	0 (0.0)
<i>S. lentus</i>	1	0	0 (0.0)	1	0 (0.0)
<i>S. lugdunensis</i>	1	0	0 (0.0)	1	0 (0.0)
<i>S. pseudintermedius</i>	94	34	29 (85.3)	60	7 (11.7)
<i>S. saprophyticus</i>	1	1	1 (100)	0	0 (0.0)
<i>S. schleferi</i>	25	6	6 (100)	19	2 (10.5)
<i>S. warneri</i>	1	0	0 (0.0)	1	0 (0.0)
Total	145	49	43 (87.8)	96	10 (10.4)

Table 5. Prevalence of antimicrobial resistance genes in antimicrobial resistant 145 staphylococci isolated from dogs with otitis externa

Species	No. of positive isolates (%)						
	<i>blaZ</i>	<i>ermA</i>	<i>ermB</i>	<i>ermC</i>	<i>aacA-aphD</i>	<i>tetK</i>	<i>tetM</i>
<i>S. aureus</i>	1/2 (50.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	1/1 (100)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)
<i>S. caprae</i>	2/5 (40.0)	0/3 (0.0)	1/3 (33.3)	0/3 (0.0)	0/0 (0.0)	0/1 (0.0)	1/1 (100)
<i>S. chromogenes</i>	1/1 (100)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/1 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)
<i>S. epidermis</i>	4/4 (100)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)	1/1 (100)	3/4 (75.0)	2/2 (100)	0/2 (0.0)
<i>S. hominis</i>	3/4 (75.0)	0/2 (0.0)	0/2 (0.0)	2/2 (100)	3/3 (100)	1/2 (50.0)	1/2 (50.0)
<i>S. lentus</i>	1/1 (100)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)
<i>S. lugdunensis</i>	1/1 (100)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)
<i>S. pseudintermedius</i>	76/90 (84.4)	0/73 (0.0)	34/73 (34)	0/73 (0.0)	42/43 (97.6)	3/70 (4.2)	66/70 (94.2)
<i>S. saprophyticus</i>	0/1 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)
<i>S. schleferi</i>	3/4 (75.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)
<i>S. warneri</i>	1/1 (100)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)	0/1 (0.0)	1/1 (100)	0/0 (0.0)	0/0 (0.0)
Total	93/114 (81.5)	0/81 (0.0)	35/81 (43.2)	3/81 (3.7)	50/54 (92.5)	6/76 (7.8)	69/76 (90.7)

92.5% (50/54; *S. pseudintermedius* 42주, *S. aureus* 1주, *S. hominis* 3주, *S. epidermis* 3주 및 *S. warneri* 1주)에서 검출되었다. *tetK* 유전자는 7.8% (6/76; *S. pseudintermedius* 3주, *S. hominis* 1주, *S. epidermis* 2주)에서, *tetM* 유전자는 90.7% (69/76; *S. pseudintermedius* 66주, *S. caprae* 1주, *S. hominis* 1주, *S. epidermis* 2주 및 *S. lentus* 1주)에서 검출되었다.

Staphylococci 145주를 대상으로 병독성 유전자의 보유 현황을 조사한 결과는 Table 6과 같다. *lukF* 유전자는 공시균 모두에서 검출되었으나 *lukS* 유전자는 63주(43.4%) (*S. pseudintermedius* 55주, *S. schleferi* 1주, *S. aureus* 1주, *S. hominis* 1주, *S. epidermis* 3주, *S. lugdunensis* 1주 및 *S.*

awarneri 1주)에서 검출되었다. 반면 *eta*, *etb* 및 *tsst* 유전자는 검출되지 않았다.

고 찰

개의 외이염은 다양한 종류의 미생물에 의해 발생하고 있으며 피부질환과 함께 재발률이 높은 질환으로 수의 임상에서 중요하게 다뤄지고 있다. 이번 연구에서 외이염의 원인균으로 *S. pseudintermedius*와 *P. aeruginosa*가 가장 흔히 검출되었고, 다음 *S. schleferi*, *E. coli*, *Pr. mirabilis*도 많이 검출되어 이전 연구자들의 결과와 일치하였다(Hariharan 등, 2005; De Martino 등, 2016). 한편 *S. schleferi*의 경우 최근 들어 외이

Table 6. Prevalence of virulence genes in 145 staphylococci isolated from dogs with otitis externa

Species	No of isolates	No. of positive isolates (%)				
		<i>lukS</i>	<i>lukF</i>	<i>eta</i>	<i>etb</i>	<i>tsst</i>
<i>S. aureus</i>	6	1 (16.7)	6 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. caprae</i>	5	0 (0.0)	5 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. chromogenes</i>	1	0 (0.0)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. epidermis</i>	4	3 (75.0)	4 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. hemolyticus</i>	1	0 (0.0)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. hominis</i>	5	1 (20.0)	5 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. lentus</i>	1	0 (0.0)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. lugdunensis</i>	1	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. saprophyticus</i>	1	0 (0.0)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. pseudintermedius</i>	94	55 (58.5)	94 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. schleiferi</i>	25	1 (4.0)	25 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>S. warneri</i>	1	1 (100)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	145	63 (43.4)	145 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

염의 원인균으로 출현 빈도가 증가하고 있다(Kwon 등, 2017; Lee 등, 2019; Nakaminami 등, 2020).

많은 종류의 항생제가 개발되어 치료에 효과적으로 이용되고 있으나 무분별한 사용으로 항생제 내성 균주의 발생과 빈도가 증가 추세에 있어 심각한 문제가 되고 있다. 아울러 항생제 내성 양상은 국가, 지역은 물론 임상에서 사용하는 항생제의 종류와 노출 빈도, 분리균의 유래에 따라 서로 달라질 수 있다(Normand 등, 2000). 이번 연구에서 staphylococci는 PC에 가장 높은 내성률을 나타내었고, EM, TC 및 DA에도 높은 내성률을 나타내었다. 이러한 결과는 내성률에는 다소 차이가 있었지만 staphylococci에서 이들 약제에 높은 내성률을 나타내었다는 이전 연구자들의 결과와 일치하였다(Kwon 등, 2017; Park 등, 2017; Bertelloni 등, 2021). 이들 약제 외 CIP와 ENR에도 비교적 높은 내성률을 나타내었는데, 이는 외이염의 1차 치료약으로 fluoroquinolone 계열의 약제를 많이 사용하는 것과 관련이 있을 것으로 생각된다. 반면 AN, MC, RD, QD 및 LZD에는 높은 감수성을 나타내어 아직까지는 이들 약제가 개 외이염의 치료제로서 효과가 있는 것으로 나타났다. 이번 연구에서 가장 많이 분리된 *S. pseudintermedius*의 경우 PC 95.7%, EM 77.7%, DA 75.5% 및 TC 74.5%의 높은 내성률을 나타내었다. 이는 비슷한 환경에서 실시한 Cho 등(2016)의 결과와는 유사하였으나, 외국의 다른 연구자들의 결과보다는 이번 연구에서 내성률이 상당히 높았다(Hariharan 등, 2006; Olivera 등, 2008; De Martino 등, 2016; Bertelloni 등, 2021). 이는 외이염 같은 개 질환의 치료를 위해 외국에서 보다 국내에서 항생제를 자주 사용하고 있는 것과 관련이 있을 거라고 생각된다. 한편 이번

연구에서 분리균의 수는 적었지만 *S. aureus*는 CIP, *S. caprae*는 PC와 EM, *S. hominis*는 PC. *S. epidermis*는 PC, TB, GM 및 CIP에 높은 내성률을 나타내었을 뿐 사용된 대부분 항생제에 감수성을 나타내어, 항생제 내성은 균종에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다.

최근 들어 개와 고양이에서 MRS의 발생은 점차 증가하는 추세에 있으며, MRS 감염은 질병 치료를 위한 항생제의 부적절한 투여, 외과적 수술로 인한 장기간 입원 등 여러 가지 위험 요소와 관련이 있다(van Duijkeren 등, 2011). 이번 연구에서 staphylococci의 33.8%가 MRS로 확인되었다. 이는 동물병원에서 입원 또는 내원한 개에서 Moon 등(2012)의 18.2%, Jang 등(2014)의 27.3%보다는 높았고, Kwon 등(2017)의 40.5%보다는 다소 낮았지만, 국내에서 MRS의 분리 빈도는 점점 증가함을 알 수 있었다. 마찬가지로 외국의 경우도 MRS의 분리 빈도는 최근 들어 증가하고 있다(Chanayat 등, 2021; Lilenbaum 등, 2000; Bertelloni 등, 2021). 이번 연구에서 MRS는 *S. pseudintermedius*, *S. schleiferi*, *S. aureus*, *S. caprae*, *S. hominis*, *S. epidermis*, *S. saprophyticus*에서 검출되었다. 특히 staphylococci에서 가장 흔한 methicillin 내성 *S. pseudintermedius* (MRSP)의 검출률은 36.2%로, 대구지역 개와 고양이에서 Cho 등(2016)의 20.9%, 경북지역 개와 고양이에서 Byun 등(2018)의 14.3%, 인천지역 반려견에서 Kim 등(2019)의 23.3%, 대구지역 개에서 Kwon 등(2017)의 45.0%보다는 낮았다. 이와 같은 MRSP 분리 빈도의 차이는 지역적 분포, 질병의 유무, 시료의 종류 및 채취 부위 등에 따라 달라질 수 있을 것으로 생각된다. 또한 인의에서 원내감염의 원인균

으로 많이 분리되는 *S. epidermis*에서 methicillin 내성 균주의 출현 빈도는 다른 staphylococci와 비교 시 높았다(Kern과 Perreten 등, 2013). 한편 이번 연구에서는 확인되지 않았지만 *S. warneri*, *S. lentus*, *S. hemolyticus* 및 *S. hominis*에서도 methicillin 내성 균주가 보고되고 있다(Jang 등, 2014; Kwon 등, 2017; Loncaric 등, 2019). MRS 균주의 대부분은 3가지 계열 이상의 항생제에 대해 적어도 한 종류 이상의 약제에 내성을 보인 다약제 내성균으로 알려져 있다(Chanayat 등, 2021). 이번 연구에서도 MRS 균주의 77.5%가 다약제 내성균으로 확인되었다(not show data). 또한 MRS 균주는 penicillin 같은 β -lactam 계열의 항생제뿐만 아니라 TC, EM, CIP 및 DA 같은 non- β -lactam 계열의 항생제에 대하여도 높은 내성을 나타내었다(Perreten 등, 2010; Chanayat 등, 2021). MRS의 출현은 수의 임상 분야에서 치료약제의 부재라는 심각한 문제를 초래할 수 있다. 이번 연구에서 *mecA* 유전자는 OX에 양성인 49주 중 43주, OX에 음성인 96주 중 10주에서 확인되었다. 이처럼 OX에 양성되면서 *mecA* 음성인 균주는 *mecA* 유전자의 변이나 균주의 저장 과정에서 소실 또는 β -lactam의 과잉 생산 등에 의한 다른 methicillin 내성의 기전을 고려해 볼 수 있으며, OX에 음성인 *mecA* 양성인 균주는 충분한 양의 PBP-2'를 생성하지 못하기 때문인 것으로 알려져 있다(Chamber, 1997).

국내 개에서 분리된 staphylococci에서 항생제 내성 유전자나 병독성 유전자에 관한 연구는 드물다. 이번 연구에서 PC 내성균의 93%가 *blaZ* 유전자를 보유하고 있었다. PC 내성은 staphylococci에서 가장 흔하며 staphylococcal β -lactamase 생성은 *blaZ* 유전자에 의해 조절된다(Priyantha 등, 2016). Macrolide 내성은 *erm* 유전자에 의해 내성이 발현하는 것으로 EM뿐만 아니라 DA에도 내성을 나타낸다(Kadlec와 Schwarz, 2012). 이번 연구에서 *ermB* 유전자가 43.2%로 가장 많이 검출되었다. 이는 개 유래 *S. pseudintermedius*에서 *erm* 유전자 중 *ermB* 유전자가 가장 많이 검출되었다고 보고한 이전 연구자들의 결과와 유사하였다(Nakaminami 등, 2020; Silva 등, 2021). 반면 다른 연구자들은 개 유래 staphylococci에서 *ermC* 유전자가 가장 많이 검출되었다고 보고하여 차이가 있었다(Ruzauskas 등, 2015; Loncaric 등, 2019). 이번 연구에서 *ermA* 유전자는 검출되지 않았다. 반면 Ruzauskas 등(2015)은 개 유래 *S. pseudintermedius*와 *S. lentus*에서, Pérez 등(2020)은 소 유방염에서 분리된 *S. aureus*에서 *ermA* 유전자의 검출을 보고하였다. Aminoglycoside (GM, TB 및 AN) 내성 유전자인 *aacA-aphD*의 검출률은 92.5%로 매우 높았다. 이는 개 유래 MRSP 균주에서 Nakaminami 등(2020)의

94.4%와 89.3%의 성적과 유사하였다. 한편 aminoglycoside 내성 유전자인 *aac(6)-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(3')-IIIa* 및 *ant(4)-Ia*에 대해서도 개 유래 staphylococci에서 보고가 되고 있어 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다(Ruzauskas 등, 2015; Silva 등, 2021). TC 내성 기전은 *tetA-tetE*, *tetK* 등에 의한 active efflux 기작과 *tetM* 등에 의한 ribosome protection 기작이 알려져 있다(Roberts, 1996). 이번 연구에서 TC에 내성을 보인 76주 중 *tetM*은 90.7%, *tetK*는 7.8%에서 검출되어, TC 내성은 주로 *tetM* 유전자와 관련이 있음을 확인할 수 있었다. 이는 개 유래 *S. pseudintermedius*에서 *tetM* 유전자가 많이 검출되었다고 보고한 이전 연구자들의 결과와 일치하였다(Nakaminami 등, 2020; Silva 등, 2021). 반면 Ruzauskas 등(2015)은 개와 고양이 등 애완동물 유래 MRS 균주에서 *tetK*가 *tetM* 보다 많이 검출되었다고 하였다.

임상에서 분리되는 staphylococci는 다양한 세포의 독소와 병독성 인자를 생성하여 병원성을 일으키는 원인이 되고 있다. *S. pseudintermedius*는 *S. aureus*의 Pantone-Valentine leukocidin (PVL)에 유사한 bi-component cytotoxin을 생산하며, 세포독성은 *lukF*와 *lukS* 유전자의 상호작용에 의해 이루어진다(Futagawa-Saito 등, 2004). 이번 연구에서 *lukF* 유전자는 모든 균주에서 검출되어 이전 연구자들의 결과와 유사하였으나, *lukS* 유전자는 staphylococci의 43.4%, *S. pseudintermedius*의 58.5%에서 검출되어 상당한 차이가 있었다(Futagawa-Saito 등, 2004; Silva 등, 2021). *LukF*와 *lukS* 유전자의 존재는 외이염의 병원성과 관련이 있는 것으로 생각된다. 반면 다른 연구자들은 반려동물 유래 staphylococci에서 *lukF*와 *lukS* 유전자는 검출되지 않았다고 보고하였다(Loncaric 등, 2019; Bertelloni 등, 2021). 국내 개 유래 staphylococci에서 *lukF*와 *lukS* 유전자의 검출에 관한 보고는 이번 연구가 처음이다. 이번 연구에서 독성 쇼크 증상을 일으키는 *tsst*와 *S. aureus* 유래 exfoliative toxin인 *eta*와 *etb* 유전자는 검출되지 않았다(Yoon 등, 2010; Youn 등, 2011; Lee 등, 2019). 일반적으로 이들 병독성 유전자는 사람의 인체 병원체와 관련이 있어 동물 유래 staphylococci에서 이들 유전자의 검출은 드문 것으로 알려져 있다(Pérez 등, 2020; Bertelloni 등, 2021).

이상의 결과 외이염을 가진 개에서 분리된 staphylococci에서 높은 항생제 내성률, 다약제 내성균 및 병독성 유전자를 보유하는 균주의 출현은 수의 임상 분야에서 치료 약제의 선택에 어려움을 줄 수 있다. 항생제의 신중한 사용과 더불어 내성균의 확산 방지를 위한 철저한 감염관리가 요구된다.

결론

외이염 증상을 보인 개에서 총 295주의 원인 미생물을 분리하였고, 이중 staphylococci 145주에 대해서는 항생제 내성 양상, 약제 내성 유전자 및 병독성 유전자의 보유현황을 조사하였다. 외이염의 원인균으로 *S. pseudintermedius* (94주)가 가장 흔히 분리되었고 다음은 *P. aeruginosa* 60주(23.3%), *S. schleiferi* 25주(8.5%), *E. coli* 23주(7.8%) 및 *Pr. mirabilis* 20주(6.8%) 순이었다. Staphylococci는 PC 78.6%, EM 55.9%, TC 52.4%, DA 51.4% 및 CIP 42.8%의 높은 내성률을 나타내었다. Staphylococci의 33.8% (49주)가 MRS로 확인되었으며, *mecA* 유전자는 MRS 균주의 87.8%, MSS 균주의 10.4%에서 검출되었다. MRS 균주의 77.5%는 3가지 이상 계열의 항생제에 대해 내성을 보인 다약제 내성균이었다. 각각의 항생제에 내성을 보인 staphylococci에서 *blaZ* 유전자는 81.5% (93주/114주), *ermB* 43.2% (35주/81주), *ermC* 3.7% (3주/81주), *aacA-aphD* 92.5% (50주/54주), *tetK* 7.8% (6주/76주) 및 *tetM* 유전자는 90.7% (69주/76주)에서 검출되었다. *LukF*와 *lukS* 유전자는 각각 100% (145주/145주) 및 43.3% (63주/145주)에서 검출되었다. 반면 *ermA*, *eta*, *etb* 및 *tsst* 유전자는 검출되지 않았다. 반려동물은 사람과 매우 밀접한 관계를 맺고 있어 개에서 항생제 내성균의 출현은 사람으로의 전파가 가능하다. 동물병원에서 항생제의 신중한 사용과 체계적인 관리가 요구된다.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

ORCID

Jae-Keun Cho, <https://orcid.org/0000-0003-3498-8101>

Jung-Woo Lee, <https://orcid.org/0000-0002-1808-6047>

Joung-Ok Kim, <https://orcid.org/0000-0003-1863-3116>

Jeong-Mi Kim, <https://orcid.org/0000-0002-1654-2192>

REFERENCES

Bertelloni F, Cagnoli G, Ebani VV. 2021. Virulence and antimicrobial resistance in canine *Staphylococcus* spp. isolates. *Microorganisms* 9: 515.

Bertelloni F, Fratini F, Ebani VV, Galiero A, Turchi B, Cerri D. 2015. Detection of genes encoding for enterotoxins, TSST-1, and biofilm production in coagulase-negative staphylococci from bovine bulk tank milk. *Dairy Sci & Technol* 95: 341-352.

Byun JH, Sohn JH, Lee YM, Jeong HH, Oh TH. 2018. Detection of methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP) isolated from dogs and cats in Kyungpook Area. *Korean J Vet Serv* 41: 229-237.

Chambers HF. 1997. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 10: 781-791.

Chanayat Y, Akatvipat A, Bender JB, Punyapornwithaya V, Meeyam T, Anukool U, Pichpol U. 2021. The SCC mec Types and Antimicrobial resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus* species isolated from dogs with superficial pyoderma. *Vet Sci* 13: 85.

Cho JK, Lee MR, Kim JM, Kim HD. 2016. Methicillin-resistant or susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs and cats. *Korean J Vet Serv* 39: 175-181.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

De Martino L, Nocera FP, Mallardo K, Nizza S, Masturzo E, Fiorito F, Iovane G, Catalanotti P. 2016. An update on microbiological causes of canine otitis externa in Campania region, Italy. *Asian Pac J Trop Biomed* 6: 384-389.

Dziva F, Wint C, Auguste T, Heeraman C, Dacon C, Yu P, Koma LM. 2015. First identification of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains among coagulase-positive staphylococci isolated from dogs with otitis externa in Trinidad, West Indies. *Infect Ecol Epidemiol* 5: 29170.

Futagawa-Saito K, Sugiyama T, Karube S, Sakurai N, Ba-Thein W, Fukuyasu T. 2004. Prevalence and characterization of leukotoxin-producing *Staphy-*

- lococcus intermedius* in isolates from dogs and pigeons. J Clin Microbiol 42: 5324-5326.
- Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH. 2004. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. J Antimicrob Chemother 54: 321-332.
- 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.
- Jang Y, Bae Dh, Cho JK, Bahk GJ, Lim SK, Lee YJ. 2014. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. isolated from dogs in Korea. Jpn J Vet Res 62: 163-170.
- Kadlec K, Schwarz S. 2012. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. Vet Dermatol 23, 276-282.
- Kern A, Perreten V. 2013. Clinical and molecular features of methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci of pets and horses. J Antimicrob Chemother 68: 1256-1266.
- Kim KM, Cho MH, Lee SH, Kim KH, Lee JG, Lee SM. 2019. A monitoring survey on antimicrobial resistance of bacterial isolates from companion dogs in Incheon, Korean J Vet Serv 42: 53-60.
- Kwon GH, Kim JE, Seo KW, Kim YB, Jeon HY, Lee KW, Oh TH, Yi SJ, Kim SJ, Kim KS, Song JC, Kim TW, Lee YJ. 2017. Antimicrobial resistance of methicillin-resistant staphylococci isolates from dog ears in Korea. J Vet Clin 34: 335-340.
- Lee GY, Lee HH, Hwang SY, Hong J, Lyoo KS, Yang SJ. 2019. Carriage of *Staphylococcus schleiferi* from canine otitis externa. Antimicrobial resistance profiles and virulence factors associated with skin infection. J Vet Sci 20: e6.
- Lilenbaum W, Veras M, Blum E, Souza GN. 2000. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. Lett Appl Microbiol 31: 42-45.
- Loncaric I, Tichy A, Handler S, Szostak MP, Tickert M, Diab-Elschahawi M, Spersger J, Künzel F, 2019. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus* sp. (MRS) in different companion animals and determination of risk factors for colonization with MRS. Antibiotics 8: 36.
- Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. 2013. Muller and Kirk's small animal dermatology. 7th ed. pp. 741-767. Toronto, Ontario: Elsevier.
- Moon BY, Youn JH, Shin S, Hwang SY, Park YH. 2012. Genetic and phenotypic characterization of methicillin-resistant staphylococci isolated from veterinary hospitals in South Korea. J Vet Diagn Invest 24: 489-498.
- Nakaminami H, Okamura Y, Tanaka S, Wajima T, Murayama N, Noguchi N. 2020. Prevalence of antimicrobial-resistant staphylococci in nares and affected sites of pet dogs with superficial pyoderma. J Vet Med Sci 83: 214-219.
- Noguchi N, Nakaminami H, Nishijima S, Kurokawa I, So H, Sasatsu M. 2006. Antimicrobial agent of susceptibilities and antiseptic resistance gene distribution among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from patients with impetigo and staphylococcal scalded skin syndrome. J Clin Microbiol 44: 2119-2125.
- Normand EH, Gibson NR, Reid SWJ, Carmichael S, Taylor DJ. 2000. Antimicrobial-resistance trends in bacterial isolates from companion-animal community practice in the UK. Prev Vet Med 46: 267-278.
- Oliveira LC, Leite CA, Brilhante RS, Carvalho CB. 2008. Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. Can Vet J 49: 785-788.
- Park SY, Bae SG, Kim JT, Oh TH. 2017. Identification and antimicrobials susceptibility of bacteria isolated from dogs with chronic otitis externa. Vet Clin 34: 23-26.
- Pérez VKC, Custódio DAC, Silva EMM, de Oliveira J, Guimarães AS, Brito MAVP, Souza-Filho AF, Heineemann MB, Lagr AP, Dorneles EM. 2020. Virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil. Braz J Microbiol 51: 2111-2122.

- Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, Andersson UG, 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. 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 65: 1145-1154.
- Petersen AD, Walker RD, Bowman MM, Schott HC, Rosser EJ, 2002. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples over a 6-year period (1992-1997). *J Am Anim Hosp Assoc* 38: 407-413.
- Priyantha R, Gaunt MC, Rubin JE. 2016. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, *Can Vet J* 57: 65-69.
- Roberts, MC. 1996. Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility and distribution. *FEMS Microbiol Rev* 19: 1-24.
- Ruzauskas M, Couto N, Kerziene S, Siugzdiniene R, Klimiene I, Virgailis M, Pomba, C. 2015. Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance patterns of methicillin-resistant staphylococci in Lithuanian pet animals. *Acta Vet Scand* 57: 27.
- Silva V, Oliveira A, Manageiro V, Caniça M, Contente D, Capita R, Alonso-Calleja C, Carvalho I, Capelo JL, Igrejas G, Poeta P. 2021. Clonal diversity and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma. *Microorganisms* 9: 482.
- van Duijkeren E, Catry B, Greko C, Moreno MA, Pomba MC, Pyörälä S, Ruzauskas M, Sanders P, Threlfall EJ, Torren-Edo J, Törneke K; Scientific advisory group on antimicrobials (SAGAM). 2011. Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother* 66: 2705-2714.
- Yoon JW, Lee GJ, Lee SY, Park C, Yoo JH, Park HM. 2010. Prevalence of genes for enterotoxins, toxic shock syndrome toxin 1 and exfoliative toxin among clinical isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from canine origin. *Vet Dermatol* 21: 484-489.
- Youn JH, Koo HC, Ahn KJ, Lim SK, Park YH. 2011. Determination of staphylococcal exotoxins, SCCmec types, and genetic relatedness of *Staphylococcus intermedius* group isolates from veterinary staff, companion animals, and hospital environments in Korea. *J Vet Sci* 12: 221-226.