

Descripción de la microbiota aerobia y anaerobia facultativa presente en las encías de 30 felinos domésticos con enfermedad periodontal.

Description of the aerobic microbiota and anaerobic microbiota present phisican in the gums gives 30 domestic felines with disease periodontal.

Francisco Silva MV, MSc. Biomédicas¹; **Isabel Quintana** MV²; **Corita Candia** MV³.

Fecha de recepción : 24 de Mayo de 2011.
Fecha de aceptación : 03 de Septiembre de 2011.

Resumen

Objetivo: Describir la microbiota bacteriana aerobia y anaerobia facultativa presente en cavidad oral de felinos domésticos con enfermedad periodontal.

Materiales y método: Las muestras se obtuvieron a partir de un total de 30 felinos con enfermedad periodontal atendidos en distintas clínicas de la ciudad de Viña del Mar, mediante un hisopado enérgico en la unión de los dientes y las encías del maxilar superior, derecho e izquierdo, entre el segundo y tercer premolar. Una vez obtenidas, fueron conservadas en medio Stuart, para ser transportadas al laboratorio de microbiología de la Universidad Santo Tomás, sede limonares, Viña del Mar. Se cultivó la muestra contenida en el hisopo en caldo nutritivo; a partir de la muestra enriquecida en el caldo nutritivo, se realizó el cultivo en agar sangre y agar MacConkey. Posteriormente, se realizó un examen macroscópico de las colonias que crecieron en ambas placas. Cada colonia descrita fue identificada y aislada de forma independiente en caldo nutritivo; al mismo tiempo, cada colonia fue sometida a tinción de Gram para su descripción microscópica.

Resultados: La muestra correspondió a 14 machos y 16 hembras, seis domésticos pelo largo, 17 domésticos pelo corto y siete de pedigree; de ellos, 12 consumían alimento extruído y 18 mezcla (extruído mas alimento casero o húmedo). 12 tenían hábitos de vida indoor y 18 outdoor. 11 de ellos estaban enteros, nueve hembras esterilizadas y 10 machos castrados. De las 75 colonias aisladas, el 73,33% corresponde a Gram positivo y 26,67 a Gram negativo. 48% de los hallazgos corresponde al género *Staphylococcus* sp., 25% a la familia Enterobacteriaceae, 14,66% Streptococcus sp., 10,67% Bacillus sp. y 1,34% Pseudomonas sp.

Palabras clave: Microbiota, enfermedad periodontal, felino.

Summary

Objective. To describe the aerobic and anaerobic bacterial microbiota present in oral cavity of domestic cats with periodontal disease.

Materials and methods. Samples were obtained from a total of 30 cats with periodontal disease treated at different clinics in the city of Viña del Mar, with a vigorous swabbing at the junction of the teeth and gums of the upper jaw, right and left, between the second and third premolar. Once obtained, were kept in the middle Stuart to be transported to the microbiology laboratory of the Universidad Santo Tomás, Viña del Mar. The sample was cultured in nutrient broth swa., from the fortified sample at nutrient broth, the cultivation was carried out on blood agar and MacConkey agar. Subsequently, we performed gross examination of colonies that grew on both plates. Each colony was identified and isolated as described separately in nutrient broth, at the same time, each colony was subjected to Gram staining for microscopic description.

Results. The sample consisted of 14 males and 16 females, 6 domestic long hair, short hair 17 domestic and 7 of pedigree, of which 12 and 18 consumed extruded feed mix (homemade or extruded food more moist). 12 had indoor lifestyle and 18 outdoor. 11 of them were whole, 9 females and 10 castrated male sterile. Of the 75 colonies isolated, 73.33% corresponds to the Gram positive and Gram negative 26.67. 48% of the findings correspond to the genus *Staphylococcus* sp., 25% of the family Enterobacteriaceae, 14.66% Streptococcus sp., 10.67% Bacillus sp. and 1.34% Pseudomonas sp.

Key words : Microbiota, periodontal disease, cats.

¹Médico Veterinario. U. de C. Docente cátedra microbiología UST. Viña del Mar.

²Médico Veterinario. UST.

³Médico Veterinario. U. de C. Clínica Veterinaria New Dog. Concón.

Introducción

Las enfermedades orales y dentales son hallazgos comunes en la mayoría de los animales domésticos y especialmente en los gatos. En muchos casos, cuando son detectadas por los dueños, las enfermedades ya tienen una presentación bastante avanzada.¹

En la cavidad oral de los gatos es posible encontrar una amplia serie de microorganismos que son componentes de la flora normal, entre estos se encuentran los géneros *Pasteurella sp*, *Actynomices sp*, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus sp* y *Escherichia coli*.^{2,3}

La exacerbación de esta flora normal acompañada con la contaminación oportunista de otras bacterias durante el transcurso de un trastorno a nivel bucal, puede agravar el desarrollo de una enfermedad periodontal. En los animales, la placa dental bacteriana y la enfermedad periodontal pueden afectar la salud sistémica, observándose en algunos casos cambios histológicos en corazón, pulmones, riñón e hígado.⁴

La diversidad de razas, el cambio de hábitos en los pacientes y sus propietarios, tanto en la alimentación, manejo *indoor* u *outdoor*, status reproductivo y observación por los propietarios de la acumulación de placa dental, en mayor o menor medida, también ayudan a cambiar la presentación de patologías bucales en los gatos.

El conocimiento de la flora aerobia y anaerobia facultativa presente durante el transcurso de la enfermedad periodontal es fundamental para elegir una terapia adecuada durante el manejo de esta patología.

El objetivo de este trabajo correspondió a identificar los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos presentes en las encías de felinos con enfermedad periodontal.

Materiales y Métodos

Las muestras se obtuvieron a partir de un total de 30 felinos con enfermedad periodontal, atendidos en distintas clínicas veterinarias de la comuna de Viña del Mar.

De cada felino se consignaron los siguientes datos: fecha de la consulta, nombre, raza, sexo, edad, tipo de alimento, status reproductivo, higiene bucal y examen periodontal, con el fin de establecer la presencia de enfermedad periodontal.

Aquellos que presentaron, al menos, dos signos clínicos como dolor, reticencia a la palpación de la

encía, halitosis, sangrado gingival, edema gingival, retracción gingival, exposición de la furcación, hiperplasia gingival y movilidad dental, fueron considerados como felinos positivos a la presencia de enfermedad periodontal.

La muestra se obtuvo de un hisopado enérgico en la unión de los dientes y las encías del maxilar superior, derecho e izquierdo entre el segundo y tercer premolar.^{5,6}

Una vez obtenidas las muestras, fueron conservadas en medio Stuart, para ser transportadas al laboratorio. Posteriormente, se cultivó la muestra contenida en el hisopo en caldo nutritivo durante 24 horas en horno Pasteur a 37° C. Posteriormente, a partir de la muestra enriquecida en el caldo nutritivo, se realizó el cultivo en agar sangre (medio no selectivo) y agar MacConkey (medio diferencial para microorganismos Gram negativos), utilizando el mismo protocolo de 24 horas en horno Pasteur a 37° C.

Una vez transcurrido este tiempo, se realizó un examen macroscópico de las colonias que crecieron en ambas placas, considerando color, forma, elevación, bordes, luz, superficie y hemólisis. Cada colonia descrita fue identificada con un número en cada placa y aislada de forma independiente en caldo nutritivo, siendo nuevamente colocadas en horno Pasteur a 37° C durante 24 horas; al mismo tiempo, cada colonia fue sometida a tinción de Gram para su descripción microscópica.

La descripción microscópica, consistió en reconocer la tinción Gram, forma y agrupación de los microorganismos.

Los resultados se analizaron en base a la identificación morfológica, macroscópica y microscópica de cada colonia bacteriana aislada de las placas de agar, comparando los resultados con ilustraciones macroscópicas y microscópicas para hacer una tipificación de cada género bacteriano. Los datos obtenidos se registraron utilizando estadística descriptiva.

Resultados y Discusión

De un total de 30 felinos domésticos con enfermedad periodontal muestreados, en su mayoría los felinos correspondieron a hembras (53,4%), que consumen dieta mixta seca y húmeda (60%), de hábitos callejeros o *outdoor* (60%) y esterilizados quirúrgicamente (63,4%). No se encontraron ejemplares que consumieran solo dieta húmeda. En cuanto a la raza, la mayoría (56,6%) correspondió a gatos domésticos de pelo corto, seguidos por los gatos de pedigree (23,4%) y gatos domésticos de pelo largo (20%).

Se aisló un total de 75 colonias a partir de las muestras sembradas en agar sangre y agar McConkey. La distribución de las colonias según la tinción Gram demuestra que el 73,33% de los casos (55 colonias) correspondió a Gram positivo y el restante 26,67% a Gram negativos.

Los resultados microscópicos se obtuvieron observando a un aumento de 100X para cada una de las colonias aisladas, teñidas con tinción Gram previamente. Los resultados obtenidos indican que el 62,66% de la muestra corresponde a cocáceas Gram positivo, seguido de bacilos Gram negativos (26,68%) y bacilos Gram positivos (10,66%). Tabla 1.

Tabla 1. Frecuencias y porcentajes de bacterias bucales felinos domésticos distribuidos según tinción Gram.

Morfología Microscópica	n	Porcentaje
Cocáceas Gram Positivas	47	62,66%
Bacilos Gram Positivos	8	10,66%
Bacilos Gram Negativos	20	26,68%
Total	75	100%

Se determinaron cuatro géneros de agentes bacterianos, que corresponden a *Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Streptococcus sp.*, A ellos se adicionan tres géneros que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*: *Escherichia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* Tabla 2.

Tabla 2. Frecuencias y porcentajes de bacterias bucales según género o familia y especies bacterianas aisladas.

Género o familia y especie bacterianas.	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	8	10,67%
<i>Staphylococcus sp.</i>	36	48%
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	25,33%
<i>Staphylococcus intermedius</i>	17	22,67%
<i>Enterobacteriaceae</i>	19	25,33%
<i>Escherichia coli</i>	8	10,66%
<i>Klebsiella sp.</i>	7	9,33%
<i>Enterobacter sp.</i>	4	5,34%
<i>Streptococcus sp.</i>	11	14,66%
<i>Enterococcus faecalis</i>		
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	1,34%

El género *Staphylococcus sp.* se aisló en mayor proporción y alcanzó casi un 50% del total de las colonias aisladas y concuerda con Talan y colaboradores (1999)⁷, quienes en su estudio determinaron que el género *Staphylococcus sp.* es uno de los más comúnmente aislados a partir de la cavidad oral de felinos y otros animales domésticos.

La especie *Staphylococcus intermedius* corresponde al 22,67% del total de las colonias aisladas. Esta especie de estafilococos es una de las más importantes desde el punto de vista patológico en diversas especies de animales domésticos⁸ y puede causar infecciones en encía, piel, tracto urinario y sistema nervioso, en numerosas especies animales.⁹

La especie *Staphylococcus intermedius* junto a la especie *Staphylococcus aureus* son los más comúnmente aislados. Talan y col. (1999)⁷ y Krauss (2003)¹⁰ consideran a estas especies como potenciales patógenos involucrados en zoonosis transmitidas de animales al hombre. Es más, Lilenbaum y colaboradores (1999)¹¹ consideran que la especie *Staphylococcus intermedius* puede ser un patógeno potencialmente invasivo y relativamente común aislado a partir de mordeduras desde animales al hombre.

Lilenbaum y colaboradores (1999)¹¹ demostraron que la especie *Staphylococcus intermedius* es la bacteria más comúnmente aislada de las especies de *Staphylococcus* a partir de la saliva de gatos. Según ellos, este hallazgo está correlacionado con el hábito que tienen los felinos de acicalarse a ellos mismos y puede haber una similitud de esta especie con aquellas encontradas en la piel.

La segunda colonia más aislada es la familia de las *Enterobacteriaceae*, con aproximadamente 25,33% del total de todas las colonias aisladas. Según Bailie y colaboradores (1978)¹², el grupo de las enterobacterias es comúnmente aislado desde la cavidad oral de animales. Estas bacterias Gram negativas producen endotoxinas que podrían ser los causales de desórdenes sistémicos en animales; pueden llegar a producir desórdenes orales como halitosis, gingivitis, periodontitis y, a menudo, estomatitis, que pueden ir acompañados de dolor, pus o pérdida dental.¹³

La familia de las *Enterobacteriaceae* comprende un amplio grupo de microorganismos que forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal en animales, que dentro de la cavidad oral permanecen en muy bajas proporciones como microbiota oral, a excepción de que exista una enfermedad preexistente.¹⁴

Este estudio demostró que en felinos domésticos con enfermedad periodontal existe prevalencia de bacterias Gram negativas pertenecientes a la familia de la *Enterobacteriaceae* y concuerda con Betancourth y colaboradores (2006)¹⁴, quienes exponen que los principales microorganismos implicados en una enfermedad periodontal son las especies del género *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, y *Escherichia coli*.

El género *Streptococcus sp.* fue aislado en tercer lugar (14,66%). Según Talan y colaboradores (1999)⁷, el género *Streptococcus sp.* es uno de los géneros más comúnmente aislados desde la cavidad oral de felinos junto al género *Staphylococcus sp.*

Bacillus sp. fue aislado en una proporción de 10,67%. Este género se registró solo a partir de ocho muestras y no fue posible determinar mediante características microscópicas alguna especie de éste género en particular, por lo que se necesitan pruebas bioquímicas para determinar la especie.

Sólo en un felino se aisló el género *Pseudomonas sp.* (1,33%); además, se registró que cuando el género *Pseudomonas sp.* creció en el agar de cultivo, éste contaminaba todo el cultivo haciendo imposible el aislamiento de otro género bacteriano.

De un total de 75 colonias aisladas, los resultados obtenidos según raza, tipo de alimentación, estilo de vida se muestran en las tablas 3 a 12:

El predominio de la familia de las enterobacterias es mayoritariamente en felinos con alimentación en base a mezclas. Este último resultado concuerda con Girard y colaboradores (2002)⁷, que describieron que en animales que tienen su alimentación en base a mezclas existe un predominio de bacterias Gram negativas.

Tabla 3. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos de pelo largo.

Felinos domésticos pelo largo.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	3	4%
<i>Staphylococcus sp.</i>	9	12%
<i>S. aureus</i>	5	6,66%
<i>S. intermedius</i>	4	5,34%
<i>Pseudomonas sp.</i>	0	0
<i>Streptococcus sp.</i>	1	1,33%

Tabla 4. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos de pelo corto.

Felinos domésticos pelo corto.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	4	5,33%
<i>Staphylococcus sp.</i>	22	29,33%
<i>S. aureus</i>	11	14,66%
<i>S. intermedius</i>	11	14,67%
<i>Streptococcus sp.</i>	7	9,33%
<i>Enterobacteriaceae</i>	12	16%
<i>E.coli</i>	6	8%
<i>Klebsiella sp.</i>	3	4%
<i>Enterobacter sp.</i>	3	4%

Tabla 5. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos de raza o pedigree.

Felinos de raza		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	1	1,33%
<i>Staphylococcus sp.</i>	5	6,66%
<i>S. aureus</i>	3	4%
<i>S. intermedius</i>	2	2,66%
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	1,33%
<i>Streptococcus sp.</i>	4	5,33%
<i>Enterobacteriaceae</i>	6	8%
<i>E.coli</i>	2	2,66%
<i>Klebsiella sp.</i>	4	5,34%

Tabla 6. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos con alimentación en base a extruido.

Felinos de raza		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	4	5,33%
<i>Staphylococcus sp.</i>	16	21,33%
<i>S. aureus</i>	8	10,66%
<i>S. intermedius</i>	8	10,67%
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	1,33%
<i>Streptococcus sp.</i>	2	2,66%
<i>Enterobacteriaceae</i>	3	4%
<i>E.coli</i>	2	2,66%
<i>Klebsiella sp.</i>	1	1,34%

Tabla 7. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos con alimentación en base a dieta mixta húmeda/seca.

Alimentación en base a dieta mixta.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	4	5,33%
<i>Staphylococcus sp.</i>	20	26,66%
<i>S. aureus</i>	11	14,66%
<i>S. intermedius</i>	9	12%
<i>Streptococcus sp.</i>	10	13,33%
Enterobacteriaceae	15	20%
<i>E.coli</i>	6	8%
<i>Klebsiella sp.</i>	6	8%
<i>Enterobacter sp</i>	3	4%

Tabla 8. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos con hábitos de vida indoor.

Hábitos de vida indoor.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	1	1,33%
<i>Staphylococcus sp.</i>	12	16%
<i>S. aureus</i>	6	8%
<i>S. intermedius</i>	6	8%
<i>Pseudomonas</i>	1	1,33%
<i>Streptococcus sp.</i>	7	9,33%
Enterobacteriaceae	2	2,66%
<i>E.coli</i>	1	1,33%
<i>Klebsiella sp.</i>	1	1,33%

Tabla 9. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos con hábitos de vida outdoor.

Hábitos de vida outdoor.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	7	9,33%
<i>Staphylococcus sp.</i>	24	32%
<i>S. aureus</i>	13	17,34%
<i>S. intermedius</i>	11	14,66%
<i>Streptococcus sp.</i>	5	6,66%
Enterobacteriaceae	16	21,33%
<i>E.coli</i>	7	9,33%
<i>Klebsiella sp.</i>	6	8%
<i>Enterobacter sp</i>	3	4%

Tabla 10. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos no esterilizados.

Estatus reproductivo enteros.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	2	2,66%
<i>Staphylococcus sp.</i>	11	14,66%
<i>S. aureus</i>	7	9,33%
<i>S. intermedius</i>	4	5,33%
<i>Streptococcus sp.</i>	6	8%
Enterobacteriaceae	12	16%
<i>E.coli</i>	4	5,33%
<i>Klebsiella sp.</i>	7	9,33%
<i>Enterobacter sp</i>	1	1,34%

Tabla 11. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos de sexo hembras y ooferohisterectomizadas.

Hembras con status reproductivo esterilizadas.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	1	1,33%
<i>Staphylococcus sp.</i>	12	16%
<i>S. aureus</i>	4	5,33%
<i>S. intermedius</i>	8	10,67%
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	1,33%
<i>Streptococcus sp.</i>	2	2,66%
Enterobacteriaceae	2	2,66%
<i>E.coli</i>	1	1,33%
<i>Enterobacter sp</i>	1	1,33%

Tabla 12. Frecuencias y porcentajes de género o familia y especie bacteriana en felinos domésticos de sexo masculino y orquiectomizados.

Machos con status reproductivo castrado.		
Género o familia y especie bacteriana	n	Porcentaje
<i>Bacillus sp.</i>	5	6,66%
<i>Staphylococcus sp.</i>	13	17,33%
<i>S. aureus</i>	9	12%
<i>S. intermedius</i>	4	5,33%
<i>Streptococcus sp.</i>	4	5,33%
Enterobacteriaceae	4	5,33%
<i>E.coli</i>	3	4%
<i>Enterobacter sp</i>	1	1,33%

Conclusiones

Los felinos domésticos con enfermedad periodontal tienen un mayor predominio de bacterias Gram positivas sobre bacterias Gram negativas.

Los géneros más frecuentemente aislados a partir de muestras obtenidas de la cavidad oral de felinos domésticos con enfermedad periodontal fueron *Staphylococcus sp.*, familia *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus sp.* y *Bacillus sp.*

Los felinos domésticos de pelo corto son aquellos donde más géneros bacterianos se aislaron. Dentro de este estrato, el género *Staphylococcus sp.* fue el que más se aisló.

Las especies *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus intermedius* fueron aquellas que por sus características macroscópicas más se identificaron.

Aquellos felinos domésticos que su alimentación es en base a mezclas tienen un alto predominio bacteriano por sobre aquellos alimentados solo por alimento extruido. El género que más predominó en este estrato fue el género *Staphylococcus sp.*

En los felinos domésticos con estilos de vida *outdoor* se aislaron un mayor número de bacterias a diferencia de felinos domésticos con hábitos de vida *indoor*. El género *Staphylococcus sp.* también fue aquel que se aisló con mayor frecuencia en ellos.

En los estratos de estatus reproductivo no existieron diferencias relevantes en número y proporción del género *Staphylococcus sp.* a diferencia de la familia *Enterobacteriaceae*, donde en el estrato de felinos domésticos con estatus reproductivo "enteros" fue aislado con mayor frecuencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1.- Wigg R, Lobprise H. 1997. Veterinary dentistry: principles and practice. Wiley-Blackwell Edition. Edición ilustrada. 1997. Pp: 55-57.
- 2.- Carter G, Wise D. 2004. Essentials of veterinary bacteriology and mycology. Iowa State press. Blackwell Publishing. Pp 93-94, 4, 7, 8, 9, 10, 149, 186, 239.
- 3.- Hirsh D, Chung Y. 1999. Veterinary microbiology. Blackwell Science, inc. Pp 15., 16, 250, 115, 127, 69.
- 4.- Maetahara A, Fernandez V, Chipayo Y, Suarez F. 2010. Frecuencia y severidad de enfermedad periodontal en pacientes caninos de una clínica de animales menores en lima. Rev inv vet perú 2010; 21 (1): 68-72.
- 5.- Elliot D, Wilson M, Buckley C, Spratt D. 2005. Cultivable oral microbiota of domestic Dogs. 2005. Journal of clinical microbiology, Nov 2005, Pp 5470 – 5476.
- 6.- Saphir D, Carter R. 1976. Gingival Flora of the dog with special referent to bacteria associated with bites. Journal of clinical microbiology, Mar. 1976, Vol. 3, No 3. Pp 344- 349.
- 7.- Talan D, Citron D, Abrahamian F, Moran G, Glodstein E. 1999. Bacteriology analysis of infected dog and cat bite. Massachusetts medical society. Volume 340. Number 2. Pp 85-91.
- 8.- Devriese, L.A. 1990. Staphylococci in healthy and diseased animals. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement 71S-80S.
- 9.- Talan, D.A., Staatz, D., Staatz, A., Goldstein, E.J.C., Singer, K. And Overture, G.D. 1998. *Staphylococcus intermedius* in canine gíngiva and canine-infected human wound infections: laboratory characterization of a newly recognized zoonotic pathogen. Journal of clinical Microbiology 27, 78-81.
- 10.- Krauss, H. 2003 Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans. Third Edition. Pp. 406. ASM Press, 2003.
- 11.- Lilenbaum, A., Esteves, A.L., Souza, G.N. 1999. Prevalence and antimicrobial suceptibility of staphylococci isolated from saliva of clinically normal cats. Laboratorio de Bacteriología, Instituto Biomédico, Universidad Federal Fluminense, Niteroi, RJ, Brazil. Pp 1-5.
- 12.- Bailie, W.E., Stowe, E.C, Schmitt, A.M. 1978. Aerobic bacteria flora of oral and nasal fluids of canines with refernce to bacteria associated with bites. Journal of clinical microbiology. Pp: 3-7.
- 13.- Asami, T., Takhashi., M. Adrews, J., Boettcher. T., 1995. Oral disinfectant for companion animals. Minnesota mining and manufacturing company, St. Paul, Minn. Pp: 4-7.
- 14.- Betancourt, Marisol, ARCE, Roger, BOTERO, Javier et al. Unusual microorganisms in gingival sulcus and periodontal pockets. Colomb. Med., Mar. 2006, vol.37, no.1, p.6-14. ISSN 1657-9534.