

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

“Determinación de los agentes predominantes bacterianos presentes en la enfermedad periodontal moderada y severa en *Canis lupus familiaris* alimentados con dieta mixta”

AUTOR:

Daniela Liseth Vivanco Cuenca

TUTOR:

MVZ. Jenny Lozada. Msc

Cevallos – Ecuador

2023

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

El suscrito, DANIELA LISETH VIVANCO CUENCA, portador de cédula de identidad número: 1756330922, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “Determinación de los agentes predominantes bacterianos presentes en la enfermedad periodontal moderada y severa en *Canis lupus familiaris* alimentados con dieta mixta” es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



.....
DANIELA LISETH VIVANCO CUENCA

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “Determinación de los agentes predominantes bacterianos presentes en la enfermedad periodontal moderada y severa en *Canis lupus familiaris* alimentados con dieta mixta” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.

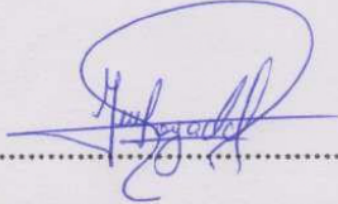


.....
DANIELA LISETH VIVANCO CUENCA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“Determinación de los agentes predominantes bacterianos presentes en la enfermedad periodontal moderada y severa en *Canis lupus familiaris* alimentados con dieta mixta”

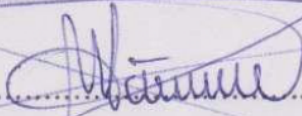
REVISADO POR:



.....
MVZ. JENNY PIEDAD LOZADA ORTIZ. MSC

TUTORA


FECHA



.....
31/08/2023

Ing. Patricio Núñez Torres, PhD.

PRESIDENTE TRIBUNAL



.....
31/08/2023

Mvz. Blanca Jeaneth Villavicencio, Mg

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



.....
31/08/2023

Dr. Efraín Lozada Salcedo, Mg

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, hermanas y sobrina por ser mi fortaleza y mi apoyo incondicional en cada ámbito personal y académico.

A mi abuelita Rosita por su amor infinito que siempre me ha motivado a perseguir mis sueños, por sus abrazos de consuelo y celebraciones de mis logros.

A la memoria de mi abuelito José que me ha protegido desde el cielo y ha significado un gran aliento en los días difíciles.

Asimismo, me dedico este trabajo por la dedicación y perseverancia que me permitieron cumplir este logro.

“Ve confiado en la dirección de tus sueños. Vive la vida que siempre has imaginado”

(Henry David Thoreau).

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi agradecimiento a mis padres por ser mi principal ejemplo de superación y responsabilidad, por su confianza depositada en mí que me permitió cumplir cada uno de mis objetivos.

A mis hermanas y cuñado por ser mis cómplices, brindarme su tiempo y motivarme a seguir adelante en los días difíciles.

A mi sobrina, porque el ser parte de su crecimiento ha sido una de las experiencias más maravillosas que me ha impulsado a mejorar cada día.

Agradezco a mis amigas por todas las alegrías y tristezas compartidas, por no dejarme vencer y brindarme su apoyo.

Al Dr. Galo Espinosa por abrirme las puertas de su Centro Médico Veterinario en donde pude llevar a cabo mi fase de campo.

A todos los docentes que tuve la oportunidad de conocer durante mi vida académica, quienes con sus enseñanzas contribuyeron a la realización de este trabajo. Gracias a sus conocimientos y experiencias compartidas que me serán fundamentales para orientar mi desarrollo profesional.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

RESUMEN EJECUTIVO	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes Investigativos	1
1.2 Categorías Fundamentales.....	4
1.2.1 Anatomía dental	4
1.2.2 Anatomía del periodonto.....	6
1.2.3 Erupción dentaria	7
1.2.4 Placa dental	8
1.2.5 Bacterias aerobias y anaerobias facultativas	9
1.2.6 Bacterias anaerobias estrictas.....	10
1.2.7 Enfermedad periodontal (EP).....	11
1.2.8 Progresión de la Enfermedad Periodontal.....	11
1.3 Objetivos e Hipótesis.....	16
1.3.1 Objetivo general	16
1.3.2 Objetivos específicos	16
1.3.3 Hipótesis.....	16
CAPÍTULO II	17
METODOLOGÍA	17
2.1 Ubicación.....	17
2.2 Características del lugar	18
2.3 Materiales y equipos.....	18
2.4 Factores de estudio	20
2.4.1 Selección de la muestra.....	20
2.5 Manejo del experimento	21

2.6.1	Toma de muestras.....	22
2.7	Análisis estadístico	27
2.8	Variable respuesta.....	27
CAPÍTULO III.....		29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		29
3.1	Análisis y discusión de los resultados	29
3.1.1	Identificación de las bacterias predominantes en la EP moderada y severa mediante el cultivo y conteo de UFC.....	31
3.1.2	Clasificación de los agentes bacterianos predominantes mediante cultivo bacteriológico.....	34
3.1.3	Relación entre las bacterias predominantes con los grados moderado y severo de la periodontitis y el conteo de UFC	35
3.1.4	Categorización por intervalos de las bacterias predominantes aisladas con mayor frecuencia en función a la cantidad de UFC/gr.....	38
3.2	Verificación de hipótesis	43
CAPÍTULO IV.....		44
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		44
4.1	Conclusiones	44
4.2	Recomendaciones	45
ANEXOS		51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Condiciones Meteorológicas	18
Tabla 2 Grados de progresión de EP relacionados con la edad	30
Tabla 3 Identificación de las bacterias aisladas en EP moderada mediante cultivo y conteo de UFC	31
Tabla 4 Identificación de las bacterias aisladas en EP severa por cultivo y conteo de UFC	32
Tabla 5 Clasificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas	34
Tabla 6 Relación de las bacterias identificadas con grado III y IV de la EP mediante la Prueba de Chi cuadrado de Pearson	35
Tabla 7 Relación de las bacterias identificadas con el conteo de UFC/gr mediante la Prueba de Chi cuadrado de Pearson	37
Tabla 8 Categorización de <i>Staphylococcus aureus</i> en EP moderada	39
Tabla 9 Categorización de <i>Staphylococcus aureus</i> en EP severa	40
Tabla 10 Categorización de <i>Escherichia coli</i> en EP moderada	41
Tabla 11 Categorización de <i>Escherichia coli</i> en EP severa	42
Tabla 12 Categorización de <i>Proteus mirabilis</i> en EP moderada	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Anatomía dental.....	5
Figura 2 Alteraciones anatómicas en la gingivitis	12
Figura 3 Alteraciones anatómicas en la EP leve	14
Figura 4 Alteraciones anatómicas en la EP moderada	15
Figura 5 Alteraciones anatómicas en la EP severa.....	15
Figura 6 Mapa del barrio Pueblo Unido con localización del Centro Médico Veterinario	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Frecuencia de caninos muestreados diagnosticados con Enfermedad Periodontal moderada o severa	29
Gráfico 2 Comparación de frecuencias de las bacterias predominantes según el grado III y IV de EP	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Población mensual de pacientes caninos con EP moderada y severa	51
Anexo 2. Ficha de Odontograma	51
Anexo 3. Identificación de paciente	52
Anexo 4. Toma y envío de muestra.....	52
Anexo 5. Registro del estado clínico de las piezas dentales en el Odontograma	54
Anexo 6. Crecimiento bacteriano en placa PCA	56
Anexo 7. Conteo total de UFC/ml de las muestras de placa dental en cada paciente	56
Anexo 8. UFC/gr de <i>Staphylococcus aureus</i> en pacientes con EP moderada.....	58
Anexo 9. UFC/gr de <i>Staphylococcus aureus</i> en pacientes con EP severa	58
Anexo 10. UFC/gr de <i>Escherichia coli</i> en pacientes con EP moderada	59
Anexo 11. UFC/gr de <i>Escherichia coli</i> en pacientes con EP severa.....	59
Anexo 12. UFC/gr de <i>Proteus mirabilis</i> en pacientes con EP moderada	60
Anexo 13. UFC/gr de <i>Proteus mirabilis</i> en pacientes con EP severa.....	60
Anexo 14. UFC/gr de <i>Proteus vulgaris</i> en pacientes con EP moderada y severa	60
Anexo 15. UFC/gr de <i>Streptococcus salivarius</i> en pacientes con EP moderada	60
Anexo 16. UFC/gr de <i>Enterococcus faecalis</i> en pacientes con EP severa.....	61
Anexo 17. Identificación de bacterias en medios de cultivo y pruebas bioquímicas	61

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación tuvo como objetivo determinar los agentes predominantes bacterianos presentes en la enfermedad periodontal (EP) moderada y severa en *Canis lupus familiaris* mayores a 4 años alimentados con dieta mixta. El estudio se realizó en el Centro Médico Veterinario del barrio Pueblo Unido en la ciudad de Quito con la recolección de muestras de placa dental de 33 caninos diagnosticados con EP moderada y severa. Las muestras se recolectaron con una Cureta Gracey y cepillo citológico, e inmediatamente fueron transportadas en un tubo de tapa roja sin aditivo al Laboratorio. Se realizó el recuento de unidades formadoras de colonia (UFC) sembradas en agar de recuento de placa (PCA), las dos bacterias con mayor número de UFC/gr fueron aisladas en medios de cultivo y pruebas bioquímicas para su identificación. En los caninos diagnosticados con EP moderada se aislaron bacterias como *Staphylococcus aureus* (68,4%), *Escherichia coli* (68,4%), *Proteus mirabilis* (42,1%), *Proteus vulgaris* (10,5%) y *Streptococcus salivarius* (10,5%). De manera similar en los de EP severa se identificaron especies como *S. aureus* (92,9%), *E. coli* (71,4%), *P. mirabilis* (14,3%), *P. vulgaris* (14,3%), y *Enterococcus faecalis* (7,1%). Finalmente, se evaluó si la presencia de estas bacterias es dependiente del grado de progresión moderado o severo de la EP y la relación con el conteo de UFC/gr. Se concluyó que no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p=0,975$) entre las bacterias aisladas y el grado de EP, sin embargo, se evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,0001$) de la presencia de bacterias con relación a las medias del conteo de UFC/gr.

Palabras claves: *Enfermedad periodontal*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *caninos*

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the predominant bacterial agents present in moderate and severe periodontal disease (PD) in *Canis lupus familiaris* older than 4 years old fed a mixed diet. The study was carried out in the Veterinary Medical Center of the Pueblo Unido neighborhood in the city of Quito with the collection of dental plaque samples from 33 canines diagnosed with moderate and severe PD. The samples were collected with a Gracey Curette and cytological brush and were immediately transported in a red cap tube without additive to the laboratory. Colony forming unit (CFU) counts were performed on plate count agar (PCA), the two bacteria with the highest number of CFU/gr were isolated on culture media and biochemical tests were performed for identification. In canines diagnosed with moderate PD, bacteria such as *Staphylococcus aureus* (68.4%), *Escherichia coli* (68.4%), *Proteus mirabilis* (42.1%), *Proteus vulgaris* (10.5%) and *Streptococcus salivarius* (10.5%) were isolated. Similarly, in those with severe PD, species such as *S. aureus* (92.9%), *E. coli* (71.4%), *P. mirabilis* (14.3%), *P. vulgaris* (14.3%), and *Enterococcus faecalis* (7.1%). Finally, it was evaluated whether the presence of these bacteria is dependent on the degree of moderate or severe progression of PD and the relationship with the CFU/gr count. It was concluded that there was no statistically significant difference ($p=0.975$) between the isolated bacteria and the degree of PD, however, there was a statistically significant difference ($p<0.0001$) in the presence of bacteria in relation to the means of CFU/gr count.

Keywords: *Periodontal disease, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, canines*

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

Anton y Arriaga (2020) en su investigación titulada “Identificación microbiológica en enfermedades gingival-periodontales en perros atendidos en Consultorio Veterinario el Fortín”, emplearon una muestra de 27 caninos domésticos (diferentes en raza, sexo y dieta) diagnosticados con enfermedad gingival periodontal de acuerdo al índice veterinario periodontal, mediante la examinación odontológica bajo anestesia. Los resultados mostraron que los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron *Enterococcus spp.*, le continuaron *Aspergillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Blastomyces dermatitidis*, *Proteus spp.* y *E. coli*.

Corrales et al. (2019) presentaron su investigación que se titula “Identificación de microbiota bucal en caninos en estado de abandono”, en la cual recolectaron 29 muestras, de las cuales 23 muestras orales tomadas con escobillón las trasladaron en un medio de transporte líquido y las restantes en el medio de transporte Viability Medium Göteborg Anaerobically III (VMGA-III). Los resultados permitieron aislar 59 bacterias entre ellas: *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus durans*, *E. faecalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium spp* y *Capnocytophaga spp*. Esta investigación estableció que las bacterias anaerobias se asocian primordialmente con la enfermedad periodontal (EP) mientras que las enterobacterias se relacionan a la transmisión oro-fecal.

Cárdenas y Cedeño (2020) realizó un estudio que consistió en determinar la “Influencia de la alimentación basada en 3 dietas en la salud gingivalperiodontal en perros”. En este trabajo realizaron una evaluación odontológica a 30 canes entre 3-6 años, los dividieron en tres grupos de 10 perros cada uno. En el primer grupo la

alimentación era casera, en el segundo de tipo mixta y el último con balanceado. Se evaluó mediante el empleo de odontograma, en pacientes bajo un proceso anestésico que permita la identificación de signos relacionados a la EP. Los resultados indicaron que el primer grupo presentó una afectación periodontal del 80%, el segundo del 100% y el último con un 90%.

Larraín y Gernández (2017) en su investigación titulada “Evaluación de la Severidad de la Enfermedad Periodontal en Dientes Premolares Superiores en Comparación a los Dientes Premolares Inferiores en Pacientes Caninos”, evaluaron todos los dientes de 54 caninos domésticos con base en el Índice Periodontal Veterinario, para determinar la presencia y severidad de la EP. Los resultados mostraron que el 81,5% de los perros tenían algún grado de enfermedad periodontal y el 40% de los dientes estaban afectados en cierto nivel de dicha enfermedad, con mayor afectación en los premolares superiores.

Vega et. al (2014) en su estudio titulado “Determinación de la susceptibilidad antibiótica in vitro de bacterias subgingivales en caninos con enfermedad periodontal moderada a severa”, recolectaron muestras de 30 caninos domésticos de cuatro refugios. Las bacterias aisladas con mayor frecuencia fueron *Porphyromonas gingivalis* (50%), seguidas de *Bifidobacterium spp* (20%), *Prevotella intermedia* (16,7%), *Staphylococcus spp* (30%) y *Enterobacterias* (60%). La susceptibilidad antibiótica más alta de especies bacterianas aisladas fue contra Imipenem. La susceptibilidad frente a otros antibióticos dependió de la especie bacteriana.

Cabreta et. al (2012) en su investigación titulada “Flora bucal en perros de la raza Beagle con enfermedad periodontal inducida”, emplearon a 10 caninos, los cuales fueron intervenidos quirúrgicamente. El muestreo consistió un exudado de la placa supragingival con hisopos estériles de algodón que fueron introducidos en medios de transporte. Los resultados aislaron microorganismos como *Neisseria sp* y el *Streptococcus α* hemolítico (100%), *Staphylococcus* coagulasa negativo (90%),

Corynebacterium sp (80%) y representando un 10% *S. epidermitis*, *Proteus mirabilis* y *S. pneumoniae*.

Wallis et. al (2021) publicaron su estudio titulado “Microbiota subgingival de perros con encía sana o enfermedad periodontal temprana de diferentes ubicaciones geográficas”, en el que investigaron las asociaciones entre la microbiota oral canina y la ubicación geográfica, mediante la determinación de la composición de muestras de placa subgingival de 587 canes residentes de Estados Unidos, Reino Unido, China y Tailandia utilizando pirosecuenciación 454. Los resultados revelaron una marcada similitud entre las bacterias asociadas con el aumento de la edad y las relacionadas con la gingivitis: los perros jóvenes y los que no tenían gingivitis estaban dominados por taxones de los filos *Bacteroidetes* y *Proteobacteria*, mientras que los perros mayores y los que tenían una gingivitis moderada, fueron dominados por miembros de los *Firmicutes*.

Ruparell et al. (2020) publicaron un estudio acerca de “El microbioma oral canino: variación en las poblaciones bacterianas en diferentes nichos”, en el que se perfiló y comparó la microbiota de diferentes nichos dentro de la cavidad bucal canina. Se recogieron muestras de la placa supragingival y la saliva estimulada de 14 caninos labradores durante 1 mes. Los resultados determinaron que la microbiota de la placa supragingival tuvo la mayor diversidad bacteriana y el mayor número de diferencias significativas en taxones individuales en comparación con los otros nichos orales. Las bacterias de la mucosa bucal y del dorso de la lengua fueron las más similares.

Por otro lado, **Núñez (2016)** realizó un estudio titulado “Estadificación de los grados de severidad de la periodontitis en caninos en base al conteo leucocitario en el líquido gingivo crevicular”. Las muestras se obtuvieron de 30 perros con peso máximo de 15kg. Los resultados obtenidos a través del test de ANOVA evidenciaron la relación positiva entre los neutrófilos identificados por campo y la severidad de la inflamación. Posteriormente se determinó la frecuencia de presentación en los distintos grados de

afectación periodontal: grado 1-gingivitis en un 13,33%, grado 2-leve 40%, grado 3-moderada 13,33% y grado 4-severa en un 33,33%.

Karaaslan et. al (2020) realizaron un estudio que se titula “Efecto de las bacterias asociadas a la enfermedad periodontal en la formación de cálculos dentales: un estudio in vitro”, en este mencionan que se ejecutó un estudio in vitro y cultivos jóvenes de bacterias en medios de enriquecimiento específicos, medios B2 y B4 sólidos y B2 líquido para establecer la calcificación activa. Los resultados aislaron a bacterias como: *S. mutans*, *S. sanguinis* y *S. gordonii*, que mostraron calcificación en el medio B2. Las especies *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. gordonii* y *C. matruchotii* demostraron calcificación en el medio de sal mineral basal (MSB). Mientras que, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *F. nucleatum* no mostraron ninguna calcificación. Concluyeron en que los estreptococos presentes en la placa dental participan en la formación del cálculo dental mientras que los periodontopatógenos no contribuyen en su formación.

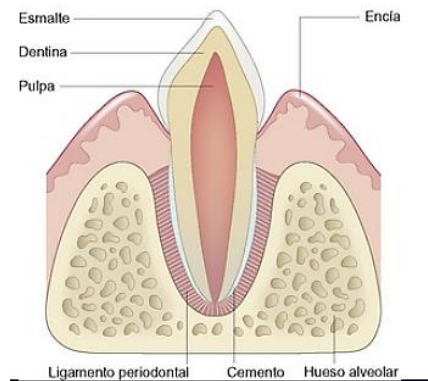
1.2 Categorías Fundamentales

1.2.1 Anatomía dental

Los dientes son una de las estructuras primarias de la cavidad oral que participan activamente en la masticación. Anatómicamente todas las piezas dentales del perro se constituyen de corona, raíz, esmalte, dentina y pulpa (**Perrone, 2021**).

Figura 1

Anatomía dental



Fuente: (Gorrel, 2010).

- **Corona**

Es la parte visible del diente que sobresale de la encía, se encuentra recubierta por el esmalte (Roman et al., 2014).

- **Raíz**

Parte del diente que en condiciones normales está ubicada debajo de la encía. Está cubierta por un tejido conectivo mineralizado conocido como cemento (Roman et al., 2014).

- **Esmalte**

Es el tejido mineralizado más duro del organismo. En el perro, recubre toda la corona con un grosor de 0,5 mm. A diferencia de otros tejidos, el esmalte no cuenta con vascularización ni inervación y no puede regenerarse (San Román, 1999).

- **Dentina**

Es un tejido conectivo calcificado que conforma la mayor parte del diente. Se encuentra presente desde la erupción primaria, sin embargo, a partir de la erupción dentaria y durante toda la vida del canino, los odontoblastos pertenecientes a la superficie dentinaria de la pulpa secretan una dentina secundaria, que permitirá reparar el tejido dañado, siempre y cuando la pulpa esté sana. Puede liberarse una dentina terciaria como respuesta a casos de traumatismo sobre el diente **(San Román, 1999)**.

- **Pulpa**

Ubicada en el interior del diente, está constituida por tejido conjuntivo ricamente innervado y vascularizado. Sus paredes están revestidas por odontoblastos y se extiende desde la corona hasta el ápice de la raíz. En la corona se encuentra su forma más dilatada conocida como cámara pulpar, mientras que a la sección más estrecha que contiene la raíz se le denomina canal pulpar. En la porción final de este último, se localiza el agujero apical o radicular, este ápice contiene varias aberturas por donde ingresan los vasos sanguíneos, linfáticos y los nervios **(Gorrel, 2013)**.

1.2.2 Anatomía del periodonto

El tejido periodontal es el aparato de soporte del diente que cumple con la inserción y sujeción de las piezas dentales a la mandíbula o al maxilar. Está conformado por encía, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar **(Niemić, 2013)**.

- **Encía**

Es la estructura que forma una cobertura alrededor del diente. Se divide en una sección adherida al periostio y una libre, acoplada a la superficie del diente. La fracción libre

se redondea formando una invaginación entre la encía y el diente, denominado surco gingival. Este surco en un paciente sano es poco profundo y rodea a cada pieza dental, en perros sanos mide 1-3 mm (Niemiec et al., 2020).

- **Cemento**

Es un tejido avascular que no contiene canales Haversianos por lo que su densidad es mayor a la del hueso. Posee menor calcificación que el esmalte y la dentina, no obstante, su liberación es continuo durante toda la vida. Interviene en el soporte del diente debido a sus capacidades de reabsorción y reparación (Roman et al., 2014).

- **Ligamento periodontal**

Es un tejido conectivo constituido por fibras de colágeno. Su función principal es anclar el diente al cemento por un lado y, por el otro, al hueso alveolar, por lo que actúa como un ligamento suspensorio (Roman et al., 2014).

- **Hueso alveolar**

Está conformado por las crestas del maxilar y la mandíbula y constituido por cuatro capas: periostio, hueso compacto, hueso esponjoso y lámina cribiforme. Su función es contener al diente en las cavidades alveolares. Se forma durante la erupción dental y se atrofia con la pérdida del diente (Gorrel, 2010).

1.2.3 Erupción dentaria

Los dientes primarios o deciduos inician su formación en el útero y erupcionan entre las 3-12 semanas de edad. Posteriormente al nacimiento las coronas permanentes se

desarrollan y completan su mineralización a las 11 semanas. En el perro, la reabsorción y el remplazo por los dientes permanentes sucede desde los 3-7 meses de edad. El esmalte dental termina su formación antes de la erupción del diente, mientras que la raíz continúa desarrollándose después de la erupción dental y por varios meses (**Lobprise y Dogordd, 2019**).

- **Fórmulas dentales en caninos**

Las fórmulas dentales actualmente aceptadas para la dentición canina son las siguientes (**Lobprise y Dodd, 2019**):

Dentición primaria: $2 \times (3/3 \text{ i}, 1/1 \text{ c}, 3/3 \text{ pm}) = 28$

Dentición permanente: $2 \times (3/3 \text{ I}, 1/1 \text{ C}, 4/4 \text{ PM}, 2/3 \text{ M}) = 42$

1.2.4 Placa dental

La placa dental o bacteriana está formada por una capa de biofilm que contiene diferentes clases de microorganismos que se complementan entre sí. Esta capa está rodeada por una matriz orgánica, constituida por glicoproteínas de la saliva, bacterias bucales y polisacáridos extracelulares que se adhieren a la superficie dental (**Toriggia, 2014**). Además, posee componentes inorgánicos como el calcio, fósforo, sodio, potasio y un mínimo de magnesio, los cuales son proporcionados por la saliva y el alimento. La placa bacteriana inicia a formarse cuando el esmalte dental entra en contacto con la saliva y por su facilidad de adherencia adquiere bacterias que se depositan en la superficie del diente (**De Gregorio, 2021**).

Se observa como un material amarillento de textura pegajosa que puede colonizar todos los dientes (**León et al., 2014**). Durante la etapa de formación, las bacterias más frecuentes son Gram positivas, inmóviles y no patógenas que pertenecen a la flora normal de la cavidad bucal. Después de 24-48 horas, las bacterias aerobias y

anaerobias facultativas de la placa proliferan generando una superficie rugosa que permite que demás bacterias se adhieran y estabilicen para lograr cohabitar el mismo medio (**San Román, 1999**).

Si el periodo de estabilización de las bacterias no se interrumpe removiendo la placa mecánicamente, por medio del cepillado dental, el gradiente de las capas más profundas del biofilm se altera facilitando el desarrollo de un proceso inflamatorio como la gingivitis. A continuación, se forma una placa madura que se extiende hasta el surco gingival, sitio que dificulta una limpieza eficiente, por lo que su acumulación va en aumento. En consecuencia, la microbiota aerobia presente consume oxígeno, creando un potencial redox bajo, que favorece el crecimiento de bacterias anaerobias con características potencialmente patógenas, las cuales contribuyen a la severidad de las etapas posteriores que conforman la periodontitis (**Niemiec et al., 2020; Toriggia, 2014**).

La placa dental puede diferenciarse en dos tipos: supragingival y subgingival. La placa supragingival, representa a la estructura microbiana que se encuentra en la superficie dental, correspondiente al tercio gingival de la corona, con posible extensión hasta el surco gingival. Se estima que puede poseer hasta 100 000 000 000 de bacterias por gramo. El acúmulo de esta placa ocasiona el desarrollo de la gingivitis lo que conduce a la formación de la placa subgingival que se extiende dentro del surco gingival o bolsas periodontales (**Pieri et al., 2012**).

1.2.5 Bacterias aerobias y anaerobias facultativas

La microbiota aerobia representa un papel significativo en el inicio y la progresión de la enfermedad periodontal (EP). A medida que las bacterias presentes en la flora normal de la cavidad bucal como *Streptococcus del grupo viridans (SGV)* y *Actinomyces spp.* se proliferan, forman la placa supragingival, que se extiende por el margen libre de la encía. De esta manera las bacterias presentes consumen el oxígeno

disponible del medio lo que genera un entorno en condiciones de anaerobiosis que posibilita el establecimiento de bacterias anaeróbicas **(Corrales et al., 2019; San Román, 1999)**.

Como consecuencia al incremento de la acumulación de placa supragingival, la población de bacterias que la componen cambia. El número general de microorganismos aerobios viables no se altera, sin embargo, la relación anaerobios/aerobios aumenta provocando que la microbiota anaeróbica inicie a predominar. A su vez, da paso al desarrollo inicial de la gingivitis, asociada a la presencia de microorganismos anaerobios Gram+ filamentosos y bacilos, principalmente *Staphylococcus spp*, *Actinomyces spp*, *SGV*, *Bifidobacterium* y un bajo número de especies de *Lactobacillus* **(Corrales et al., 2019; San Román, 1999)**.

Con la acumulación y extensión de la placa supragingival las bacterias aerobias que se han aislado con mayor frecuencia son *Streptococcus alfa-hemolíticos* comúnmente relacionado con *Escherichia coli* o *Pasteurella multocida* **(Radice et al., 2006)**.

1.2.6 Bacterias anaerobias estrictas

Los microorganismos anaerobios estrictos se desarrollan cuando una considerable acumulación de placa supragingival con variedad de bacterias se expande debajo del margen libre de la encía, conformando la placa subgingival, lo que conduce al desarrollo de bolsas periodontales más profundas, debido a la excreción de toxinas y productos metabólicos que generan inflamación en los tejidos periodontales. Por lo tanto, los niveles de oxígeno llegan a su nivel más bajo provocando que las bacterias anaerobias constituyan hasta el 95% de la población subgingival en las fases de la periodontitis **(Stephan et al., 2008)**.

En la EP el área subgingival llega a componerse por bacterias del tipo filamentosos y Gram-, entre estas se describen a especies de *Actinomyces* en las últimas fases de la

gingivitis, *Bacteroides spp*, y *Fusobacterium spp*. Mientras que en las etapas más avanzadas de la periodontitis resaltan especies como *Actinomyces viscosus*, *Bacteroides melaninogenias*, *Bacteroides melaninogenius*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, algunas especies de *Proteus*, *Prevotella intermedia*. y espiroquetas (Negro et al., 2012; Wallis et al., 2021).

1.2.7 Enfermedad periodontal (EP)

La enfermedad periodontal es considerada una afección crónica que engloba brotes con signos clínicos mínimos. Esta patología perjudica a los tejidos de soporte del diente y al periodonto que puede terminar con la pérdida de piezas dentales posteriormente. La principal causa del desarrollo de la EP es la acumulación de bacterias orales patógenas, definida como placa bacteriana. La más compleja de tratar según la localización de la placa es la subgingival (Patiño, 2017).

- **Factores predisponentes de la periodontitis**

Dentro de los factores que predisponen a la periodontitis se encuentran (Corrales et al., 2019):

- Tipo de cráneo: braquicéfalos
- Higiene bucal
- Edad
- Razas pequeñas
- Tipo de alimentación

1.2.8 Progresión de la Enfermedad Periodontal

La progresión de la EP se desarrolla en dos procesos: la gingivitis y la periodontitis.

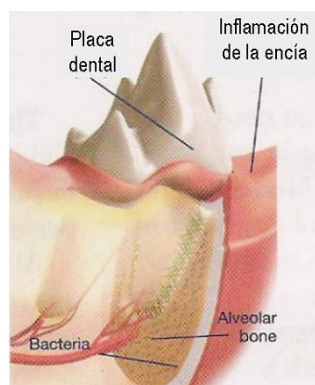
- **Gingivitis**

Corresponde a la inflamación de la encía (primera defensa del diente) sin mucha patogenicidad y sin alterar las estructuras de soporte del periodonto. Se produce vasodilatación, migración de leucocitos, generación de prostaglandinas y enzimas destructivas lo que genera enrojecimiento, hinchazón y dolor de la encía e incluso puede causar halitosis. En esta fase se mantiene la posibilidad de regresión de la enfermedad, mediante el manejo adecuado de la salud bucal del animal con medidas de higiene como el cepillado dental, favoreciendo la eliminación del agente etiológico **(Pieri et al., 2012)**.

La gingivitis es considerada la primera etapa de la EP. El Colegio Americano de Odontología Veterinaria (2020) la reconoce como el grado I de la EP, en la que se evidencia: Inflamación de la encía, sangrado al sondaje, profundidad del surco gingival <3 mm sin pérdida de inserción periodontal (0%). No hay movilidad dental **(Gorrel, 2010; Niemiec et al., 2020; Rubiano et al., 2012)**.

Figura 2

Alteraciones anatómicas en la gingivitis



Fuente: (Fox y Bonda, 2017).

- **Periodontitis**

Se define como una enfermedad inflamatoria producida por la placa bacteria acumulada en la superficie supra y subgingival del diente, que resulta con la pérdida variable del periodonto (ligamento y hueso alveolar) **(Lobprise y Dodd, 2019)**.

- **Etapas de la periodontitis**

La etapa inicial es una secuela de la gingivitis no tratada. Comienza con la pérdida de la inserción del epitelio de unión, considerada la primera fase irreversible de la enfermedad, por lo que se estima que desde este momento solo es posible estabilizarla. En esta etapa la encía todavía mantiene su topografía normal y puede tener una ligera recesión gingival en algunas razas **(Perrone, 2021)**.

Mientras que, el proceso inflamatorio se extiende hacia el periodonto de soporte, constituido por el ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar. Se presenta con una inflamación leve en el ligamento periodontal, poca evidencia de pérdida ósea y halitosis intensa. Se produce el cálculo dental que corresponde a la mineralización de la placa dental, por las sales de la saliva que facilita la adherencia de nuevos microorganismos con características más patogénicas, elevando la gravedad de las lesiones provocadas a los tejidos periodontales **(Perrone, 2021)**.

La periodontitis en etapa moderada y severa son las fases más avanzadas de la EP. En estas etapas la comunidad bacteriana de la placa cambia, presentando una pequeña cantidad de cocos Gram positivos no móviles y grandes porcentajes de espiroquetas Gram negativas móviles, prácticamente ausentes en individuos sanos. Existe inflamación severa con sangrado que responde al mínimo estímulo, halitosis intensa, generalmente retracción de encía y gran acumulación de sarro dental. En la mayoría de los casos puede provocar afectación sistémica, es decir, las bacterias se

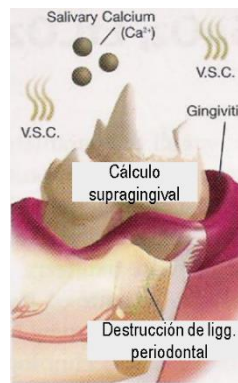
transportarán por la circulación sanguínea hacia corazón, hígado, riñones, articulaciones, entre otros (Pieri et al., 2012).

Según el Colegio Americano de Odontología Veterinaria (2020) clasifica a la periodontitis a partir del grado II de la EP. A continuación, se describen los Índices Odontológicos de Løe y Silness que presenta cada uno de los grados (Gorrel, 2010; Niemiec et al., 2020; Rubiano et al., 2012):

- **Grado II:** Periodontitis leve. Halitosis leve. Una fina película de placa adherida al borde libre gingival. Profundidad del surco gingival 3-5 mm. pérdida de inserción periodontal 25%. Movilidad dental horizontal <1 mm.

Figura 3

Alteraciones anatómicas en la EP leve

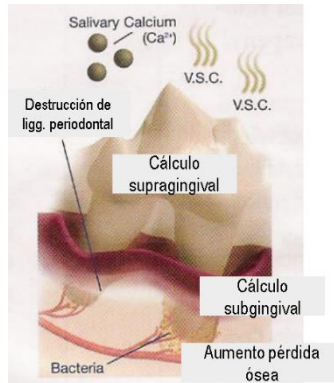


Fuente: (Fox y Bonda, 2017).

- **Grado III:** Periodontitis moderada. Halitosis moderada o intensa. Placa supragingival y/o subgingival. Cálculo que cubre más del 1/3 del diente. Profundidad del surco gingival 5-7 mm. pérdida de inserción periodontal 25-50%, furca 2/3. Movilidad dental horizontal >1 mm.

Figura 4

Alteraciones anatómicas en la EP moderada

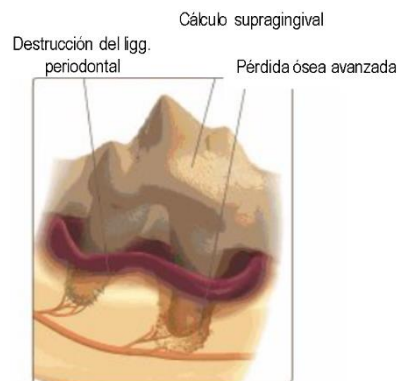


Fuente: (Fox y Bonda, 2017).

- **Grado IV:** Periodontitis severa. Halitosis intensa. Placa supra y subgingival, y alrededor del diente. Cálculo sobre los 2/3 del diente. Profundidad del surco gingival >7 mm. pérdida de inserción periodontal >50%, furca 3/3. Movilidad dental vertical y horizontal.

Figura 5

Alteraciones anatómicas en la EP severa



Fuente: (Penman et al., 2019).

1.3 Objetivos e Hipótesis

1.3.1 Objetivo general

Determinar los agentes predominantes bacterianos presentes en la enfermedad periodontal moderada y severa en *Canis lupus familiaris* mayores a 4 años alimentados con dieta mixta.

1.3.2 Objetivos específicos

- Identificar los microorganismos bacterianos predominantes presentes en la placa dental en casos de periodontitis moderada y severa mediante cultivo y el conteo de unidades formadoras de colonia.
- Clasificar los microorganismos predominantes presentes en la enfermedad periodontal mediante cultivo bacteriológico.
- Relacionar la presencia de las bacterias predominantes con el grado de progresión de la periodontitis y el conteo de unidades formadoras de colonia.

1.3.3 Hipótesis

H₀: Los agentes bacterianos predominantes en la placa dental de *Canis lupus familiaris* no son dependientes de los grados de progresión moderado y severo de la enfermedad periodontal.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Ubicación

El presente estudio se realizó en el Centro Médico Veterinario del barrio Pueblo Unido, que se encuentra a una latitud $0^{\circ}17'50.9''S$ y longitud $78^{\circ}31'51.2''W$, en el cantón Quito, parroquia Quitumbe, en la provincia Pichincha.

Figura 6

Mapa del barrio Pueblo Unido con localización del Centro Médico Veterinario



Fuente: Google Maps, 2023

2.2 Características del lugar

Tabla 1

Condiciones Meteorológicas

Indicadores	Parámetros
Clima, °C	9°C hasta los 19°C
Altitud, msnm	2 850
Superficie, km ²	372,4

Fuente: (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, 2021).

2.3 Materiales y equipos

Materiales de campo

- Guantes de exploración
- Mascarilla
- Filipino
- Jeringuillas
- Cureta Gracey
- Cepillo citológico
- Sonda periodontal
- Fichas de odontograma con Sistema Triadan Modificado

Materiales farmacológicos

- Acepromacina
- Tramadol
- Ketamina
- Propofol

Materiales de oficina

- Esferos
- Historias clínicas
- Tabla para escribir
- Computadora portátil

Materiales de laboratorio

- Tubos de ensayo sin aditivo (tapa roja)
- Mandil
- Guantes de nitrilo
- Botella de vidrio para pesaje
- Agua estéril
- Agar base sangre
- Agar Mc Conkey
- Agar base chocolate
- Agares para pruebas bioquímicas
- Peróxido de nitrógeno
- Agua destilada
- Tubos de ensayo
- Micropipeta
- Cajas Petri
- Asa de Digralsky
- Asa bacteriológica
- Portaobjetos

Equipos

- Autoclave
- Ultrasonido dental Easy Scaler
- Balanza Gram EH-3 000 (cap. 3 000g; 0,1g)
- Estufa

- Mechero de Bunsen
- Agitador Vórtex
- Contador Digital de Colonias
- Cámara fotográfica

2.4 Factores de estudio

Los factores de estudio de la investigación son los agentes bacterianos predominantes presentes en la enfermedad periodontal moderada y severa.

2.4.1 Selección de la muestra

Según los datos registrados en las historias clínicas de los pacientes con EP del centro médico veterinario ubicado en el barrio Pueblo Unido, se estableció que existe un promedio de 12 caninos diagnosticados con la enfermedad moderada y severa por mes. Por lo tanto, se estima un total de 36 pacientes durante la recolección de muestras en un periodo de tres meses. Para determinar la muestra se emplea el cálculo descriptivo de poblaciones finitas mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{NZ^2 pq}{d^2(N - 1) + Z^2 pq}$$

Fuente: (Aguilar, 2005).

Donde:

n= tamaño de la muestra

N= población total

Z= nivel de confianza

p= probabilidad de éxito

q= probabilidad de fracaso (q= 1-p)

d= precisión absoluta (**Aguilar, 2005**).

Para el cálculo:

n= tamaño de la muestra

N= 36

Z= 1.96 equivalente a un nivel de confianza de 95%

p= 0.5 equivalente al 50%

q= 1-p (equivalente a 0.5)

d= 0.05 equivalente a una precisión del 95%

$$n = \frac{(36)(1.96)^2 (0.5)(0.5)}{(0.05)^2(36 - 1) + (1.96)^2 (0.5)(0.5)}$$

$$n = \frac{34.57}{1.05}$$

$$n = 32.99$$

$$n = 33$$

Los caninos fueron seleccionados bajo criterio de inclusión, por lo que para formar parte de la población se eligieron perros de cualquier raza y sexo, mayores a 4 años, alimentados con dieta mixta y cuyo diagnóstico odontológico fue EP en grados moderado y severo.

2.5 Manejo del experimento

Los sujetos de estudios fueron categorizados en dos grupos según el grado de progresión de la EP, que se describen a continuación:

- Grado de progresión de la EP.
 - Grupo A: Grado III o moderado
 - Grupo B: Grado IV o severo

Seleccionados en base a las etapas de la EP descritas por el Colegio Americano de Odontología Veterinaria (2020) y los Índices Odontológicos

de Løe y Silness, en donde describen al grado III como moderado y grado IV como severo (Gorrel, 2010; Niemiec et al., 2020; Rubiano et al., 2012).

2.6 Métodos

2.6.1 Toma de muestras

Para la inspección de la cavidad oral los animales seleccionados fueron sometidos a un plan anestésico con base a sus signos vitales. Mediante la técnica de Anestesia Total Intravenosa (TIVA). En la evaluación, mediante odontograma dental, se inspeccionó movilidad, hiperplasia, retracción gingival, profundidad del sondaje, placa dental, cálculo, gingivitis y periodontitis. Y de acuerdo con los resultados se clasificó en EP moderada (grupo A) y severa (grupo B). Mientras que las muestras se recolectaron con el empleo de la Cureta Gracey.

Técnica de obtención de muestra con Cureta Gracey

- Se seleccionó la pieza dental afectada y con el empleo de una Cureta Gracey número 7/8 se realizó el raspado de la placa supragingival de la cara vestibular del diente.
- Se recogió con el cepillo citológico estéril la placa resultante del raspado vestibular para colocar la muestra en un tubo de ensayo sin aditivos (tapa roja).
- A continuación, se trasladó inmediatamente la muestra al Laboratorio, para su respectivo análisis.

Sondaje Periodontal

- Después de la toma de muestra se llevó a cabo la profilaxis dental en la que se retiró placa supra y subgingival, con la finalidad de realizar un mejor sondaje periodontal para medir con mayor precisión al surco gingival y las bolsas periodontales.

2.6.2 Cuantificación de bacterias, UFC

Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo Plate Count Agar (PCA) se preparó conforme a la cantidad de muestras que se esperaba recolectar semanalmente. Se disolvió 5,7 gr del agar en 300 ml de agua destilada, se colocó sobre un reverbero eléctrico hasta su ebullición, con la ayuda de un agitador magnético para su completa disolución. Posteriormente fue autoclavado a 121 °C durante 15 minutos. A continuación, el medio preparado se repartió en cajas Petri de 10cm de diámetro que fueron almacenadas a 2-8°C hasta su utilización.

Procesamiento de la muestra

- En una botella de pesaje de vidrio estéril se pesó 1gr de muestra para cada paciente.
- Se procesó la muestra en un matraz mediante una dilución madre 1 en 9, colocando 1ml de la muestra con una cantidad 9 veces superior de medio estéril (agua destilada), es decir, 9 ml, para formar 10ml.
- A continuación, en el primer tubo de ensayo, se colocó 9ml de agua destilada, y con la ayuda de una micropipeta, 1ml de la suspensión madre (-1), inmediatamente se mezcló con ayuda del agitador vórtex.

- En el segundo tubo se colocó 9ml de agua destilada y se añadió 1ml de la dilución (-1), para formar la dilución (-2).
- Se transfirió 1 ml de la dilución final (-2) en la placa con agar PCA, e inmediatamente con un asa de Digralsky se distribuyó la muestra en diferentes direcciones sobre la superficie del medio.
- Posteriormente, se incubó en una estufa a 37°C durante 24-48h.
- Al finalizar se realizó un conteo de colonias UFC de aerobios y anaerobios facultativos totales, y uno específico por diferenciación de 2 colonias predominantes. Para el conteo de aerobios totales se colocó la placa sobre un Contador de Colonias Digital, se aplicó el recuento directo para pocas colonias bacterianas (25-250), y posteriormente multiplicarlo por el factor de dilución (10^{-2}). Mientras que se aplicó el recuento estimado, cuando el número de colonias superaba las 250, y de esta manera se reportó como >250 000 en UFC/ml.
- De manera similar, para el conteo de colonias predominantes, se aplicó el método directo (25-250 colonias) e indirecto en placas con un alto número de colonias. Se contabilizaron las colonias presentes en la superficie mediante el conteo de cuatro cuadrículas centrales de 1 cm² cada una. Los resultados adquiridos se promediaron y a este dato se lo multiplicó por el factor 78, correspondiente al diámetro de la placa Petri de 10cm. Una vez realizado el recuento directo y promediado el indirecto, a ambos resultados se les multiplicó por el inverso de la dilución y se los reportó en UFC/gr.

- **Cultivo de bacterias en aerobiosis**

Preparación de los medios de cultivo

- **Agar base sangre:**

Se disolvió 8 gr de agar base sangre en 200 ml de agua purificada, se dejó reposar 5 min y se mezcló hasta obtener una suspensión homogénea. La mezcla se calentó en un reverbero eléctrico hasta la ebullición durante un minuto, con la ayuda de un agitador magnético para su completa disolución. El resultado se colocó en un matraz que inmediatamente se llevó a autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

Posteriormente se dejó enfriar a 45-50 °C y se agregó 5 % de sangre ovina desfibrinada estéril. Inmediatamente se colocó en placas Petri estériles para su almacenamiento a 2-8°C de temperatura.

- **Agar base chocolate:**

Se suspendió 13,2 gr de agar base chocolate en un vaso de precipitación con 300 ml de agua purificada. A continuación, se calentó en un reverbero eléctrico hasta la ebullición por un minuto, con la ayuda de un agitador magnético para su completa disolución. La mezcla fue distribuida en un matraz cubierto para autoclavar a 121°C durante 15 min. Se dejó enfriar a 45-50 °C y se agregó 5 % de sangre ovina desfibrinada estéril. Posteriormente se calentó a 80°C por 10 minutos mientras se mezclaba constantemente hasta que tomó la coloración chocolate. Se lo dejó enfriar a 45-50°C y finalmente se lo colocó en placas Petri estériles para su almacenamiento.

- **Agar MacConkey**

Se suspendió 10 gr de agar MacConkey en un vaso de precipitación con 200 ml de agua purificada. A continuación, se dejó reposar durante 5 minutos e inmediatamente se calentó en un reverbero eléctrico hasta la ebullición por uno

a dos minutos, con la ayuda de un agitador magnético para su completa disolución. La mezcla fue distribuida en un matraz cubierto para autoclavar a 121°C durante 15 min. Después de que el medio tomó un color rojizo púrpura fue repartido en cajas Petri para su almacenamiento.

– **Agar eosina-azul de metileno (EMB)**

Se suspendió 10,8 gr de agar EMB en un vaso de precipitación con 300 ml de agua purificada. A continuación, se dejó reposar durante 15 minutos e inmediatamente se calentó en un reverbero eléctrico clarificación a punto de ebullición, con la ayuda de un agitador magnético para su completa disolución. La mezcla fue distribuida en un matraz cubierto para autoclavar a 121°C durante 15 min. Después el medio fue repartido en cajas Petri para su almacenamiento a 2-8°C hasta su uso.

Siembra

- De la caja Petri que contiene PCA se seleccionó las dos colonias con mayor crecimiento según el recuento de UFC/gr y se realizó una resiembra por estría en ángulo recto en medios enriquecidos, selectivos, no selectivos y selectivo-diferencial como lo son el Agar sangre, Agar MacConkey, Agar chocolate y Agar eosina-azul de metileno, respectivamente.
- A continuación, las placas fueron incubadas en aerobiosis a temperatura de 37°C por 24 horas.
- El medio de cultivo con agar sangre no es selectivo, por lo que permitió el aislamiento de bacterias Gram positivas y negativas, e incluso complementó la identificación bacteriana por reacción hemolítica.
- Para la identificación de cocos Gram positivos se realizó la prueba de coagulasa en placa. Con una pipeta se añadió suero de conejo sobre las colonias que

crecieron en el agar chocolate, se esparce el suero por toda la superficie. Cuando la reacción fue positiva se evidenció la formación de coágulos blanquecinos sobre las colonias, lo que significa que la bacteria identificada se trata de *Staphylococcus aureus*.

- El medio de cultivo MacConkey es selectivo por lo que permitió el aislamiento de bacilos Gram negativos.
- Mientras que para confirmar o descartar a cocos Gram negativos, la bacteria fue sometida a la prueba bioquímica oxidasa.
- Por otro lado, para identificar las especies de otras colonias predominantes, la bacteria aislada fue sometida a pruebas bioquímicas (TSI-Hierro triple azúcar, LIA-Lisina Hierro, coagulasa, catalasa, urea, citrato de Simmons, rojo de metileno, bilis esculina) que condujeron a una identificación más específica de la bacteria de interés.

2.7 Análisis estadístico

Los datos resultantes de la presente investigación fueron analizados mediante una estadística cualitativa empleando la prueba de Chi cuadrado de Pearson, para determinar si existe una diferencia significativa entre las variables consideradas. Asimismo, se realizó un análisis descriptivo a través de tablas de frecuencia, diagramas, y medias.

2.8 Variable respuesta

Identificación de microbiota predominante por muestra:

- Unidades formadoras de colonia (UFC)
- Relación de las bacterias predominantes con los grupos A y B

- Relación de las bacterias predominantes con los grupos A y B según el conteo de UFC

CAPÍTULO III

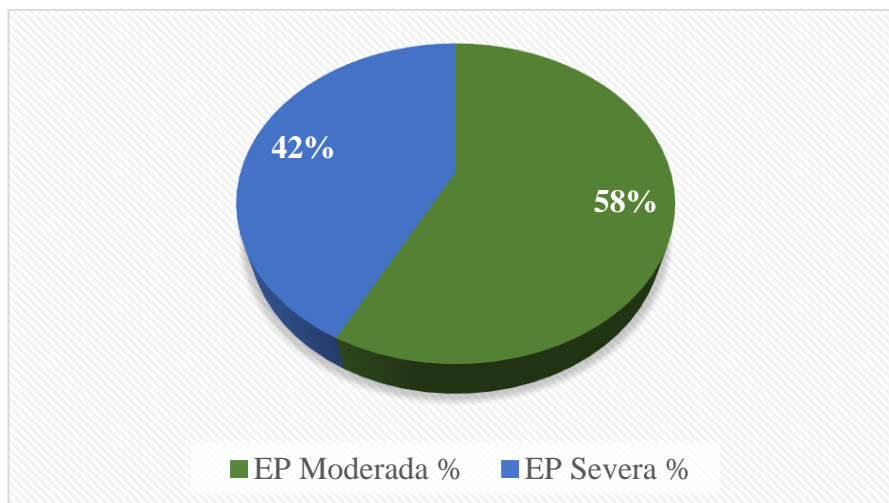
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

La muestra del presente estudio se estableció con 33 caninos domésticos que presentaron EP en los grados moderado y severo, grupo A y B respectivamente. En el gráfico 1 se observa que de los 33 pacientes se diagnosticaron al 58% de los casos con EP de grado III, y el 42% restante con el grado IV.

Gráfico 1

Porcentaje de caninos muestreados diagnosticados con Enfermedad Periodontal moderada o severa



En esta investigación la edad fue considerada como parte del criterio de inclusión, por lo que solo los pacientes con EP moderada o severa, mayores a 4 años formaron parte de la muestra. En la tabla 2 se detallan los porcentajes de pacientes que presentaron EP en etapas avanzadas y su presencia por edad. Entre los 19 caninos con EP moderada, los tres más destacados fueron los pacientes de 4 y 8 años, 4 pacientes que representan el 21% pertenecen a una edad de 4 años y 4 pacientes que representan el 21%

corresponden a una edad de 8 años, mientras que 3 pacientes representan el 16% pertenecen a una edad de 6 años. A diferencia de los 14 caninos diagnosticados con EP severa en los que los más destacados fueron los pacientes de 9 años con 4 pacientes que pertenecen al 29% y los de 7 años con 3 pacientes que corresponden al 21%.

Tabla 2

Grados de progresión de EP relacionados con la edad

Edad (años)	EP moderada		EP severa	
	N	%	N	%
4	4	21	1	7
5	2	11	2	14
6	3	16	2	14
7	2	11	3	21
8	4	21	0	0
9	1	5	4	29
10	1	5	1	7
11	2	11	0	0
12	0	0	0	0
13	0	0	1	7
Total	19	100	14	100

En los perros el aumento de la edad es considerado uno de los factores predisponentes al desarrollo de la EP. Estudios previos como el de **Maetahara et al., (2010)** sustentan que la frecuencia y severidad de esta patología incrementa con la edad, en dicho estudio los intervalos de 5-8 años y el de mayores a 8 años presentaron casos de periodontitis moderada con un 37,5%, al igual que la EP severa con una frecuencia de 15,8%, dichos datos los diferenciaron del grupo de 1-4 años, el cual solo resaltó casos de gingivitis y una baja frecuencia de EP leve.

Los resultados en el presente estudio, contrastan parcialmente con **Maetahara et al. (2010)**, debido a que ambos grados de periodontitis fueron diagnosticados en caninos desde los 4 años. En los pacientes con EP moderada los mayores porcentajes pertenecieron a caninos de 4 y 8 años (21% por edad), mientras que los casos de periodontitis severa tuvieron la mayor presencia (29%) en pacientes con 9 años. A su vez, estos hallazgos concuerdan con **Sauer et al. (2018)** que observaron un incremento de frecuencia de ambos grados de EP en perros entre 4-9 años. Además, demostraron su postura con una correlación significativa (0,7 $p \leq 0,01$) entre el aumento de la edad con el progreso de la EP a su última etapa.

3.1.1 Identificación de las bacterias predominantes en la EP moderada y severa mediante el cultivo y conteo de UFC.

Tabla 3

Identificación de las bacterias aisladas en EP moderada mediante cultivo y conteo de UFC

Bacterias aisladas	N	%	UFC \bar{x}
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	68,4	137 154
<i>Escherichia coli</i>	13	68,4	172 462
<i>Proteus mirabilis</i>	8	42,1	104 000
<i>Proteus vulgaris</i>	2	10,5	90 500
<i>Streptococcus salivarius</i>	2	10,5	217 500
Total	19	100	721 616

Las 33 muestras de placa dental fueron sometidas a un estudio microbiológico mediante cultivo y pruebas bioquímicas. En la tabla 3 se enlista a las bacterias con predominancia identificadas de las muestras de los caninos con EP de grado III. Se observa que las especies aisladas en esta etapa fueron 5, como *Staphylococcus aureus* que se aisló en 13 pacientes (68,4%) con un valor medio de UFC de 137 154, *Escherichia coli* en 13 pacientes (68,4%) con una media de UFC de 172 462, *Proteus mirabilis* en 8 pacientes (42,1%) con un valor medio de UFC de 104 000, *Proteus*

vulgaris en 2 pacientes (10,5%) con una media de UFC de 90 500 y *Streptococcus salivarius* en 2 pacientes (10,5%) con un valor medio de UFC de 217 500.

Tabla 4

Identificación de las bacterias aisladas en EP severa por cultivo y conteo de UFC

Bacterias aisladas	N	%	UFC \bar{x}
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	92,9	321 846
<i>Escherichia coli</i>	10	71,4	194 400
<i>Proteus mirabilis</i>	2	14,3	42 000
<i>Proteus vulgaris</i>	2	14,3	175 000
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	7,1	4 000
Total	14	100	737 246

De manera similar la tabla 4 muestra las bacterias aisladas en los pacientes con EP de grado IV. En esta etapa se aislaron a 5 especies, como *Staphylococcus aureus* que se identificó en 13 pacientes (92,9%) con una media de UFC de 321 846, *Escherichia coli* en 10 pacientes (71,4%) con un valor medio de UFC de 194 400, *Proteus mirabilis* en 2 pacientes (14,3%) con una media de UFC de 42 000, *Proteus vulgaris* en 2 pacientes (14,3%) con un valor medio de UFC de 175 000 y *Enterococcus faecalis* en 1 paciente (7,1%) con un conteo de UFC de 4 000.

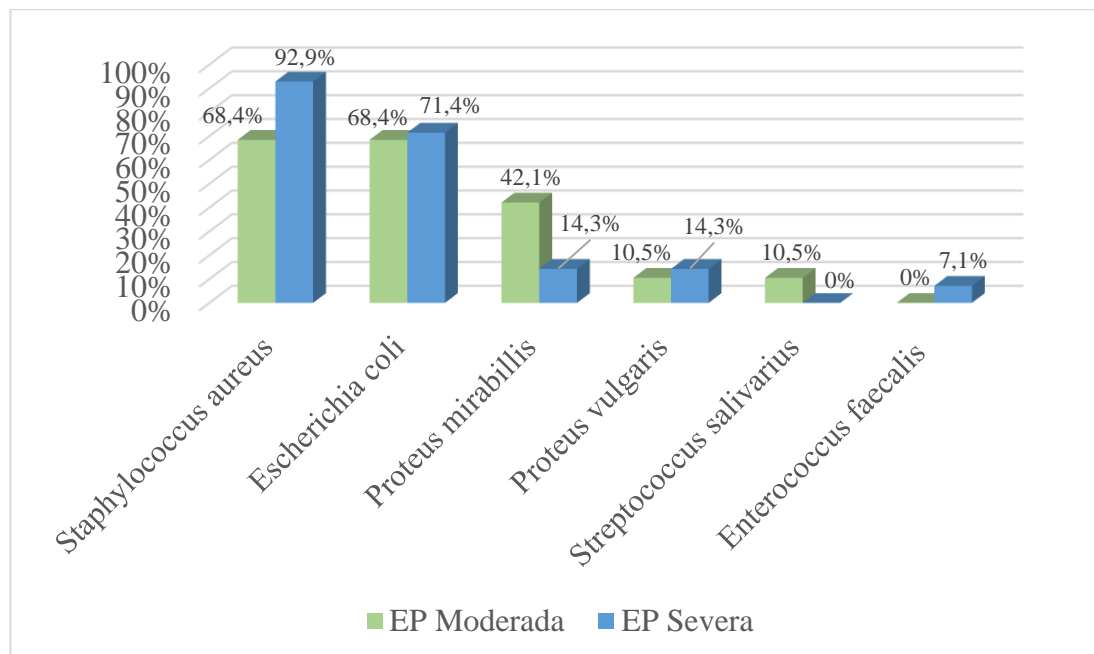
Vega et al. (2014) aislaron los principales agentes bacterianos presentes en la EP moderada a severa. La frecuencia fue alta para las especies *Escherichia coli* (40%) y *Staphylococcus aureus* (30%). Esto concuerda con el presente estudio debido a que tanto *S. aureus* y *E. coli*, fueron las bacterias aisladas con mayor frecuencia en ambas etapas de la EP (Tablas 3 y 4). Además, coincide con la frecuencia baja de especies como *P. mirabilis* y *P. vulgaris* en los casos de periodontitis severa, con un 6,7% cada una, del total de caninos empleados en su estudio, así como fue el caso en esta

investigación, en el que ambas especies de *Proteus* representan solo el 14,3% de bacterias aisladas en las muestras de los pacientes con EP grado IV.

No obstante, la baja frecuencia de *Enterococcus faecalis* difiere con **Souto y Colombo (2008)** quienes mencionan que es común el aislamiento de esta especie en pacientes con periodontitis severa, e incluso lo demostraron con la detección del 34,9% de un total de 56 pacientes con EP del grado IV. Por otro lado, *Streptococcus salivarius*, una de las especie con baja frecuencia en los casos de EP de grado III (tabla 3) es una bacteria predominante de la mucosa lingual según **Corrales et al. (2019)**, por lo que se mantiene en contacto directo con la placa dental, lo cual justifica su presencia poco relevante.

Gráfico 2

Comparación de frecuencias porcentuales de las bacterias predominantes según el grado III y IV de EP



El gráfico 2 presenta las frecuencias porcentuales de cada bacteria predominante aislada en esta investigación, con relación a los grados III y IV de progresión de la EP.

Las barras y porcentajes del gráfico muestran que existe mayor frecuencia de aislamiento en el grado severo, cuatro de 6 bacterias lo demuestran. Entre las que se describen a *S. aureus* con un 92,9% en EP de grado severo sobre el 68,4% de esta especie en el grado moderado, 71,4% de *E. coli* sobre un 68,4%, 14,3% de *P. vulgaris* contra un 10,5% y la presencia singular de *E. faecalis* con un 7,1% en el grado severo sobre el 0% en el grado moderado. Mientras tanto, solamente el agente *P. mirabilis* con 42,1% en el grado moderado supera la frecuencia porcentual sobre el 14,3% en el severo, además de la presencia particular de *S. salivarius* con un 10,5% en la EP moderada sobre el 0% en el grado severo de la EP.

3.1.2 Clasificación de los agentes bacterianos predominantes mediante cultivo bacteriológico

Tabla 5

Clasificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas

Bacterias aerobias y anaerobias facultativas					
Cocos (+)	N	%	Bacilos (-)	N	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	89,7	<i>Escherichia coli</i>	23	62,2
<i>Streptococcus salivarius</i>	2	6,9	<i>Proteus mirabilis</i>	10	27
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	3,4	<i>Proteus vulgaris</i>	4	10,8
<i>Total</i>	29	43,9		37	56,1

Las muestras de placa dental fueron procesadas en el medio de cultivo PCA que permite el crecimiento de microorganismos aerobios y anaerobios. Posteriormente las bacterias predominantes son sembradas en diferentes medios de cultivo para su identificación. Dando como resultados que el 43,9% corresponda a bacterias del tipo cocos Gram positivos, dentro de los cuales se describen a *S. aureus* (89,7%), *S. salivarius* (6,9%) y *E. faecalis* (3,4%). Al mismo tiempo el 56,1% restante de las muestras, concierne a bacterias del tipo bacilos Gram negativos como *E. coli* (62,2%), *P. mirabilis* (27%) y *P. vulgaris* (10,8%), ilustradas en la tabla 5.

Negro et al. (2012) consideran a los cocos Gram positivos como parte de la microbiota presente en el desarrollo inicial de la placa bacteriana, que cambia con la severidad de la patología periodontal a una microbiota predominante por bacilos anaerobios Gram negativos. Lo que contrasta ligeramente con esta investigación (tabla 5), debido a que tanto cocos Gram positivos y bacilos Gram negativos fueron bacterias predominantes aisladas de los grados avanzados de la EP III y IV.

3.1.3 Relación entre las bacterias predominantes con los grados moderado y severo de la periodontitis y el conteo de UFC

Tabla 6

Relación de las bacterias identificadas con grado III y IV de la EP mediante la Prueba de Chi cuadrado de Pearson

G	Bacterias predominantes aisladas												Chi cuadrado Pearson				
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>P. vulgaris</i>		<i>S. salivarius</i>		<i>E. faecalis</i>		Total		x ² Cal	x ² Crít	P
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%			
A	13	50	13	57	8	80	2	50	2	100	0	0	38	58	5,60	11,07	0,975
B	13	50	10	43	2	20	2	50	0	0	1	100	28	42			
Total	26	100	23	100	10	100	4	100	2	100	1	100	66	100			

Nota: G: Grupos. Grupo A: EP moderada. Grupo B: EP severa. x² Cal: Chi cuadrado calculado. x²Crít: Valor crítico. P: significancia.

En la tabla 6 se describen la relación entre las bacterias reportadas y la progresión de la EP. Para evaluar si existe asociación o diferencia significativa entre el valor estadístico calculado de Chi cuadrado comparado con el valor crítico de su distribución. En este caso el valor crítico de 11,07 es mayor al del Chi cuadrado calculado de 5,60, lo que corresponde a un valor p=0,975, por lo que no presenta diferencia estadísticamente significativa. Por lo tanto, no se evidencia la relación de las bacterias en dependencia al grado de EP.

Radice et al. (2006) determinaron la flora bacteriana presente en caninos diagnosticados con diferentes etapas de EP. Entre las especies anaerobias facultativas aislaron con mayor frecuencia porcentual, 38% del total de pacientes, a *Streptococcus alfa hemolítico* asociado con *E. coli*. Mientras que, **Vega et al. (2014)** aislaron a 21 especies bacterianas en caninos con EP moderada a severa. Las bacterias identificadas con mayor frecuencia fueron *Porphyromonas gingivalis*, *E. coli* y *S. aureus*, y al igual que en el anterior estudio se presentaron de manera indiscriminada en los pacientes con diferentes grados de la EP. Por lo tanto, estas investigaciones sustentan la interpretación de la tabla 6, que no existe una dependencia de las bacterias con base a las etapas de la EP.

Tabla 7

Relación de las bacterias identificadas con el conteo de UFC/gr mediante la Prueba de Chi cuadrado de Pearson

G	Bacterias predominantes aisladas												Chi cuadrado Pearson				
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>P. vulgaris</i>		<i>S. salivarius</i>		<i>E. faecalis</i>		Total		x ² Cal	x ² Crít	P
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%			
A	137 154	29,88	172 462	47,01	10 400	71,23	90 500	34,09	348 000	100	0	0	852 116	53,61	475 029,64	11,07	<0,0001
B	321 846	70,12	194 400	52,99	42 000	28,77	175 000	65,91	0	0	4 000	100	737 246	46,39			
Total	459 000	100	366 862	100	146 000	100	265 500	100	348 000	100	4 000	100	1 589 361	100			

Nota: G: Grupos. Grupo A: EP moderada. Grupo B: EP severa. x² Cal: Chi cuadrado calculado. x²Crít: Valor crítico. P: significancia.

La tabla 7 refleja que el valor crítico de 11,07 es menor al del Chi cuadrado calculado de 475 029,64, lo que corresponde a una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) entre las medias del conteo de unidades formadoras de colonias de cada bacteria en los grupos A y B de los sujetos de estudio, que representan a los casos de EP moderada y severa respectivamente.

Medicamente se explica que a mayor cantidad de tiempo transcurrido sin tratar la EP las UFC también incrementan su número en conjunto con la progresión de la EP, por lo que se justifica que la relación entre el grado de EP y el conteo de UFC sean dependientes, como lo demuestran **Medina et al. (2017)** quienes aplicaron un tratamiento a base de una infusión de Manzanilla al 20% en caninos diagnosticados con EP grado I y observaron una disminución del 84,83% del conteo total de las UFC desde el día 15.

3.1.4 Categorización por intervalos de las bacterias predominantes aisladas con mayor frecuencia en función a la cantidad de UFC/gr

Las tablas 8, 9, 10, 11 y 12 están conformadas por intervalos establecidos mediante la Regla de STURGES para datos agrupados, la misma que permite calcular información como número de intervalos, datos de la muestra, amplitud de rango y los límites inferior y superior de cada intervalo. Las siguientes categorizaciones están realizadas con base al recuento de UFC/gr de cada bacteria aislada en la presente investigación (Anexos 8-12).

Tabla 8*Categorización de Staphylococcus aureus en EP moderada*

N° de intervalos	Intervalos de UFC/gr		Frecuencia	
	LI	LS	n	%
1	4 000	106 000	9	69,2
2	106 000	208 000	1	7,7
3	208 000	310 000	0	0
4	310 000	412 000	2	15,4
5	412 000	514 000	1	7,7
Total			13	100
MEDIA	208 000	310 000		

Nota: LI: límite inferior. LS: límite superior

La tabla 8 refleja los límites inferiores y superiores de 5 intervalos a partir de los valores mínimo y máximo obtenidos de *S. aureus* en casos de periodontitis moderada, con una amplitud de 102 000 para cada uno. En el primer intervalo esta bacteria se presentó con una frecuencia porcentual de 69,2%, en el segundo con 7,7%, en el tercero no hubo casos reportados, el cuarto con 15,4% y el quinto con 7,7%. Se establecieron las medias de los límites inferiores y superiores que dieron como resultado un intervalo promedio de 208 000 - 310 000 UFC/gr de *S. aureus* en EP moderada.

Tabla 9*Categorización de Staphylococcus aureus en EP severa*

N° de intervalos	Intervalos de UFC/gr		Frecuencia	
	LI	LS	n	%
1	310 00	187 200	4	30,8
2	187 200	343 400	4	30,8
3	343 400	499 600	3	23,1
4	499 600	655 800	1	7,7
5	655 800	812 000	1	7,7
Total			13	100
MEDIA	343 400	499 600		

Nota: LI: límite inferior. LS: límite superior

De la misma forma en la tabla 9 se describen los límites inferiores y superiores de 5 intervalos de *S. aureus* en casos de periodontitis severa, con una amplitud de 156 200 para cada uno. En el primer y segundo intervalo esta especie se presentó con una frecuencia de 30,8%, en el tercero con 23,1%, mientras que en el cuarto y quinto con 7,7%. Se establecieron las medias de los límites inferiores y superiores que dieron como resultado un intervalo promedio de 343 400 - 499 6000 UFC/gr de *S. aureus* en EP severa.

Tabla 10*Categorización de Escherichia coli en EP moderada*

N° de intervalos	Intervalos de UFC/gr		Frecuencia	
	LI	LS	N	%
1	6 000	101 200	6	46,2
2	101 200	196 400	1	7,7
3	196 400	291 600	4	30,8
4	291 600	386 800	0	0
5	386 800	482 000	2	15,4
Total			13	100
MEDIA	196 400	291 600		

Nota: LI: límite inferior. LS: límite superior

El mismo procedimiento que para *S. aureus* se ilustra en la tabla 10 con respecto a *E. coli* en casos de periodontitis moderada. Donde en el primer intervalo se presenta con una frecuencia de 46,2%, en el segundo con 7,7%, el tercero con 30,8%, en el cuarto no hubo casos reportados y el quinto con 15,4%. Se obtuvieron las medias de ambos límites que dieron como resultado un intervalo promedio de 196 400 - 291 600 UFC/gr de *E. coli* en EP moderada.

Tabla 11*Categorización de Escherichia coli en EP severa*

N° de intervalos	Intervalos de UFC/gr		Frecuencia	
	LI	LS	N	%
1	22 000	212 000	7	70
2	212 000	402 000	1	10
3	402 000	592 000	1	10
4	592 000	782 000	1	10
Total			10	100
MEDIA	307 000	497 000		

Nota: LI: límite inferior. LS: límite superior

La tabla 11 muestra 4 intervalos de *E. coli* en periodontitis severa. Dentro del primer intervalo su frecuencia porcentual fue de 70%, mientras que en el segundo, tercero y cuarto fue de 10%. Las medias de los límites inferiores y superiores de los intervalos dieron como resultado un intervalo promedio de 307 000 - 497 000 UFC/gr de *E. coli* en EP severa.

Tabla 12*Categorización de Proteus mirabilis en EP moderada*

N° de intervalos	Intervalos de UFC/gr		Frecuencia	
	LI	LS	N	%
1	7 000	121 500	6	75
2	121 500	236 000	1	12,5
3	236 000	350 500	0	0
4	350 500	465 000	1	12,5
Total			8	100
MEDIA	178 750	293 250		

Nota: LI: límite inferior. LS: límite superior

Por otra parte, *P. mirabilis* solo se categorizó en el grado moderado de la EP, detallada en la tabla 12, a causa de la baja frecuencia porcentual en el grado severo. En esta se presenta 4 intervalos, con un 75% de frecuencia de esta especie en el primer intervalo, en el segundo y el cuarto con 12,5%, debido a que no se reportaron casos para el tercero. El intervalo promedio resultante de las medias de los límites inferior y superior fue de 178 750 - 293 250 UFC/gr de *P. mirabilis* en EP moderada.

Los datos de cuantificación de UFC no tienen información que respalde su estimación de intervalos por especie bacteriana, para su respectiva categorización por grado de progresión de la EP, sin embargo, los conteos individuales de cada bacteria predominante permitieron una relación de intervalo y amplitud de rango calculada, que facilitó un planteamiento de escalas por agente bacteriano predominante con alta frecuencia porcentual. Datos que se recomiendan podrían ser utilizados para establecer el grado de progresión de la EP mediante el conteo de UFC/gr en valores promedios.

3.2 Verificación de hipótesis

Se acepta la hipótesis nula, en la que señala que los agentes bacterianos predominantes en la placa dental de *Canis lupus familiaris* no son dependientes de los grados de progresión moderado y severo de la enfermedad periodontal.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- De acuerdo con los resultados obtenidos, los agentes bacterianos predominantes en el análisis de la placa dental de caninos con enfermedad periodontal moderada y severa a partir del cultivo y el recuento de UFC/gr, consistieron en especies como *Staphylococcus aureus* con 68,4% del grado III y 92,9% para el grado IV, *Escherichia coli* con 68,4% del grado III y 71,4% grado IV y *Proteus mirabilis* con 42,1% para el grado III y 14,3% grado IV, las mismas que fueron aisladas con mayor frecuencia. Mientras que especies como *Proteus vulgaris* con 10,5% del grado III y 14,3% del grado IV, *Streptococcus salivarius* (10,5%), *Enterococcus faecalis* (7,1%) también fueron identificadas como predominantes en muestras puntuales, pero su frecuencia porcentual fue baja.
- Las especies bacterianas aisladas pertenecen al grupo de aerobios y anaerobios facultativos. Entre ellas se mencionan especies de cocos Gram positivos que son altamente resistentes y logran adaptarse a diversos medios como *S. aureus*, *S. salivarius* y *E. faecalis*. También se identificaron bacilos Gram negativos como *E. coli*, *P. mirabilis* y *P. vulgaris* que son considerados parte de la microbiota normal del perro a niveles del tracto gastrointestinal y urogenital.
- A partir del análisis estadístico se comprobó que las bacterias aisladas no dependieron del grado de progresión de la EP moderada y severa para desarrollarse, es decir, pueden estar en ambas etapas de la periodontitis, sin embargo, lo que las diferencia es la carga bacteriana que contienen en cada grado de progresión de la EP, la misma que es respaldada estadísticamente con la relación existente entre la presencia de las bacterias y el recuento de UFC/gr.

4.2 Recomendaciones

- Para complementar la información proporcionada mediante esta investigación, se recomienda realizar más estudios que expongan la importancia del aumento de la carga bacteriana en el progreso de la EP moderada y severa.
- Encaminar posteriores estudios a la microbiota anaerobia estricta que causa la mayoría de afecciones a nivel subgingival y puede llevar a los pacientes a un estado crónico de enfermedad periodontal.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Aguilar, S. (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud En Tabasco*, 11(1–2), 333–338. <https://www.redalyc.org/pdf/487/48711206.pdf>
- Anton, L., y Arriaga, A. (2020). *Identificación microbiológica en enfermedades gingivalperiodontales en perros atendidos en Consultorio Veterinario el Fortín*. Universidad De Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/49134>
- Cabreta, A., Guerra, M., Soca, M., Rodríguez, V., y Domínguez, H. (2012). Flora bucal en perros de la raza Beagle con enfermedad periodontal inducida (Buccal flora in Beagle dogs race with periodontal disease-induced). *Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(1), 1–10.
- Cárdenas, N., y Cedeño, C. (2020). *Influencia de la alimentación basada en 3 dietas en la salud gingivalperiodontal en perros*. Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/49133>
- Corrales, L. C., Antolinez Romero, D. M., Bohórquez Macías, J. A., y Corredor Vargas, A. M. (2019). Identificación de microbiota bucal en caninos en estado de abandono. *Nova*, 17(32), 39–64. <https://doi.org/10.22490/24629448.3632>
- De Gregorio, M. (2021). *Periodontitis Canina: Higiene bucal, la clave para la prevención*. Universidad Nacional de Río Negro. <https://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/7222>
- Fox, R., & Bonda, M. (2017). *Periodontal disease and treatment : Dental Scaling*. River Landings Animal Clinic. <http://www.riverlandingsanimalclinic.com/news/2017/2/21/periodontal-disease-and-treatment>
- Gorrel, C. (2010). *Odontología de pequeños animales*. Elsevier España.
- Gorrel, C. (2013). *Veterinary Dentistry for the General Practitioner*. Elsevier Saunders.

- Hidrología, I. (Instituto N. de M. e). (n.d.). *Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología*. <https://www.inamhi.gob.ec/informacion-en-linea/>
- Karaaslan, F., Demir, T., y Barış, O. (2020). Effect of Periodontal Disease-associated Bacteria on the Formation of Dental Calculus: An In Vitro Study. *Journal of Advanced Oral Research*, *11*(2), 165–171. <https://doi.org/10.1177/2320206820919591>
- Larraín, Y., y Gernández, V. (2017). Evaluación de la Severidad de la Enfermedad Periodontal en Dientes Premolares Superiores en Comparación a los Dientes Premolares Inferiores en Pacientes Caninos.pdf. *Revista Investigación Veterinaria Perú*, *28*(2), 370–375. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i2.13060>
- León, K., Quijano, A., Barbosa, M., y Del Ángel, J. (2014). Seminario de Residentes de la Especialidad en Medicina y Cirugía en Perros y Gatos, Generación 2012-2014. In *Uaem*. Hospital Veterinario para Pequeñas Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. [http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/58495/León-López K.pdf?sequence=1](http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/58495/León-López%20K.pdf?sequence=1)
- Lobprise, H., y Dodd, J. (2019). *Wigg's Veterinary Dentistry*. Willey Blackwell. 10.1002/9781118816219
- Maetahara, A., Fernández, V., Chipayo, Y., y Suárez, F. (2010). Frequency and severity of periodontal disease in canine patients of a pet clinic in Lima City. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *21*(1), 68–72.
- Medina, D., y Chang, D. (2017). Infusión de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) como tratamiento para la enfermedad periodontal canina. *Revista Electrónica de Veterinaria*, *18*(9), 1-21. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653009045.pdf>
- Negro, V. B., Hernández, S. Z., Pereyra, A., Rodríguez, D. I., Ciappesoni, J. L., Saccomanno, D. M., Toriggia, P. G., y Carloni, G. (2012). Bacterias subgingivales aisladas de perros con enfermedad periodontal y su susceptibilidad a antimicrobianos. Primera comunicación en la República Argentina. *Investigación Veterinaria-InVet*, *14*(2), 141–149.

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-34982012000200002

- Niemiec, B. (2013). Veterinary Periodontology. In *Veterinary Periodontology*. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118705018>
- Niemiec, J., Gawor, A., Nemec, D., Clarke, K., McLeod, C., Tutt, M., Gioso, P., Steagall, M., Chandler, G., Morgenegg, R., y Jouppi. (2020). World Small Animal Veterinary Association Global Dental Guidelines. *Journal of Small Animal Practice*, 61(7), E36–E161. <https://doi.org/10.1111/jsap.13132>
- Núñez, D. (2016). *Estadificación de los grados de severidad de la periodontitis en caninos en base al conteo leucocitario en el líquido gingivo crevicular*. Universidad de Las Américas. <https://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/5611>
- Patiño, N. (2017). *Evaluación del efecto de la ozonoterapia sobre la diversidad y número de bacterias presentes en la cavidad oral de perros con enfermedad periodontal*. Universidad de Cuenca. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/27571>
- Penman, S., Thompson, M., y Oxford, M. (2019). Periodontal Disease. *Vetlexicon Powered by Vetsdram*, 1–4. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48253-0.00161-6>
- Perrone, J. (2021). *Small Animal Dental Procedures for Veterinary Technicians and Nurses*. Wiley Blackwell.
- Pieri, F., Falci, A., Bourguignon, E., y Scatamburlo, M. (2012). *Periodontal Disease in Dogs*. Federal University of Viçosa. <https://doi.org/10.5772/29846>
- Radice, M., Martino, P. A., y Reiter, A. M. (2006). Evaluation of subgingival bacteria in the dog and susceptibility to commonly used antibiotics. *Journal of Veterinary Dentistry*, 23(4), 219–224. <https://doi.org/10.1177/089875640602300404>
- Roman, F., Fernández, J., Collados, J., y Trobo, J. (2014). Descubriendo la cavidad oral. *Revista AVEPA*, 45. https://avepa.org/pdf/proceedings/ODONTOLOGIA_PROCEEDINGS2014.pdf
- Rubiano, D., Rojas, D., Almansa, J., Villalobos, M., Montoya, D., y Urquijo, G.

- (2012). Frecuencia de enfermedad periodontal y caries en caninos del Centro de Zoonosis de BOGOTÁ. *Revista Nacional de Odontología*, 8(15), 21–29. <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/od/article/view/268/278>
- Ruparell, A., Inui, T., Staunton, R., Wallis, C., Deusch, O., y Holcombe, L. J. (2020). The canine oral microbiome : variation in bacterial populations across different niches. *BMC Microbiology*, 20(42), 1–14.
- San Román, F. (1999). *Atlas de Odontología de Pequeños Animales*. GRASS Edicions.
- Sauer, L., Silva, N., Oliveira, L., Barboza, E., Lima, M., Arias, A., y Santiago, R. (2018). Occurrence of dental disorders in dogs. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46, 1600. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.89375>
- Stephan, B., Greife H. A., Pridmore A. y Silley P. (2008). Activity of pradofloxacin against Porphyromonas and Prevotella spp. Implicated in periodontal disease in dogs: susceptibility test data from a European multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother*, 52(6), 2149- 55. <https://doi.org/10.1128/aac.00019-08>
- Souto, R., y Colombo, A. P. V. (2008). Prevalence of Enterococcus faecalis in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Archives of Oral Biology*, 53, 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2007.08.004>
- Toriggia, P. (2014). *Enfermedad periodontal en el perro: Características ultramicroscópicas de dientes afectados y sus modificaciones con la terapia periodóncica*. Universidad de Buenos Aires. http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/avaposgra/index/assoc/HWA_1473.dir/1473.PDF
- Vega, H., Fernández, V., Slever, M., Calle, S., y Pérez, C. (2014). Determinación de la susceptibilidad antibiótica in vitro de bacterias subgingivales en caninos con enfermedad periodontal moderada a severa. *Revista Investigación Veterinaria Perú*, 25(1), 77–87. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172014000100009

Wallis, C., Milella, L., Colyer, A., Flynn, C. O., Harris, S., y Holcombe, L. J. (2021). Subgingival microbiota of dogs with healthy gingiva or early periodontal disease from different geographical locations. *BMC Veterinary Research*, 17(7), 1–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12917-020-02660-5>

ANEXOS

Anexo 1. Población mensual de pacientes caninos con EP moderada y severa

TIEMPO	GRADOS DE PROGRESIÓN DE EP		Total
Meses	Moderada	Severa	
oct-22	6	5	11
nov-22	3	6	9
dic-22	7	5	12
ene-23	9	3	12
feb-23	6	8	14
mar-23	5	7	12
		\bar{x}	11,67

\bar{x} Mensual	12
-------------------------------------	-----------

Anexo 2. Ficha de Odontograma

Registro Dental Canino																					Fecha:		Abreviaciones
Propietario:											Sexo:								Edad:				
Nombre del paciente:																							<p>Cn = Depósitos de Placa (supo/sub) y/o cálculo (0-3)</p> <p>Gn = Puntuación de gingivitis (1-3)</p> <p>In = Pérdida de Inserción (%)</p> <p>Pn = Profundidad del surco gingival (mm)</p> <p>Fn = Furca (1-3)</p> <p>Mn = Movilidad (0-3)</p> <p>PD = Diagnóstico periodontal (1-4)</p> <p>B = Biofilm</p> <p>A = Abscesos</p> <p>PE = Pulpa expuesta</p> <p>PDnrr = Diente de leche persistente</p> <p>U = Úlcera</p> <p>X = Extraído</p> <p>O = Diente no presente</p> <p>∧ = Inclinación/posicionamiento</p> <p># = Fractura</p> <p>Observaciones:</p> <hr/> <hr/>
Dientes #	110	109	108	107	106	105	104	103	102	101	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210			
C																							
G																							
I																							
P																							
M																							
PD																							
Dientes #	411	410	409	408	407	406	405	404	403	402	401	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	
C																							
G																							
I																							
P																							
M																							
PD																							

Fuente: (Niemiec et al., 2020; Perrone, 2021).

Anexo 3. Identificación de paciente



Inspección de la cavidad bucal



Evaluación de signos vitales



Preanestesia intramuscular



Paciente anestesiado

Anexo 4. Toma y envío de muestra



Paciente con EP moderada



Paciente con EP severa



Selección de la pieza dental para muestreo



Raspado de la placa dental con Cureta

Gracey



Toma de muestra con cepillo citológico



Muestra en tubo sin aditivo



Rotulación de la muestra



Envío de muestra al laboratorio



Profilaxis dental



Sondaje periodontal

Anexo 5. Registro del estado clínico de las piezas dentales en el Odontograma

Registro Dental Canino																				Fecha: 05/06		Abreviaciones			
Propietario: <i>Edna Reyes</i>																		Sexo: <i>Macho</i>		Edad: <i>5 años</i>		Peso: <i>1kg</i>			
Nombre del paciente: <i>Rochy</i>																									
Dientes	107	106	105	104	103	102	101	100	99	98	97	96	95	94	93	92	91	90	89						
C	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1						
G	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1						
I																									
P																									
M																									
PD																									
																				<p>Cn = Depósitos de cálculo (0-3) <i>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12</i></p> <p>Gn = Puntuación de gingivitis (1-3)</p> <p>In = Pérdida de inserción (%)</p> <p>Pr = Profundidad del surco gingival (mm)</p> <p>Mx = Movilidad (0-3)</p> <p>PD = Diagnóstico periodontal (1-4)</p> <p>B = Ecchymosis</p> <p>A = Abscesos</p> <p>PE = Pulpa expuesta</p> <p>PDann = Diente de leche persistente</p> <p>U = Úlcera</p> <p>X = Extraído</p> <p>O = Diente no presente</p> <p>∠ = Inclinación/posicionamiento</p> <p>+/- = Relación de longitud</p> <p>≠ = Fractura</p> <p>Opacidades: - 100% opaca - 100% opaca moderada</p>					
Dientes	411	410	409	408	407	406	405	404	403	402	401	400	399	398	397	396	395	394	393						
C																									
G																									
I																									
P																									
M																									
PD																									

Paciente macho con EP moderada

Registro Dental Canino																				Fecha: 02/06		Abreviaciones			
Propietario: <i>Marta Galindo</i>																		Sexo: <i>Hembra</i>		Edad: <i>4 años</i>		Peso: <i>7,3</i>			
Nombre del paciente: <i>Megilona</i>																									
Dientes	107	106	105	104	103	102	101	100	99	98	97	96	95	94	93	92	91	90	89						
C																									
G																									
I																									
P																									
M																									
PD																									
																				<p>Cn = Depósitos de Placa (sup/sub) y/o cálculo (0-3)</p> <p>Gn = Puntuación de gingivitis (1-3)</p> <p>In = Pérdida de inserción (%)</p> <p>Pr = Profundidad del surco gingival (mm)</p> <p>Mx = Movilidad (0-3)</p> <p>PD = Diagnóstico periodontal (1-4)</p> <p>B = Ecchymosis</p> <p>A = Abscesos</p> <p>PE = Pulpa expuesta</p> <p>PDann = Diente de leche persistente</p> <p>U = Úlcera</p> <p>X = Extraído</p> <p>O = Diente no presente</p> <p>∠ = Inclinación/posicionamiento</p> <p>+/- = Relación de longitud</p> <p>≠ = Fractura</p> <p>Opacidades: - 100% opaca - 100% opaca moderada</p>					
Dientes	411	410	409	408	407	406	405	404	403	402	401	400	399	398	397	396	395	394	393						
C																									
G																									
I																									
P																									
M																									
PD																									

Paciente hembra con EP moderada

Registro Dental Canino																												Fecha: 05/05		Abreviaciones	
Propietario: Dario Malle																															
Nombre del paciente: Syomar														Sexo: Macho				Edad: 7 años				Peso: 14 kg									
Diámetro	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
C	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
G	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
I	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
P	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
M	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
PD	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
<p> Cn = Depósitos de cálculo (0-3) <i>0, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000. </i></p>																															

Paciente macho con EP severa

Registro Dental Canino																												Fecha: 25/05		Abreviaciones	
Propietario: Teresa López																															
Nombre del paciente: Lyle														Sexo: Hembra				Edad: 9 años				Peso: 19,37 kg									
Diámetro	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	
C	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
G	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
I	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
P	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
M	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
PD	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
<p> Cn = Depósitos de Placa (sup/sub) y/o cálculo (0-3) Gr = Puntuación de gingivitis (1-3) In = Pérdida de Inserción (%) Pr = Profundidad del surco gingival (mm) Mv = Movilidad (0-3) PD = Diagnóstico periodontal (1-4) </p> <p> X = Extraído O = Diente no presente / = Inclinación/posicionamiento = Relación de longitud # = Fractura </p> <p> Observaciones: - Pulpa expuesta - Inclinación severa - Pico en espacio de la arcada superior </p>																															

Paciente hembra con EP severa

Anexo 6. Crecimiento bacteriano en placa PCA



Crecimiento de colonias en PCA



Crecimiento de colonias en PCA

Anexo 7. Conteo total de UFC/ml de las muestras de placa dental en cada paciente

RESULTADOS			
N°	Nombre	Total, UFC/ml	Bacterias Predominantes Aisladas
1	Rockys	>25 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
2	Simur	>100 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
3	Duque	>100 000	<i>Streptococcus salivarius</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
4	Toby	>150 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Enterococcus faecalis</i>
5	Lulu	>250 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
6	Canela	>200 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
7	Medialuna	>250 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
8	Felipe	>250 000	<i>Proteus mirabilis</i>
			<i>Escherichia coli</i>
9	Pequeña	<50 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Proteus vulgaris</i>
10	Max	<50 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
11	Renzo	>150 000	<i>Proteus vulgaris</i>
			<i>Escherichia coli</i>
12	Chavo	>250 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>

13	Rutilio	>100 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
14	Princesa	>250 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
15	Copito	>100 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
16	Lupe	>100 000	<i>Streptococcus salivarius</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
17	Thor	>250 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
18	Lito	>200 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
19	Lunita	>250 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
20	Spot	>100 000	<i>Proteus vulgaris</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
21	Oso	>250 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
22	Luly	>200 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
23	Laica	<100 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
24	Nina	>100 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
25	Peter	>200 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Escherichia coli</i>
26	Lazzy	<100 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
27	Chiripa	<100 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
28	Zury	>200 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
29	Tita	<100 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
30	Dinky	>150 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Staphylococcus aureus</i>
31	Tobi	>100 000	<i>Escherichia coli</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
32	Nini	>250 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Proteus vulgaris</i>
33	Alú	<200 000	<i>Staphylococcus aureus</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>

Anexo 8. *UFC/gr de Staphylococcus aureus en pacientes con EP moderada*

<i>Staphylococcus aureus</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Luly	4 000
2	Zury	7 000
3	Max	13 000
4	Lupe	21 000
5	Duque	27 000
6	Rockys	28 000
7	Tita	59 000
8	Chiripa	78 000
9	Canela	87 000
10	Medialuna	177 000
11	Thor	369 000
12	Rutilio	399 000
13	Peter	514 000

Anexo 9. *UFC/gr de Staphylococcus aureus en pacientes con EP severa*

<i>Staphylococcus aureus</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Dinky	31 000
2	Copito	37 000
3	Spot	79 000
4	Alú	149 000
5	Chavo	249 000
6	Simur	294 000
7	Lulu	327 000
8	Nini	342 000
9	Nina	408 000
10	Lito	423 000
11	Toby	488 000
12	Oso	545 000
13	Lunita	812 000

Anexo 10. UFC/gr de *Escherichia coli* en pacientes con EP moderada

<i>Escherichia coli</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Tita	6 000
2	Renzo	8 000
3	Pequeña	19 000
4	Lazzy	52 000
5	Laica	61 000
6	Tobi	97 000
7	Rutilio	187 000
8	Felipe	206 000
9	Canela	209 000
10	Luly	229 000
11	Zury	253 000
12	Medialuna	433 000
13	Peter	482 000

Anexo 11. UFC/gr de *Escherichia coli* en pacientes con EP severa

<i>Escherichia coli</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Lunita	22 000
2	Oso	28 000
3	Lito	36 000
4	Simur	52 000
5	Copito	83 000
6	Nina	96 000
7	Dinky	117 000
8	Lulu	226 000
9	Chavo	502 000
10	Princesa	782 000

Anexo 12. UFC/gr de *Proteus mirabilis* en pacientes con EP moderada

<i>Proteus mirabilis</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Rockys	7 000
2	Tobi	7 000
3	Chiripa	13 000
4	Lazzy	16 000
5	Laica	24 000
6	Thor	94 000
7	Max	206 000
8	Felipe	465 000

Anexo 13. UFC/gr de *Proteus mirabilis* en pacientes con EP severa

<i>Proteus mirabilis</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Alú	36.000
2	Princesa	48.000

Anexo 14. UFC/gr de *Proteus vulgaris* en pacientes con EP moderada y severa

<i>Proteus vulgaris</i>				
	Moderada		Severa	
N°	Paciente	UFC/gr	Paciente	UFC/gr
1	Pequeña	5 000	Nini	86 000
2	Renzo	176 000	Spot	264 000

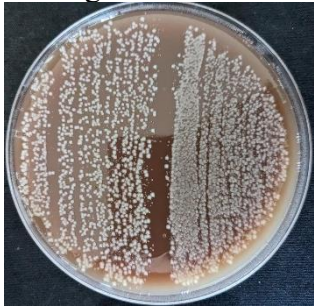
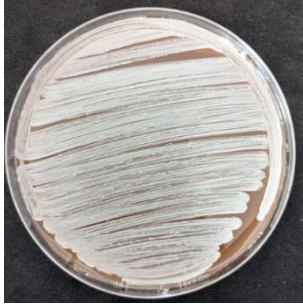

Anexo 15. UFC/gr de *Streptococcus salivarius* en pacientes con EP moderada

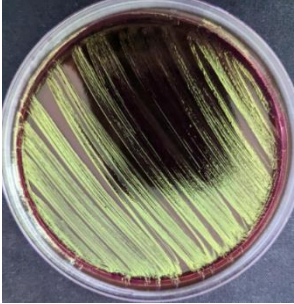

<i>Streptococcus salivarius</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Lupe	87 000
2	Duque	348 000


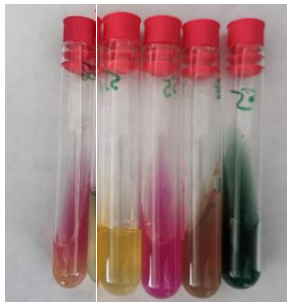
Anexo 16. UFC/gr de *Enterococcus faecalis* en pacientes con EP severa



<i>Enterococcus faecalis</i>		
N°	Paciente	UFC/gr
1	Toby	4 000

Anexo 17. Identificación de bacterias en medios de cultivo y pruebas bioquímicas

Medio de cultivo	Bacterias aisladas/ Características
<p>Agar chocolate</p>  <p>Prueba de coagulasa</p> 	<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>- Colonias blanquecinas, pequeñas, circulares, convexas, con bordes redondos.</p> <p>-Positiva -Formación de pequeños coágulos blanquecinos sobre las colonias.</p>
<p>Agares chocolate y MacConkey</p> 	<p><i>Escherichia coli</i></p> <p>Agar chocolate -Colonias medianas, color blanco, forma circular convexas, bordes redondeados.</p> <p>Agar MacConkey -Colonias lactosa positivas: color rosado, medianas, circulares, con bordes redondos, con superficie convexa.</p>

<p>Agar Eosina y Azul de Metileno</p> 	<p>-Colonias pequeñas, color verde metálico, característico de <i>E. coli</i> en este agar.</p>
<p>Agar sangre</p> 	<p><i>Streptococcus salivarius</i></p> <p>-Colonias con reacción alfa hemólisis: color verde marrón</p>

Pruebas bioquímicas	Bacterias aisladas/ Características
<p>Bilis Esculina</p> 	<p><i>Proteus mirabilis</i></p> <p>-Positiva: Ennegrecimiento del medio.</p>
<p>TSI, LIA, Urea, Rojo metilo, Citrato de Simmons</p> 	<p><i>Proteus vulgaris</i></p> <p>-Tsi K/A -LIA A/A -Ureasa positiva: Color rosado-rojizo -Rojo metilo positivo -Citrato negativo -Motilidad positivo</p>

<p>Prueba de la catalasa</p>  <p>Bilis Esculina</p> 	<p><i>Enterococcus faecalis</i></p> <p>-Negativa</p> <p>-Positiva: Hidrólisis de la esculina y oscurecimiento del medio.</p>
--	--