

Bacterias subgingivales aisladas de perros con enfermedad periodontal y su susceptibilidad a antimicrobianos. Primera comunicación en la República Argentina

Subgingival bacteria encountered in dogs suffering spontaneous periodontal disease and susceptibility to antimicrobials. First report in Republica Argentina

**NEGRO, V.B.¹; HERNÁNDEZ, S.Z.¹; PEREYRA, A.²; RODRÍGUEZ, D.I.¹; CIAPPESONI, J.L.¹;
SACCOMANNO, D.M.¹; TORIGGIA, P.G.¹; CARLONI, G.²**

¹Cátedra de Cirugía, ²Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, Chorroarín 280 (C1427CWO) CABA, Argentina.

RESUMEN

La microbiota subgingival relacionada con la enfermedad periodontal en el perro ha sido estudiada pero solo existen investigaciones realizadas en el exterior. En el conocimiento de los autores no hay trabajos sobre este tema en nuestro medio. Por ello se decidió estudiar la microbiota subgingival y su sensibilidad a antimicrobianos en pacientes caninos con enfermedad periodontal de ocurrencia espontánea, que debieran ser sometidos a tratamiento en el Servicio de Cirugía del Hospital Escuela de Medicina Veterinaria (HEMV) y en el Servicio de Odontología y Cirugía Máxilofacial, Facultad de Ciencias Veterinaria, UBA. De un total de 54 sitios provenientes de 18 perros, previa determinación del grado de periodontitis, se tomaron muestras subgingivales con cureta de Gracey y se aislaron 105 microorganismos (79 aerobios y anaerobios facultativos y 28 anaerobios estrictos). En aquellos sitios con bolsillos periodontales más profundos (mayores a 4 mm) se aislaron más frecuentemente bacterias anaerobias estrictas. Se determinó sensibilidad a antimicrobianos según Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Ninguno de los microorganismos aislados presentó resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, gentamicina, vancomicina, clindamicina o metronidazol. Al no estar disponibles datos de este tipo en nuestro país, los resultados obtenidos en el presente estudio podrán ser de utilidad en el tratamiento de perros afectados.

Palabras clave: (bacterias subgingivales), (enfermedad periodontal), (perro).

Correspondencia *e-mail*: Graciela Carloni gcarloni@fvvet.uba.ar

Recibido: 11-10-2012

Aceptado: 04-07-2013

SUMMARY

Although the subgingival microbiota on periodontal disease in the dog, has been studied, there are only abroad reports. In the knowledge of the authors none research of this type was carried out in our country. Because of that it was decided to study the subgingival microbiota and its susceptibility to antimicrobial drugs in dogs, suffering of spontaneously occurring periodontal disease that should be treated in the Surgical Service, Veterinary Medicine Teaching Hospital and in the Dental Service, Faculty of Veterinary Sciences, UBA. A total of 54 sites from 18 dogs were sampled subgingivally with a Gracey curet, determining previously the periodontal status by means of a dental probe. A total of 105 microorganisms were isolated (79 aerobes and facultaty anaerobes and 28 strict anaerobes). Strict anaerobic bacteria were isolated more often in those sites with deeper periodontal pockets (greater than 4 mm). Susceptibility of antimicrobial was determined according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). None of the isolate microorganisms exhibited resistance to amoxicilin/acid clavulanic, gentamicine, vancomicine, clindamicin neither or metronidazol. The results obtained will be of great utility in the treatment of the affected dogs upon not being available data of this type in our country.

Key words: (subgingival bacteria), (periodontal disease), (dog).

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal (EP) es una de las patologías bucales más comunes en los perros²², afectando al 85-90% de los caninos mayores a 3 años¹¹. EP es un término general que engloba un grupo de lesiones inflamatorias inducidas por la placa bacteriana, que involucra al tejido de sostén del diente. Se denomina gingivitis cuando la inflamación inducida por la placa se limita al tejido blando de la encía, manteniendo la profundidad normal del surco gingival (hasta 3 mm en el perro). Cuando la inflamación es más profunda, con pérdida de los tejidos de soporte del diente, conformando bolsillos periodontales patológicos (verdaderos, mayores a 4 mm), se habla de periodontitis^{9,14,35}.

La EP es causada por la acumulación de bacterias en forma de placa sobre la superficie de los dientes.¹⁵ La microbiota de esa placa dental es el factor iniciador de la EP, pero afecta a un sujeto en particular, donde la forma y extensión del daño depende de los mecanismos de defensa del huésped ante esta agresión^{9,23,35}. Actualmente se reconoce que la placa bacteriana es un biofilm^{25,26} y se ha demostrado que los animales libres de gérmenes no desarrollan

EP²⁰, por lo que la presencia de la placa es condición necesaria para el desarrollo de la enfermedad. La retención en el tiempo de estas bacterias resulta en un cambio de la microbiota predominante, desde cocos gram positivos aeróbicos, hasta una más móvil compuesta por bacilos gramnegativos anaeróbicos. Una placa mixta aeróbica-anaeróbica se encuentra comúnmente en los animales con enfermedad periodontal^{7,8,10,11,14,27}.

Un hecho importante en el desarrollo de la periodontitis es el consumo de oxígeno por la acumulación de bacterias aeróbicas^{11,14}. En la medida en que el número de estas bacterias aumenta, la concentración de oxígeno disminuye especialmente en los bolsillos periodontales, creando un medio ideal para el desarrollo de las bacterias anaerobias^{3,11,24}. Se involucra mayormente a estas últimas sobre todo en aquellas lesiones avanzadas (bolsillos periodontales profundos) con periodontitis clínicamente activa (sitios con sangrado espontáneo o al ser tanteados con la sonda periodontal)^{11,27}. La EP es sitio-específica, es decir, no tiene un desarrollo parejo en toda la cavidad bucal del animal afectado. Puede presentarse en uno o en varios

dientes, en relación con una cara dental, etc. Además tiene características cíclicas, o sea una lesión puede estar presente, pero no clínicamente activa en ese momento^{11,14,35}.

Los antibióticos sistémicos no se recomiendan en forma rutinaria para prevenir o tratar la EP. Sin embargo se aconseja el uso de antibióticos perioperatorios en animales con EP moderada a severa, con úlceras dolorosas en la mucosa oral, así como en aquéllos que padecen alguna enfermedad sistémica que puede empeorar por la bacteriemia ocasionada durante el tratamiento o en los casos en que sea necesario realizar conjuntamente algún procedimiento quirúrgico aséptico (por ejemplo extirpación de un tumor cutáneo)^{13,14,23}.

La microbiota presente en la EP se encuentra descrita en la literatura internacional, en estudios efectuados de manera experimental sobre perros de raza beagle^{19,34,36} y en el extranjero^{7,9,10,22,27} y orientados en su mayoría a detectar las bacterias que puedan ser transmitidas al humano a través de las mordeduras de perros^{8,24,32}. En el conocimiento de los autores no se cuenta con datos sobre la microbiota presente en periodontitis espontánea en perros en Argentina, como tampoco acerca de su sensibilidad a antimicrobianos. La terapia aplicada para el tratamiento de estas afecciones bucales se basa en la descrita por la bibliografía internacional, sin conocer los perfiles locales de sensibilidad a antimicrobianos^{1,13,16,21,23,28,30}.

Los objetivos de este trabajo han sido: 1) identificar los agentes bacterianos presentes en la periodontitis espontánea, 2) estudiar su sensibilidad a los antibióticos de uso frecuente en la terapéutica en animales y 3) establecer la asociación entre la presencia de estos microorganismos, particularmente los anaerobios y el grado de enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron muestras de 54 sitios afectados por distintos grados de enfermedad periodontal, provenientes de 18 pacientes caninos de diferente sexo y edad con periodontitis que se atendieron en el Servicio de Cirugía del

Hospital Escuela de Medicina Veterinaria y en el Servicio Externo de Cirugía Máxilo-Facial, de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Se seleccionaron animales que no tuvieran antecedentes de terapia antibiótica recibida en los 30 días previos al estudio. Con el paciente anestesiado se estadió clínicamente el grado de periodontitis, con el auxilio de sonda periodontal (Fig. 1), de acuerdo a índices preestablecidos en la bibliografía^{15,35}. Las muestras subgingivales se tomaron con curetas de Gracey estériles (Fig. 2), previa eliminación del cálculo y la placa supragingival de la zona. Los hallazgos de la evaluación del grado de EP se asentaron en planillas dentales ad-hoc, elaboradas con el sistema TRIADAN de identificación dental.

Cada muestra se procesó dentro de las 2 horas posteriores a su extracción para el aislamiento de microorganismos aerobios y anaerobios. Las mismas se sembraron en: 1) agar cerebro corazón (ACC) con el agregado de 5% de sangre de ovino desfibrinada y 2) ACC con sangre equina lacada y el agregado de vitamina K (1 µg/ml) y hemina (5 µg/ml). 1) y 2) se incubaron a 37° C hasta 7 días en aerobiosis y anaerobiosis (80% hidrógeno y 20% dióxido de carbono), respectivamente^{17,18}.

La identificación morfo-fisiológica de los microorganismos aislados se realizó de acuerdo a la bibliografía^{3,10,17,18} y la determinación de su sensibilidad a antimicrobianos según recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para microorganismos aerobios y anaerobios^{1,4,5,6}. Para ello se seleccionaron antimicrobianos de uso frecuente en la clínica animal, dentro de los recomendados para cada grupo microbiano (aerobios y anaerobios)^{4,29,30,31}. Las drogas ensayadas fueron: ampicilina (AMP), ampicilina/sulbactama (AMP/SUL), amoxicilina/ácido clavulánico (AMO/CLA), gentamicina (GEN), ciprofloxacina (CIP), eritromicina (ERI), penicilina (PEN), vancomicina (VAN), clindamicina (CLI) y metronidazol (MET).

Se buscó la posible asociación entre signos clínicos de la enfermedad (particularmente



Figura 1. Empleo de sonda periodontal para establecer grado de EP (pérdida de sostén) y determinación de la presencia de sangrado o no (espontáneo o al realizar la maniobra).



Figura 2. Toma de muestra de microbiota subgingival con cureta de Gracey estéril.

profundidad de bolsillo y sangrado) y presencia de bacterias anaerobias estrictas, aplicando un test de χ^2 con o sin corrección de Yates según correspondiera (mediante el auxilio de software estadístico Statistix 8.0 for Windows®).

RESULTADOS

Se obtuvieron 105 aislamientos, 79 correspondientes a géneros de bacterias aerobias y anaerobias facultativos (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp., *Proteus* spp., *Escherichia* spp., *Alcaligenes* spp. y *Pseudomonas* spp.) y 28 a géneros de bacterias anaerobias estrictas (*Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp. y *Bacteroides* spp.). Los microorganismos identificados y el número de aislamientos con resistencia a antimicrobianos de cada uno se indican en la Tabla 1.

No se detectó resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, gentamicina, vancomicina, clindamicina o metronidazol, este último

ensayado exclusivamente frente bacterias anaerobias, de acuerdo a la bibliografía.^{4,6}

En aquellos sitios con bolsillos periodontales más profundos (mayores a 4 mm) se aislaron con mayor frecuencia bacterias anaerobias estrictas. Se encontró asociación entre la presencia de bacterias anaerobias estrictas y sitios con periodontitis avanzada (bolsillos periodontales mayores a 4 mm) ($p=0.000$) y sitios con periodontitis activa demostrada por el sangrado activo o al tantear con la sonda periodontal ($p=0.001$).

Comparando nuestros hallazgos con la microbiota frecuentemente involucrada en infecciones humanas causadas por mordeduras de perros³², no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de aislamientos de numerosas especies: *Streptococcus* spp. ($p=0.735$), *Staphylococcus* spp. ($p=0.444$), *Pseudomonas* spp. ($p=0.919$), *Bacteroides* spp. ($p=0.919$), *Porphyromonas* spp. ($p=0.937$), *Fusobacterium* spp. ($p=0.096$) y *Peptostreptococcus*

Tabla 1. Número de aislamientos obtenidos y de cepas resistentes encontradas (R).

Microorganismo	Nº de aislamientos	Nº de aislamientos R a				
		AMP	MP/SU	PEN	ERI	CIP
<i>Staphylococcus</i> spp.	29	14	5	16		
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	2	2		2	
<i>Streptococcus</i> spp.	19					
<i>Escherichia coli</i>	10	2	3			2
<i>Proteus</i> spp.	9	4			1	2
<i>Bacillus</i> spp.	1					
<i>Alcaligenes</i> spp.	5					
<i>Micrococcus</i> spp.	2					
<i>Bacteroides</i> spp.	4					
<i>Porphyromonas</i> spp.	9	4				
<i>Fusobacterium</i> spp.	11	2				
<i>Prevotella</i> spp.	1					
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	3					
<i>Total</i>	105					

spp. ($p=0.247$) y sí se hallaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de aislamiento de dos microorganismos: *Escherichia coli* ($p=0.017$) y *Proteus* spp. ($p=0.003$).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la microbiota subgingival asociada a periodontitis de ocurrencia espontánea en los perros de nuestro medio, es similar a la citada por otros autores en el exterior^{11,12,14,27}. También se confirma que la mayoría de los agentes aislados en las EP avanzadas son bacterias aerobias gram-positivas y anaerobias gram-negativas que, dado los múltiples mecanismos de agresión que pueden presentar, requerirían la aplicación de una terapia antimicrobiana adecuada. Por otra parte se debe considerar que si bien no se recomienda el uso de antibióticos para la prevención rutinaria de la EP, ni tampoco para su tratamiento mediante el desbridamiento periodontal ordinario de perros sanos, su aplicación estaría indicada de manera perioperatoria o como terapéutica, en animales con periodontitis moderada a severa, pacientes con úlceras dolorosas y todos aquellos perros que padezcan otra enfermedad sistémica que pueda agravarse con la bacteriemia transitoria que implica el tratamiento de la periodontitis (enfermedades cardíacas, renales, diabetes u otra alteración metabólica). De igual manera debe administrarse en aquellos pacientes que serán sometidos en el mismo tiempo quirúrgico a una cirugía limpia o limpia-contaminada^{13,14,23}.

A pesar del empleo empírico de estas drogas en la terapéutica de las periodontitis en nuestro medio, no se encontró una frecuencia de resistencia elevada en los microorganismos aislados, excepto en *Staphylococcus* spp, donde el número de cepas resistentes fue elevado, aunque no frente al grupo de β lactámicos, como suele ocurrir en clínica humana. Si bien los aislamientos de *Pseudomonas* de origen humano presentan resistencia natural a macrólidos, se ensayó eritromicina frente a este microorganismo dado que es una droga de uso

frecuente en la clínica de animales de compañía.

Entre las bacterias aisladas no se detectó resistencia a AMO/CLA de manera coincidente con un estudio in vitro¹³ que comparó la susceptibilidad de los microorganismos subgingivales aislados en el perro frente a antimicrobianos usados habitualmente en la clínica. Este trabajo incluyó cefadroxil, enrofloxacin y AMO/CLA estableciendo este último como el más efectivo tanto frente a las bacterias gram positivas y gram negativas, aerobias y anaeróbicas aisladas, con un 96% de susceptibilidad. Es difícil comparar los resultados obtenidos con otros autores, debido a diferencias en la población en estudio y en las diferentes metodologías de muestreo y de identificación microbiana descritas, así como en la presentación de los resultados. Al relacionar entonces los hallazgos de nuestro trabajo con otros investigadores que emplearon una metodología análoga, encontramos que la proporción de bacterias anaerobias aisladas, resultó similar¹² ($p=0,862$) y no se hallaron, al igual que ocurrió con otros autores^{12,27} bacterias del género *Actinobacillus*, microorganismo considerado fundamental para el desarrollo de la periodontitis juvenil humana. Estos resultados refuerzan que las características de presentación de la EP y el tipo de microbiota hallada subgingivalmente en nuestros pacientes caninos, son similares a la reportada por otros autores en el extranjero^{7,10,15}.

La comparación que hemos realizado entre la microbiota hallada en la EP y la frecuentemente involucrada en infecciones humanas causadas por mordeduras de perro³² demostró una amplia correspondencia.

En cuanto a la metodología para muestrear la microbiota de la placa bacteriana subgingival, existen investigaciones realizadas, tanto en humanos como en animales, que han empleado puntas de papel estériles². Por ello hemos realizado en primer término una experiencia piloto utilizando ese medio para recoger las muestras subgingivales, pero hallamos varios resultados dudosos negativos, en cuanto al cultivo. Además, algunos autores^{21,33} han

reportado que las muestras obtenidas con puntas de papel difieren de las obtenidas con curetas y que con éstas se obtiene una muestra representativa de todo el bolsillo mientras que con las puntas de papel sólo de la porción más externa (suelta) y coronal de la placa, por lo que es posible que con las puntas de papel se subestime la composición microbiana, especialmente en apical². Por otra parte, el cultivo y aislamiento microbiológico se considera como el *gold standard*²¹ comparándolo con otros métodos de identificación microbiológica, poseyendo la ventaja de poder determinar la posterior sensibilidad a antimicrobianos. Debido a todo ello hemos elegido realizar el muestreo subgingival mediante curetas estériles y la realización del cultivo microbiológico como medio de identificación de los microorganismos hallados.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se evidencia que la periodontitis avanzada y activa se relaciona con mayor cantidad de especies bacterianas y de microorganismos anaerobios estrictos y que, drogas como amoxicilina/ácido clavulánico y metronidazol son adecuadas para su tratamiento, en los casos en que esté justificado el empleo de antimicrobianos.

Los datos descriptos resultan los primeros en ser publicados en la Argentina, en el conocimiento de los autores. La falta de información existente en nuestro medio respecto de la enfermedad periodontal canina, de la microbiota implicada en su desarrollo y de su sensibilidad a antimicrobianos, refuerza la necesidad de continuidad de este tipo de estudios, a fin de poder caracterizar completamente la flora subgingival, no sólo de los perros, sino de otras especies domésticas como los gatos, afectados por periodontitis.

BIBLIOGRAFÍA

1- Aldridge, K.; Ashcraft, D.; Cambre, K; Pierson, C, Jenkins S, Rosenblatt J. Multicenter survey of the changing in vitro antimicrobial susceptibilities of

clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, and *Peptostreptococcus* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45: 1238-43.

2- Baker, PJ; Butler, R; Wikesjo, UM. Bacterial sampling by absorbent paper points. *Oral Microbiol Immunol.* 1996;11:266-73.

3- Carloni, G. Las bacterias anaerobias. En *Microbiología Veterinaria*, Stanchi, N. (ed) Cap 51, 465-479. Ed. Inter-Médica, Buenos Aires, Argentina, 2007

4- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Ap Standard. 2008 M 31-A3, Wayne, PA, USA.

5- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 2011; M100-S 21, Wayne, PA, USA.

6- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. 2007 M 11-A7, Wayne, PA, USA.

7- Elliott, D; Wilson, M; Buckley, C; Spratt D. Cultivable Oral Microbiota of Domestic Dogs. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(11):5470-6.

8- Forsblom, B; Sarkiala-Kessel, E; Kanervo, A; Vaisanen, M; Helander, I; Jousimies-Somer, H. Characterization of aerobic gramnegative bacteria from subgingival sites of dogs-potential bite wound pathogens. *J Med Microbiol.* 2002; 51:207- 20

9- Haffajee, D; Socransky, S. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontol.* 2000; 5: 78-111

10- Hardham, J; Dreier, K; Wong, J; Sfintescu, C; Evans, R. Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. *Vet Microbiol.* 2005;106(1-2):119-28.

11- Harvey, C. Periodontal disease in dogs: Etiopathogenesis, prevalence, and significance. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract.* 1998; 28:1111-28.

- 12- Harvey, C; Thornsberry, C; Miller, B. Subgingival bacteria. Comparison of culture results in dogs and cats with gingivitis. *J Vet Dent*. 1995; 12(4):147-150.
- 13- Harvey, C; Thornsberry, C; Miller B; Shofer F. Antimicrobial susceptibility of subgingival bacterial flora in dogs with gingivitis. *J Vet Dent*. 1995; 12(4):151-155.
- 14- Hennes, P. Enfermedad periodontal y microbiología oral. En: Crossley D; Penman, S (ed) *Manual de Odontología en Pequeños Animales*. Harcourt S.A. Madrid; British Small Animal Vet Assoc. 1999: 143-154.
- 15- Hennes, P. Review of studies assessing plaque accumulation and gingival inflammation in dogs. *J Vet Dent* 1999; 16(1):23-9.
- 16- Hirsh, D. Selected bacterial infections: anaerobes. En Prescott, J; Baggot, J; Walker, R (ed) *Antimicrobial therapy in Veterinary Medicine*. 2000. Iowa State University Press, Ames, IA.
- 17- Jousimies-Somer, H; Summanen, P; Citron, D; Baron, E; Wexler, H; Finegold, S. Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual, 6^o ed. Belmont, California, Star Publishing 2002
- 18- Kononen, E; Wade, W. *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces* and other non-spore-forming anaerobic grampositive rods. En Murray, P; Baron, E; Jorgensen, J; Landry, M; Pfaller, M. (ed). *Manual of Clinical Microbiology*, 9^o ed. ASM Press, Washington DC, 2007: 872-88.
- 19- Kornman, K; Siegrist, B; Soskolne, W; Nuki, K. The predominant cultivable subgingival flora of beagle dogs following ligature placement and metronidazole therapy. *J Periodontol Res*. 1981; 16:251-8.
- 20- Listgarten, A; Heneghan, J. Chronic inflammation in the gingival tissue of germ free-dogs. *Arch. Oral. Biol*. 1971;16:1207-13
- 21- Loomer, P. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2004; 34:49-65
- 22- Lund, E; Armstrong, P; Kirk, C; Kolar, L; Klausner, J. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J Am Vet Med Assoc*. 1999; 214:1336-41.
- 23- Manfra Maretta S. Recognition and Treatment of Periodontal Disease. *Proceedings of Atlantic Coast Veterinary Conference (ACVC)*, Atlantic City, USA, 2001. Disponible en: <http://www.vin.com/VINDBPub/Search/Proceedings/PR05000/PR00358.htm> (acceso 3/11/2011)
- 24- Martinez M. Microorganisms associated to infected dog and cat bite wounds. *Mon Electr Patol Vet*. 2005; 2 (1): 1-16.
- 25- Overman P. Biofilm: a new view of plaque. *J Contemp Dent Pract*. 2000; 1(3):18-29.
- 26- Pratten, J; Wilson, M; Spratt, D. Characterization of *in vitro* oral bacterial biofilms by traditional and molecular methods. *Oral Microbiol Immunol*. 2003;18:45-9.
- 27- Sarkiala, E; Asikainen, S; Wolf, J; Kanervo, A; Happonen, I; Jousimies-Somer H. Clinical, radiological and bacteriological findings in canine periodontitis. *J Small Anim Pract*. 1993; 34(6):265-70.
- 28- Sarkiala, E; Harvey, C. Systemic antimicrobial in the treatment of periodontitis in dogs. *Semin Vet Med Surg*. 1993; 8:197-203.
- 29- Slots, J; Ting, M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2002; 28:106-76.
- 30- Snyderman, D; Jacobus, N; McDermott, L *et al*. In vitro activities of newer quinolones against *Bacteroides* group organisms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46:3276-79.
- 31- Stephan, B; Greife, H; Pridmore, A; Silley, P. Activity of Pradofloxacin against *Porphyromonas* and *Prevotella* spp. Implicated in periodontal disease in Dogs: Susceptibility test data from European Multicenter Study. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2008; 52:2149-55.
- 32- Talam, D; Citron, D; Abrahamian, F; Moran, G; Goldstein, E. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. *N Engl J Med*. 1999; 340 (2):85-92.

- 33- Tanner, C; Goodson, J. Sampling of microorganisms associated with periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol.* 1986; 1:15-20.
- 34- Weinberg, M; Bral, M. Laboratory animal models in periodontology. *J Clin Periodontol.* 1999; 26:335-40.
- 35- Wiggs, R; Lobprise, H. Periodontology. In: Wiggs, R; Lobprise, H (ed) *Veterinary Dentistry Principles & Practice.* Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997; 186-231.
- 36- Wunder, J; Briner, W; Calkins, G. Identification of the cultivable bacteria in dental plaque from the beagle dog. *J Dent Res.* 1976; 55:1097-1102.

