Identificación de la carga bacteriana en la cavidad oral de *Canis lupus familiaris* con disbiosis en el Refugio Milagrinos, Suba, Bogotá D. C.

Yeferson Exti Mendoza Guancha

Universidad Distrital Francisco José de Caldas

Facultad de Ciencias Matemáticas y Naturales

Programa académico de Biología

Bogotá D. C.

2026

Identificación de la carga bacteriana en la cavidad oral de *Canis lupus familiaris* con disbiosis en el Refugio Milagrinos, Suba, Bogotá D. C.

Yeferson Exti Mendoza Guancha

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Biólogo

Modalidad: Investigación–Innovación

Directora

M.Sc. Luz Andrea García Caycedo

Universidad Distrital Francisco José de Caldas

Facultad de Ciencias Matemáticas y Naturales

Programa académico de Biología

Bogotá D. C.

2026

DEDICATORIA

Dedico esta investigación a mis cuadrúpedos favoritos y en especial a mi mejor amigo Memo, su compañia inspirto mi interes por conocer y estudiar a la especie que llamamos "el mejor amigo del hombre". De ti aprendí que no se necesita hablar el mismo idioma para demostrar amor. Te extraño, amigo.



Cuadrúpedos

¿Alguien comprende la filosofía
del amor de los cuadrúpedos?
Ellos no hablan,
pero se expresan con sus acciones:
sus orejas, su cola y su mirada
nos cuentan su alegría y su cariño.

Nunca pronuncian una palabra,
pero podemos sentir lo que sienten.

Mira a tu cuadrúpedo favorito,
observa cómo te busca,
cómo su alegría se vuelve tuya
sin necesidad de oírlo hablar.

Y comprenderás que su amor
vive en cada gesto,
en su compañía
y en todo lo que te dice
sin palabras.

~YEMG

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a mi familia, por apoyar mi decisión de estudiar ciencias y por alentar siempre mi curiosidad y creatividad, gracias por acompañarme en este camino.

Al Semillero de Microbiología Aplicada (MICRAP), por creer en mi idea de investigación y brindarme su apoyo para hacerla realidad. A mis compañeros, gracias por su disposición y por acompañarme como grupo. En especial, agradezco a la directora del semillero, la profesora Luz Andrea García Caycedo, quien me orientó y apoyó en cada etapa del proyecto, de ella aprendí que hacer ciencia también significa poner el conocimiento al servicio de un mundo mejor.

Al laboratorio Urano Diagnostics Colombia S.A.S., por su colaboración y por brindarme su apoyo profesional en una etapa clave de esta investigación.

Al Refugio Milagrinos, por abrirme sus puertas y hacer posible esta investigación, y a quienes dedican su tiempo y cariño al cuidado de sus animales, tambien a sus canes que formaron parte de este trabajo, gracias por darle sentido a cada pregunta y recordarme que detrás de cada muestra hay una vida que merece cuidado, respeto y amor. Sus miradas y su compañía me recordaron para quiénes espero que el conocimiento construido pueda hacer una diferencia.

Finalmente, a mi alma mater, la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, por ser el espacio donde pude aprender, crecer y dar forma a mi vocación científica, en este agradecimiento también abraza a los profesores, compañeros y amigos que fueron parte de mi formación académica y profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN 7
Palabras Clave 7
ABSTRACT 7
Keywords. 8
INTRODUCCIÓN 8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 10
JUSTIFICACIÓN 13
OBJETIVOS 14
General 14
Específicos 14
MÉTODOS 15
RESULTADOS 18
Identificar la carga bacteriana en la cavidad oral en caninos con disbiosis 18
Hallar dominancia y diversidad bacteriana en caninos con disbiosis oral 20
Cuantificar la carga microbiana en caninos con disbiosis oral 22
Determinar la resistencia a los antibióticos usados en medicina veterinaria 24
DISCUSIÓN 24
Diversidad y dominancia bacteriana en caninos con disbiosis oral 25
Cuantificación de la carga microbiana cultivable en caninos con disbiosis oral 29
Resistencia antimicrobiana de aislamientos bacterianos orales en caninos con disbiosis 30
Identificación de la carga bacteriana cultivable en cavidad oral de caninos con disbiosis 34
CONCLUSIONES 40
RECOMENDACIONES 41
REFERENCIAS 42
ANEXOS 47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procedimiento clinico de profilaxis dental en un canino con enfermedad periodontal 11

Figura 2. Representación esquemática de la disbiosis oral y la respuesta inflamatoria asociada en caninos 12

Figura 3. Diagrama de flujo de la metodología utilizada en la investigación 16

Figura 4. Identificación morfológica microscópica de los morfotipos bacterianos recuperados de cavidad oral de caninos con disbiosis oral mediante tinción de Gram 18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificación bacteriana de morfotipos recuperados de cavidad oral de caninos con disbiosis oral mediante VITEK 2 19

Tabla 2. Recuperación de morfotipos bacterianos en pacientes con carga microbiana cuantificable . 20

Tabla 3. Frecuencia e identificación de morfotipos bacterianos recuperados en caninos con disbiosis oral 21

Tabla 4. Índices ecológicos de diversidad y dominancia de morfotipos bacterianos recuperado 21

Tabla 5. Frecuencia y porcentaje de géneros bacterianos recuperados en caninos con disbiosis oral 22

Tabla 6. Índices ecológicos de diversidad y dominancia por género bacteriano recuperado 22

Tabla 7. Clasificación general del crecimiento microbiano en agar BHI 10^{-3} 23

Tabla 8. Interpretación del perfil de sensibilidad antimicrobiana de aislamientos bacterianos recuperados de cavidad oral canina 24

RESUMEN

La disbiosis oral canina se relaciona con inflamación y deterioro periodontal; sin embargo, existe información limitada sobre las bacterias cultivables presentes en animales de refugios. Este estudio tuvo como objetivo identificar y cuantificar la carga bacteriana cultivable de la cavidad oral de caninos del Refugio Milagrinos, en Suba, Bogota D.C y evaluar su diversidad, dominancia y sensibilidad antimicrobiana. Se obtuvieron muestras mediante hisopado oral de 30 caninos gerontes con signos clínicos compatibles con disbiosis. Se realizaron cultivos en condiciones aerobias y anaerobias, diluciones seriadas, recuentos en agar BHI, aislamiento en medios enriquecidos y selectivos, tinción de Gram e identificación bioquímica mediante VITEK 2 Compact. Los aislamientos seleccionados se evaluaron mediante difusión en agar, y los índices ecológicos se calcularon con Python. Se identificaron ocho morfotipos aerobios y dos anaerobios, correspondientes estos últimos a *Veillonella sp.* y *Fusobacterium necrophorum. Staphylococcus* representó el 53,3 % de las recuperaciones aerobias. Los índices de Shannon-Wiener (1,997), Simpson complementario (0,853) y Pielou (0,960) evidenciaron diversidad y elevada equidad entre los morfotipos aerobios. Las estimaciones en cultivos cuantificables oscilaron entre 20.000 y 1.740.000 UFC/mL. Los antibiogramas mostraron sensibilidad a amoxicilina/ácido clavulánico y ampicilina/sulbactam, con respuestas variables frente a los demás antibióticos. En resumen, la fracción cultivable presentó una comunidad polimicrobiana heterogénea, cuya caracterización aporta una base para el manejo microbiológico de la salud oral y destaca la importancia de orientar el uso de antimicrobianos mediante pruebas de sensibilidad.

Palabras Claves: Carga Bacteriana Cultivable, Disbiosis Oral, Diversidad Bacteriana, Microbiota Oral Canina, Resistencia Antimicrobiana.

ABSTRACT

Canine oral dysbiosis is associated with inflammation and periodontal deterioration; however, information on culturable bacteria in shelter animals remains limited. This study aimed to identify and quantify the culturable bacterial load in the oral cavity of dogs at Milagrinos Shelter in Suba, Bogotá D.C., and assess bacterial diversity, dominance, and antimicrobial susceptibility. Oral swab samples were collected from 30 geriatric dogs with clinical signs consistent with dysbiosis. Procedures included aerobic and anaerobic culture, serial dilutions, colony counts on BHI agar, isolation using enriched and selective media, Gram staining, and biochemical

identification using VITEK 2 Compact. Selected isolates underwent agar diffusion susceptibility testing, and ecological indices were calculated using Python. Eight aerobic and two anaerobic morphotypes were identified, the latter corresponding to Veillonella sp. and Fusobacterium necrophorum. Staphylococcus accounted for 53.3% of aerobic recoveries. The Shannon–Wiener (1.997), complementary Simpson (0.853), and Pielou (0.960) indices indicated diversity and high evenness among aerobic morphotypes. Estimates from quantifiable cultures ranged from 20,000 to 1,740,000 CFU/mL. Antimicrobial susceptibility tests showed susceptibility to amoxicillin/clavulanic acid and ampicillin/sulbactam, with variable responses to the remaining antibiotics. In conclusion, the culturable fraction comprised a heterogeneous polymicrobial community. Its characterization provides a basis for the microbiological management of oral health and highlights the importance of using susceptibility testing to guide antimicrobial use.

Keywords: Antimicrobial Resistance, Bacterial Diversity, Canine Oral Microbiota, Culturable Bacterial Load, Oral Dysbiosis.

INTRODUCCIÓN

Los animales mantienen una relación permanente con comunidades de microorganismos que colonizan distintas superficies y participan en su funcionamiento biológico. Estas comunidades constituyen la microbiota, definida por Marchesi y Ravel (2015) como “el conjunto de microorganismos presentes en un ambiente definido”, el concepto permite estudiar a los microorganismos como integrantes de un sistema de interacciones entre poblaciones y con el hospedero. Respecto a su origen, Cabrera y Monte (2024) sitúan la aparición del término a finales del siglo XIX y durante el siglo XX, su uso se vinculó progresivamente con los microorganismos asociados al cuerpo humano. Tambien, conviene distinguir este antecedente histórico de las definiciones contemporáneas y evitar confundir microbiota con microbioma, concepto que también incorpora el contexto ambiental de la comunidad (Marchesi & Ravel, 2015).

La importancia de la microbiota radica en las relaciones que forme con el hospedero (mutualista, comensalista o parasitaria), la microbiota puede contribuir al mantenimiento de funciones metabólicas como mejorar la absorción de nutrientes e inmunológicas del hospedero como la conservación de las barreras mucosas y la resistencia a la colonización por microorganismos potencialmente perjudiciales (Radaic & Kapila, 2021). Sin embargo, esto dependera del sitio

anatómico y de las interacciones establecidas, por lo que no deben atribuirse de forma idéntica a todas las comunidades microbianas. En el caso de la cavidad oral, los microorganismos residentes participan en la homeostasis local y ocupan nichos que pueden limitar el establecimiento de otros organismos. En consecuencia, la presencia de bacterias no representa, por sí misma, una condición patológica (Deo & Deshmukh, 2019; Radaic & Kapila, 2021).

En este contexto, aparece el termino de eubiosis, que se describe como una relación de equilibrio dinámico entre la comunidad microbiana, el ambiente y el hospedero, compatible con el mantenimiento de la salud. Este equilibrio comprende las funciones y relaciones ecológicas de los microorganismos, además de su composición. No implica una comunidad inmóvil ni la eliminación de todas las especies con potencial patógeno, sino condiciones que permiten la coexistencia microbiana y una respuesta del hospedero que limita el daño, desde esta perspectiva, la salud oral depende tanto de las características de la comunidad como de los mecanismos que regulan su interacción con los tejidos (Radaic & Kapila, 2021).

Por otro lado, la disbiosis, corresponde a una alteración de esa relación, asociada con cambios en la composición, los cambios en la diversidad microbiana o las actividades de la comunidad microbiana. En el ambiente oral, modificaciones de las condiciones locales pueden favorecer poblaciones y funciones relacionadas con procesos inflamatorios. A su vez, la inflamación transforma el entorno y puede contribuir a mantener una comunidad alterada, estableciendo una relación de retroalimentación entre microorganismos y hospedero (Radaic & Kapila, 2021). Por ello, interpretar la disbiosis requiere considerar el contexto clínico y ecológico, en lugar de reducirla a la presencia de una bacteria particular o a un aumento general del crecimiento microbiano (Cunha *et al.* 2022).

En caninos, la cavidad oral comprende diversos hábitats que ofrecen condiciones particulares para la colonización, con diferencias significativas entre las comunidades de la placa supragingival, las superficies mucosas y la saliva, demostrando que la microbiota oral no se distribuye de manera homogénea. Por esta razón, el reconocimiento de estos nichos permite comprender que las interacciones microbianas y sus posibles alteraciones deben analizarse en relación con el sitio donde ocurren Ruparell *et al.* (2020). Además, las alteraciones de la microbiota oral pueden acompañarse de procesos inflamatorios que afectan las encías y los tejidos de soporte dental. Esto se debe a la acumulación de biopelícula y la respuesta del

hospedero que participan en el desarrollo de la enfermedad periodontal, una condición relevante para la salud y el bienestar de estos animales (Santibáñez *et al.* 2021; Cunha *et al.* 2022). La investigación de las bacterias presentes en estas condiciones permite conocer que microorganismos se recuperan de la cavidad oral y cuáles son sus características. Para ello, la identificación bacteriana, la estimación de la carga cultivable y la evaluación de la sensibilidad antimicrobiana aportan información para comprender el componente bacteriano asociado con estas alteraciones.

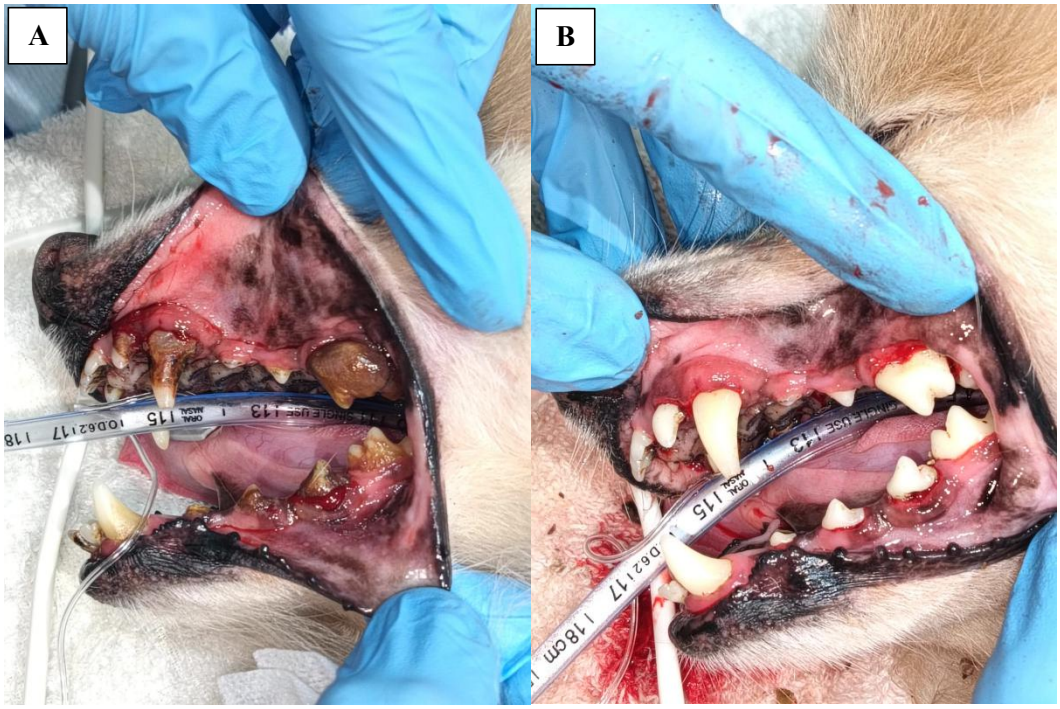
En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo identificar la carga bacteriana en la cavidad oral de *Canis lupus familiaris* con disbiosis en el Refugio Milagrinos, ubicado en Suba, Bogotá D. C. La investigación busca aportar información sobre las bacterias cultivables presentes en estos animales y contribuir al conocimiento de la disbiosis oral en caninos de refugio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En clínica Veterinaria uno de los procedimientos de rutina más frecuentes es la realización de profilaxis orales, principalmente caninos de razas pequeñas que en grandes, esto debido a que presentan menor tamaño en el hueso alveolar haciéndolos más propensos a tener un mal alineamiento de los dientes súperos e ínferos, también denominada maloclusión, facilitando un apiñamiento de los dientes, lo que genera las grietas por donde se acumula la placa dental (Wallis & Holcombe, 2020; Niemiec, 2021). A esto se suma el mal cuidado dental del propietario hacia su mascota, que omite el cepillado de dientes o el uso de juguetes de autolimpieza, lo que aumenta la atención medica cuando se presentan ya los signos clínicos de una enfermedad periodontal como inflamación de las encías, placa dental, calculo dental y halitosis (Cunha *et al.,* 2022).

Figura 1

Procedimiento clinico de profilaxis dental en un canino con enfermedad periodontal



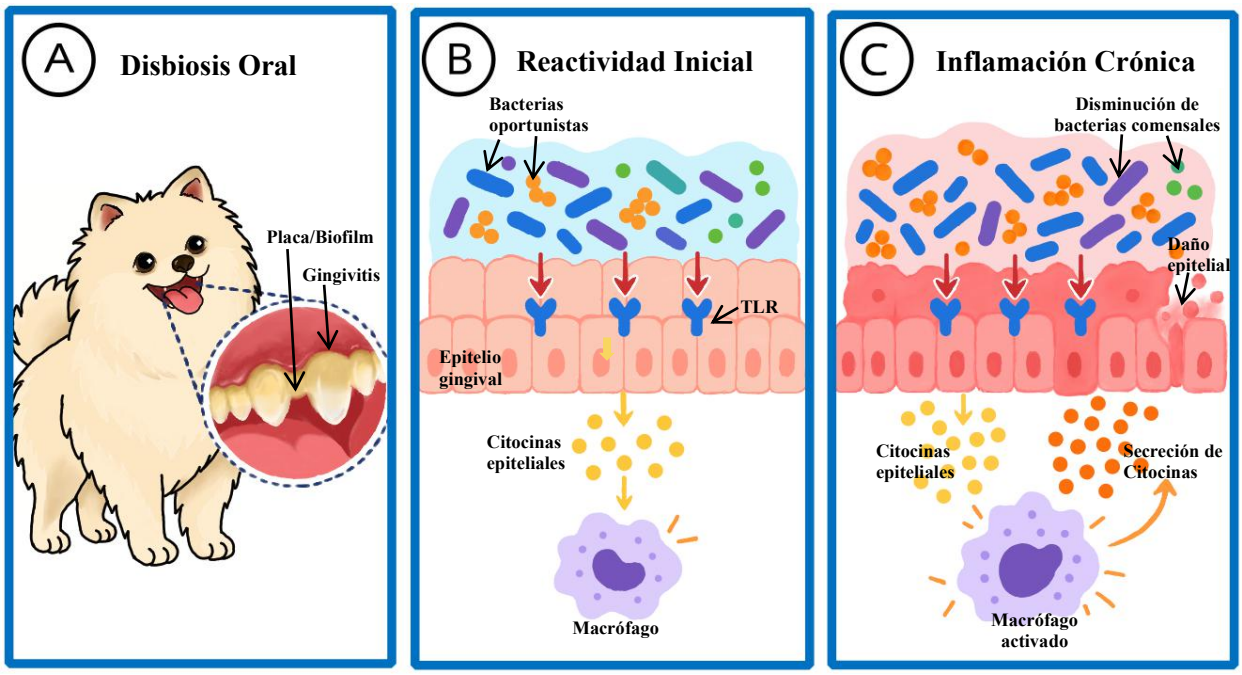
Nota. Registro fotográfico del procedimiento de profilaxis dental realizado a Tomoe, canino de raza pomerania de 10 años de edad, con signos clinicos compatibles con enfermedad periodontal, caracterizados por inflamación gingival, presencia de calculo dental y alteración de los tejidos periodontales. (A) Condición de la cavidad oral previa a la remoción del cálculo dental. (B) Aspecto de la cavidad oral posterior al procedimiento de limpieza y profilaxis dental. Fuente: Autoria Propia.

Las consecuencias son peores cuando el propietario decide ignorar las señales como el mal aliento (Halitosis) o la formación de cálculo dental en la base de los dientes. En la cavidad oral, los cambios en las condiciones ambientales y en el pH pueden favorecer el desequilibrio de la comunidad bacteriana y la proliferación de microorganismos asociados con la disbiosis o bacterias antagonistas. Sus componentes celulares y productos metabólicos como lipopolisacáridos, lipoproteínas y fragmentos de petidoglicano, son reconocidos por Receptores de tipo Toll (TLR) presentes en las células epiteliales gingivales y en células inmunitarias como macrófagos, neutrófilos y células dendríticas (Figura 2). Este reconocimiento activa vías de señalización inflamatoria que inducen la producción de citocinas proinflamatorias, entre ellas IL-1β, IL-6, IL-8 y TNF-α, cuya función inicial es reclutar y activar células de defensa para controlar la infección (Filippo *et al.* 2024). Sin embargo, cuando la disbiosis persiste y no se

elimina el estimulo bacteriano, la respuesta inflamatoria se mantiene de forma prolongada, favoreciendo el aumento del estrés celular, la degradación de los tejidos periodontales y, en etapas avanzadas, la perdida del soporte óseo. Esta inflamación crónica tambien se ha relacionado con alteraciones sistémicas, debido a la posile diseminación de microorganismos, productos bacterianos y mediadores inflamatorioshacia otros tejidos, lo que ha llevado a estudiar la asociacoón de la periodontitis con enfermedaddes sistémicas, incluidas algunas infecciones respiratorias y determinados procesos neoplásicos, (Acuna & Barloy, 2020; Filippo *et al.* 2024; Ohira *et al.* 2025).

Figura 2

Representación esquemática de la disbiosis oral y la respuesta inflamatoria asociada en caninos.



Nota. La figura representa de manera simplificada la progresión desde una condición de disbiosis oral hacia un estado inflamatorio persistente. (A) Canino con acumulación de placa y cálculo dental, asociados con alteraciones del equilibrio microbiano de la cavidad oral. (B) Representa el predominio de bacterias oportunistas en el biofilm y su interacción con el epitelio gingival mediante receptores de reconocimiento de patrones, acompañada de la producción de mediadores inflamatorios y la participación de macrófagos residentes. (C) Se ilustra la persistencia del desequilibrio bacteriano, el aumento de mediadores inflamatorios y la activación del macrófago, asociados con un mayor grado de inflamación y alteración de la integridad del epitelio gingival. Fuente: Autoría propia.

En resumen, la disbiosis oral constituye un problema de salud relevante en los caninos, debido a su relación con la inflamación y el deterioro progresivo de los tejidos periodontales. Sin embargo, aún existen vacíos en el conocimiento sobre la composición y estructura de las comunidades bacterianas involucradas, ya que la cavidad oral alberga una microbiota compleja cuya diversidad y abundancia pueden variar entre individuos, nichos orales y estados de salud (Sturgeon *et al.,* 2013; Ruparell *et al.,* 2020). Este desconocimiento es particularmente importante en poblaciones específicas, como los animales alojados en refugios, donde existe poca información sobre las bacterias cultivables presentes y su distribución. Por ello, determinar la composición, diversidad y dominancia bacteriana permite generar una aproximación al estado microbiológico oral de estos animales y aportar información de base para comprender mejor su posible participación en la enfermedad periodontal (de Oliveira Tavares *et al.,* 2023). En este contexto, se plantea la siguiente pregunta de investigación;

¿Cuál es la diversidad y dominancia de las bacterias presentes en la mucosa oral de caninos en el refugio Milagrinos?

JUSTIFICACIÓN

La salud oral en caninos es un aspecto fundamental dentro de la medicina veterinaria pues está estrechamente relacionada con el bienestar general del animal. Se han encontrado que las enfermedades periodontales son una de las patologías más comunes en consulta médica, especialmente en aquellos de razas pequeñas, debido a su predisposición anatómica a la maloclusión y al apiñamiento dental (Wallis & Holcombe, 2020). La acumulación de placa bacteriana y la formación de cálculo dental, agravadas por la falta de higiene oral, favorecen la proliferación de microorganismos patógenos que generan inflamación crónica estando relacionada con enfermedades sistémicas como infecciones respiratorias y neoplasias (Acuna & Barloy, 2020; Ohira *et al.* 2025).

Para la investigación se escogerán los caninos del refugio Milagrinos, Suba, Cundinamarca que alberga una población con diversos antecedentes de salud, condiciones de vida y cuidados previos, lo que lo convierte en un escenario ideal para estudiar la carga bacteriana presente en la cavidad oral de estos animales. A través de la caracterización de la diversidad y dominancia bacteriana, este estudio contribuirá a la comprensión de la relación entre la disbiosis oral y la prevalencia de enfermedades periodontales en perros.

Investigaciones previas, como el estudio de Dewhirst *et al.* (2012); han evidenciado la amplia diversidad del microbioma oral canino y su marcada diferencia con el humano, resaltando la necesidad de estudios específicos para esta especie. Por otro lado, el estudio de Guardone *et al.* (2024); destaca la relevancia del microbioma en el desarrollo del cáncer tanto en humanos como en perros, lo que subraya la importancia de mantener un equilibrio microbiano en la cavidad oral para prevenir patologías de mayor gravedad. En este sentido, el uso de probióticos representa una alternativa prometedora frente al empleo de antibióticos en el tratamiento de la disbiosis oral, retomando estudios como los de Xu *et al.* (2019); que demostró el impacto positivo del uso de probióticos en la microbiota intestinal y su potencial para modular la respuesta inmune en caninos gerontes, sugiriendo la posibilidad de estrategias terapéuticas innovadoras para el control de enfermedades periodontales en perros.

Este trabajo de investigación es relevante tanto en el ámbito académico como en la práctica clínica veterinaria, ya que, aportara información valiosa sobre los microorganismos predominantes en la cavidad oral de caninos con disbiosis, proporcionando bases científicas para el desarrollo de nuevas estrategias de prevención y tratamiento de enfermedades periodontales. Además, los hallazgos podrían tener implicaciones en la formulación de protocolos de manejo y bienestar animal en refugios, contribuyendo a mejorar la calidad de vida de estos animales y reducir el impacto de enfermedades infecciosas en poblaciones vulnerables.

OBJETIVOS

General

Identificar la carga bacteriana en la cavidad oral en caninos con disbiosis del Refugio Milagrinos

Específicos

- Hallar dominancia y diversidad bacteriana en caninos con disbiosis oral
- Cuantificar la carga microbiana en caninos con disbiosis oral
- Determinar la resistencia a los antibióticos usados en medicina veterinaria que presenta la carga microbiana antagonista.

MÉTODOS

Se realizó un muestreo en 30 caninos gerontes (promedio de edad 9 años), mestizos y sin pedigrí conocido, pertenecientes al Refugio Milagrinos, con previo consentimiento informado de la Fundación, ubicados en la Zona veredal de Suba, en las inmediaciones de la Carrera 135 con Calle 172, coordenadas exactas de Google Maps (4.781447, -74.105297). Para cada animal se registraron datos fisiológicos y anamnesis suministrada por la cuidadora del refugio (Anexo 1). En cada canino se efectuó la siguiente toma de muestra: utilizando un hisopo estéril, se obtuvo una muestra de la mucosa oral en las zonas que presentaban signos clínicos compatibles con disbiosis oral (sarro, gingivitis, presencia de cálculos) (Anexo 2). La toma se realizó por duplicado con el fin de recuperar bacterias cultivables bajo condiciones aerobias y anaerobias, estos últimos incubados en cámara de anaerobiosis, las muestras se transportaron en una nevera de icopor de 40 litros con pilas de refrigeración para el transporte al laboratorio de la Universidad Distrital, sede Macarena B con dirección Cra 3a #26b1, Bogotá. Las placas de agar sangre se incubaron a 37 °C durante cinco días. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-3} a partir del crecimiento obtenido, las cuales fueron sembradas en medio enriquecido Infusión Cerebro Corazón (BHI) e incubadas a 37 °C durante 72 horas. Posteriormente, se efectuó el recuento de colonias, la descripción de los morfotipos observados y el aislamiento de colonias representativas para la obtención de cultivos puros. El aislamiento y purificación de las cepas se emplearon medios selectivos como agar MacConkey (MAC) y agar Manitol Salado (MSA), incubados a 37 °C durante 72 horas. En los casos en los que no fue posible recuperar el crecimiento en medios selectivos, las colonias fueron reaisladas en medios enriquecidos como agar sangre o BHI, debido a las exigencias nutricionales observadas en algunos aislamientos. A las cepas aisladas se les realizo tinción de Gram y se diligenció el formato diseñado por el semillero de microbiología Aplicada (MICRAP) para él envió de las cepas al Laboratorio Urano Diagnostics Colombia S.A.S., donde se realizó la identificación bioquímica mediante el sistema Vitek 2 Compact (Anexo 4). Finalmente, las cepas identificadas como bacterias oportunistas aerobicas fueron seleccionadas para pruebas de sensibilidad antimicrobiana mediante antibiograma, utilizando antibióticos de uso frecuente en medicina veterinaria. Para el análisis de los resultados se empleó el lenguaje de programación Python, mediante el código descrito en el Anexo 5, esto con el fin de generar tablas, organizar los recuentos bacterianos y calcular índices ecológicos de diversidad y dominancia a partir de los

morfotipos bacterianos cultivables recuperados. La metodología general empleada se resume en la siguiente figura.

Figura 3

Diagrama de flujo de la metodología utilizada en la investigación





Nota. El diagrama resume las fases metodológicas desarrolladas en el estudio: Fase 1: Muestreo, que incluyó la selección de la muestra, el registro clínico y la toma de muestra oral; Fase 2: Transporte y cultivo primario, correspondiente al transporte de las muestras al laboratorio, la siembra primaria en agar sangre y la incubación inicial; Fase 3: Subcultivo en medio enriquecido, que comprendió las diluciones seriadas, la siembra en BHI y la incubación secundaria; Fase 4: Aislamiento y caracterización, en la cual se realizó el subcultivo en medios selectivos, el aislamiento de colonias, el recuento, la descripción de morfotipos y la tinción de Gram; Fase 5: Identificación y sensibilidad antimicrobiana, que incluyó la identificación bioquímica mediante VITEK 2 Compact y el antibiograma; y Fase 6: Análisis de resultados, donde se organizaron y analizaron los datos obtenidos. Fuente: Autoría propia.

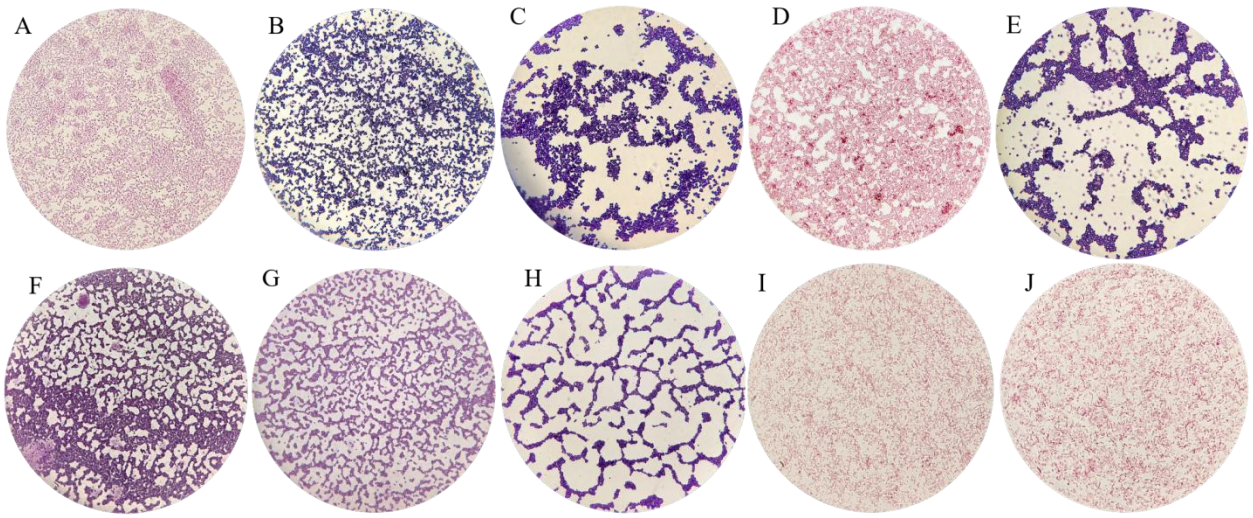
RESULTADOS

Identificar la carga bacteriana en la cavidad oral en caninos con disbiosis

La caracterización microscópica de los aislamientos evidenció una comunidad bacteriana heterogénea en las muestras de cavidad oral de los caninos con disbiosis. Se reconocieron diferentes morfologías celulares, principalmente formas cocoides, cocobacilares y bacilares (Figura 4), acompañadas de variaciones en su disposición y respuesta a la tinción de Gram. La presencia simultánea de morfotipos Gram positivos y Gram negativos reflejó la diversidad de microorganismos recuperados durante el proceso de aislamiento microbiológico.

Figura 4

Identificación morfológica microscópica de los morfotipos bacterianos recuperados de cavidad oral de caninos con disbiosis oral mediante tinción de Gram.



Nota. Microfotografías obtenidas mediante un microscopio óptico compuesto de campo claro Motic BA310E, equipado con sistema óptico infinito con corrección de color (CCIS®), objetivos EC Plan Achromatic, condensador Abbe N.A. 1,25 e iluminación transmitida. Las observaciones se realizaron con objetivo de inmersión en aceite de 100× y ocular de 10×, correspondiente a un aumento total de 1000×. Los paneles corresponden a los morfotipos identificados: A) *Acinetobacter lwoffii*; B) *Staphylococcus* sp.; C) *Aerococcus viridans*; D) *Moraxella* sp.; E) *Staphylococcus equorum*; F) *Staphylococcus epidermidis*; G) *Staphylococcus lugdunensis*; H) *Enterococcus faecium*; I) *Veillonella* sp.; J) *Fusobacterium necrophorum*. Fuente: Autoría propia.

La identificación bacteriana mediante el sistema VITEK 2 permitió identificar diez morfotipos bacterianos, correspondientes a microorganismos aerobios y anaerobios estrictos. La mayoría de las identificaciones presentó niveles de confianza entre buenos y excelentes (Tabla 1), mientras

que algunos aislamientos requirieron pruebas bioquímicas complementarias para apoyar su clasificación a nivel de género.

Tabla 1

Identificación bacteriana de morfotipos recuperados de cavidad oral de caninos con disbiosis oral mediante VITEK 2

Morfotipo	Crecimiento	Gram	Morfología	Organismo identificado	Probabilidad	Confianza
morfo1	Aerobio	Gram negativo	Cocobacilos	*Acinetobacter lwoffii*	99%	Identificación excelente
morfo2	Aerobio	Gram positivo	Cocos	*Staphylococcus* sp.	Pruebas adicionales (CAT/OXI/INDOL)	Confirmado por investigador
morfo3	Aerobio	Gram positivo	Cocos	*Aerococcus viridans*	98%	Identificación excelente
morfo4	Aerobio	Gram negativo	Cocos	*Moraxella* sp.	Pruebas adicionales (CAT/INDOL)	Confirmado por investigador
morfo5	Aerobio	Gram positivo	Cocos	*Staphylococcus equorum*	97%	Identificación excelente
morfo6	Aerobio	Gram positivo	Cocos	*Staphylococcus epidermidis*	91%	Identificación buena
morfo7	Aerobio	Gram positivo	Cocos	*Staphylococcus lugdunensis*	90%	Identificación buena
morfo8	Aerobio	Gram positivo	Cocos	*Enterococcus faecium*	98%	Identificación excelente
morfo9	Anaerobio estricto	Gram negativo	Bacilos pleomórficos	*Fusobacterium necrophorum*	97%	Identificación excelente
morfo10	Anaerobio estricto	Gram negativo	Cocos	*Veillonella* sp.	87%	Identificación aceptable

Nota. La tabla resume la identificación de los morfotipos bacterianos recuperados de la cavidad oral de caninos con disbiosis oral, se presenta la condición de crecimiento, reacción a la tinción de Gram, morfología microscópica, organismo identificado, probabilidad de identificación y nivel de confianza del VITEK 2. Sin embargo, fue necesario complementar la identificación a nivel de género en algunos casos donde el VITEK no era capaz de separar el genero, se emplearon pruebas bioquímicas convencionales: CAT (catalasa), OXI (oxidasa) e INDOL (prueba de indol). Los resultados de estas pruebas fueron considerados junto con las características morfológicas y tintoriales de los aislamientos. Fuente: Autoria propia

Hallar dominancia y diversidad bacteriana en caninos con disbiosis oral

La recuperación de los morfotipos bacterianos mostró una distribución heterogénea entre los caninos evaluados, con diferencias tanto en el número de colonias como en los morfotipos presentes en cada muestra.

Tabla 2

Recuperación de morfotipos bacterianos en pacientes con carga microbiana cuantificable

Paciente	Nombre	Conteo colonial en aislamiento primario BHI 10^{-3}	Purificación en agar MacConkey (MCA)	Purificación en agar manitol salado (MSA)	Recuperación en agar BHI
1	Rayo	33; 11	Morfo 1	Morfo 6	Morfos 1 y 6
2	Tasmania	83	Sin crecimiento	Morfo 7	Morfo 7
3	Pomelo	Incontable	Sin crecimiento	Morfos 5 y 7	Morfos 5 y 7
4	Arturo	33	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Morfo 4
5	Mateo	5; 8	Sin crecimiento	Morfos 3 y 8	Morfos 3 y 8
6	Valito	Incontable	Morfo 1	Morfo 2	Morfos 1 y 2
7	Quinta	Incontable	Sin crecimiento	Morfo 2	Morfo 2
9	Colombia	Incontable	Sin crecimiento	Morfo 8	Morfo 8
13	Pocholo	2	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Morfo 4
14	Negrusca	61; 113	Sin crecimiento	Morfos 2 y 8	Morfos 2 y 8
17	Merlin	152	Sin crecimiento	Morfo 5	Morfo 5
18	Diógenes	69	Sin crecimiento	Morfo 6	Morfo 6
19	Francisca	Incontable	Sin crecimiento	Morfo 7	Morfo 7
21	Anakin	24	Sin crecimiento	Morfo 3	Morfo 3
22	Piston	7; 46	Sin crecimiento	Morfos 2 y 6	Morfos 2 y 6
23	Tarzan	Incontable	Sin crecimiento	Morfos 2 y 8	Morfos 2 y 8
25	Paloma	18	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Morfo 4
26	Toni xl	95	Morfo 1	Sin crecimiento	Morfo 1
27	Laica	3	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Morfo 4
28	Aurora	41; 128	Sin crecimiento	Morfos 2 y 6	Morfos 2 y 6
29	Cepiar	Incontable	Sin crecimiento	Morfo 2	Morfo 2
30	Ms Jonson	12	Sin crecimiento	Sin crecimiento	Morfo 4

Nota. La tabla resume las etapas de aislamiento y purificación de los morfotipos bacterianos recuperados de muestras de cavidad oral de caninos con disbiosis. El aislamiento primario se realizó mediante la siembra de 100 µL

de la dilución 10^{-3} en agar BHI, a partir de la cual se efectuó el conteo de las colonias desarrolladas. Cuando en una misma placa se observaron dos morfotipos coloniales diferenciables, cada uno fue contabilizado de manera independiente y los valores se presentan separados mediante punto y coma (;); por ejemplo, “33; 11” corresponde al conteo independiente de 33 colonias de un morfotipo y 11 colonias de otro morfotipo presentes en la misma placa. Posteriormente, las colonias diferenciadas fueron resembradas en agar MacConkey (MCA) y agar manitol salado (MSA) para favorecer su separación y obtención como cultivos puros. Los morfotipos que no presentaron crecimiento en estos medios fueron nuevamente sembrados en agar BHI para su recuperación. “Sin crecimiento” indica ausencia de desarrollo bacteriano en el medio correspondiente, mientras que “Incontable” indica crecimiento abundante que impidió realizar un conteo confiable. Fuente: Autoria Propia

Tabla 3

Frecuencia e identificación de morfotipos bacterianos recuperados en caninos con disbiosis oral

Morfotipo	Identificación	Frecuencia	Porcentaje (%)
Morfo 2	*Staphylococcus* sp.	7	23,3
Morfo 4	*Moraxella* sp.	5	16,7
Morfo 8	*Enterococcus faecium*	4	13,3
Morfo 6	*Staphylococcus epidermidis*	4	13,3
Morfo 7	*Staphylococcus lugdunensis*	3	10,0
Morfo 1	*Acinetobacter lwoffii*	3	10,0
Morfo 3	*Aerococcus viridans*	2	6,7
Morfo 5	*Staphylococcus equorum*	2	6,7

Nota. La frecuencia corresponde al número de veces que cada morfotipo fue recuperado durante el proceso de aislamiento y los porcentajes fueron calculados con base en el total de morfotipos recuperados. Fuente Autoria Propia.

Tabla 4

Índices ecológicos de diversidad y dominancia de morfotipos bacterianos recuperados

Categoría	Índice	Valor
Riqueza	Riqueza de morfotipos (S)	8,0
Diversidad	Shannon-Wiener (H′)	1,997
Diversidad/dominancia	Simpson complementario (1-D)	0,853
Dominancia	Berger-Parker	0,233
Equidad	Pielou (J′)	0,960

Nota. Los índices fueron calculados a partir de la frecuencia de los morfotipos bacterianos recuperados, la riqueza de morfotipos corresponde al número total de morfotipos recuperados; Shannon-Wiener evalúa la diversidad

considerando riqueza y frecuencia; Simpson 1-D estima la diversidad considerando el peso de los morfotipos dominantes; Berger-Parker indica la proporción del morfotipo más frecuente; y Pielou evalúa la equidad en la distribución de los morfotipos. Fuente Autoria Propia.

Tabla 5

Frecuencia y porcentaje de géneros bacterianos recuperados en caninos con disbiosis oral

Género	Frecuencia	Porcentaje (%)
Staphylococcus	16	53,3
Moraxella	5	16,7
Enterococcus	4	13,3
Acinetobacter	3	10,0
Aerococcus	2	6,7

Nota. La frecuencia corresponde al número de recuperaciones registradas para cada género bacteriano durante el aislamiento, los porcentajes se calcularon respecto al total de recuperaciones. Fuente Autoria Propia.

Tabla 6

Índices ecológicos de diversidad y dominancia por género bacteriano recuperado

Categoría	Índice	Valor
Riqueza	Riqueza de género (S)	5,0
Diversidad	Shannon-Wiener (H′)	1,313
Diversidad/dominancia	Simpson complementario (1-D)	0,656
Dominancia	Berger-Parker	0,533
Equidad	Pielou (J′)	0,816

Nota. Los índices fueron calculados a partir de la frecuencia de recuperación de los géneros bacterianos aislados. La riqueza (S) corresponde al número total de géneros recuperados; Shannon-Wiener (H') y Simpson complementario (1-D) estiman la diversidad, Berger-Parker expresa la dominancia del género más frecuente y Pielou (J') la equidad en la distribución de las recuperaciones.

Cuantificar la carga microbiana en caninos con disbiosis oral

La cuantificación de la carga microbiana cultivable evidenció diferencias entre los caninos con crecimiento cuantificable en agar BHI. Los valores estimados oscilaron entre 20.000 y 1.740.000

UFC/mL (Tabla 7). Estos resultados muestran una variación en la cantidad de bacterias cultivables recuperadas entre los individuos analizados.

Tabla 7

Clasificación general del crecimiento microbiano en agar BHI 10^{-3}

Paciente	Conteo colonial en BHI 10^{-3}	Colonias totales	UFC/mL
Rayo	33; 11	44	440
Tasmania	83	83	830
Arturo	33	33	330
Mateo	5; 8	13	130
Pocholo	2	2	20
Negrusca	61; 113	174	1.740.000
Merlin	152	152	1.520.000
Diógenes	69	69	690
Anakin	24	24	240
Piston	7; 46	53	530
Paloma	18	18	180
Toni xl	95	95	950
Laica	3	3	30
Aurora	41; 128	169	1.690.000
Ms Jonson	12	12	120

Nota. La tabla presenta la carga microbiana cultivable estimada a partir del crecimiento obtenido en agar BHI después de la siembra de 100 µL de la dilución 10^{-3}. Los valores de la columna "Conteo colonial en BHI 10^{-3}" corresponden al número de colonias observadas en cada placa. Cuando se diferenciaron dos morfotipos coloniales en una misma muestra, sus conteos se registraron de manera independiente y se separaron mediante punto y coma (;) posteriormente, ambos valores fueron sumados para obtener el número de colonias totales. La carga microbiana se expresó en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) y se calculó mediante la expresión UFC/mL = colonias totales × 10.000, considerando el factor de dilución y el volumen sembrado, en la tabla se incluyeron únicamente los pacientes cuyo crecimiento permitió realizar un conteo; las muestras con crecimiento incontable fueron excluidas del cálculo cuantitativo. Fuente Autoria Propia.

Determinar la resistencia a los antibióticos usados en medicina veterinaria

El perfil de sensibilidad antimicrobiana mostró variación entre los aislamientos bacterianos evaluados, todos presentaron sensibilidad frente a amoxicilina/ácido clavulánico y ampicilina/sulbactam, mientras que las mayores diferencias se observaron frente a eritromicina, meropenem y oxacilina.

Tabla 8

Interpretación del perfil de sensibilidad antimicrobiana de aislamientos bacterianos recuperados de cavidad oral canina

Antibiótico	*Acinetobacter lwoffii*	*Staphylococcus* sp.	*Aerococcus viridans*	*Moraxella* sp.	*Staphylococcus equorum*	*Staphylococcus epidermidis*	*Staphylococcus lugdunensis*	*Enterococcus faecium*
Amoxicilina/ácido clavulánico (23,7/11,25) 30 µg	S	S	S	S	S	S	S	S
Ampicilina/sulbactam (10/10) 30 µg	S	S	S	S	S	S	S	S
Cefalexina 30 µg	R	S	S	S	S	S	S	S
Eritromicina 15 µg	I	S	R	S	I	S	S	I
Meropenem 10 µg	R	S	R	R	R	S	S	S
Oxacilina 1 µg	R	S	R	R	R	S	S	S

Nota. La tabla presenta la interpretación del perfil de sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos bacterianos recuperados de cavidad oral canina frente a seis antibióticos evaluados mediante difusión en agar. La clasificación se estableció a partir de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos para cada aislamiento. S = sensible; I = intermedio; R = resistente. Los antimicrobianos evaluados fueron amoxicilina/ácido clavulánico (30 µg), ampicilina/sulbactam (30 µg), cefalexina (30 µg), eritromicina (15 µg), meropenem (10 µg) y oxacilina (1 µg). Fuente: Autoria propia.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos permiten evidenciar que la cavidad oral de los caninos gerontes con signos clínicos de disbiosis oral del Refugio Milagrinos (Anexo 2), albergan una carga bacteriana cultivable diversa, con presencia de morfotipos y géneros bacterianos asociados tanto a microbiota oral como a microorganismos oportunistas. Este hallazgo se relaciona con lo planteado en la justificación, donde la enfermedad periodontal y la disbiosis oral se reconocen

como procesos frecuentes en caninos, especialmente en animales adultos o gerontes, y con posible impacto local, sistémico y sanitario. En este sentido, la identificación bacteriana, la estimación de diversidad/dominancia, la cuantificación de la carga microbiana y la evaluación de resistencia antimicrobiana permiten aproximarse al estado microbiológico oral de esta población vulnerable.

Diversidad y dominancia bacteriana en caninos con disbiosis oral

La evaluación de la diversidad y dominancia bacteriana de los caninos del refugio con disbiosis oral permitió reconocer una comunidad bacteriana cultivable heterogénea, conformada por bacterias con dependencia de oxígeno "aerobios" y bacterias de crecimiento "anaerobio estricto", en la Tabla 1 se observa un predominio de bacterias aerobias Gram positivas, principalmente cocos. Sin embargo, este resultado debe interpretarse considerando las limitaciones propias del aislamiento por cultivo, especialmente en el caso de las bacterias anaerobias estrictas, las cuales no solo requieren condiciones rigurosas de ausencia de oxígeno, sino también medios enriquecidos y requerimientos nutricionales específicos que los medios selectivos empleados pueden no suplir adecuadamente. Este aspecto resulta relevante porque gran parte de los estudios actuales sobre microbiota oral canina se apoyan en herramientas moleculares, como la secuenciación del gen 16S rRNA o la metagenómica, debido a que permiten detectar comunidades bacterianas amplias, incluyendo microorganismos de difícil cultivo o aun no cultivables bajo condiciones convencionales (Sturgeon *et al.,* 2013; Santibáñez *et al.,* 2021). Por tanto, este trabajo aporta una aproximación menos frecuente en los estudios recientes de microbiota, al centrarse en la recuperación de bacterias viables mediante cultivo, permitiendo no solo identificar morfotipos bacterianos, sino también conservar los aislamientos en un cepario o banco de cepas para análisis posteriores. Aun así, el aislamiento por cultivo representa solo una fracción de la comunidad microbiana real, ya que una proporción importante de los microorganismos identificados por métodos genómicos aún no logra aislarse (Lin *et al*., 2024), en este sentido, la baja recuperación de anaerobios no necesariamente indica una menor presencia en la cavidad oral, sino posibles dificultades asociadas a su aislamiento, viabilidad y mantenimiento en condiciones de laboratorio. En conjunto, la composición bacteriana obtenida sugiere que la disbiosis oral observada no estuvo asociada a un único microorganismo, sino a una comunidad bacteriana diversa, en la que coexistieron bacterias con distintos requerimientos fisiológicos y metabólicos.

Este comportamiento es coherente con lo reportado para la cavidad oral canina, la cual se considera un ecosistema microbiano complejo, estructurado por distintos nichos como saliva, mucosa, lengua, placa supragingival y placa subgingival. Según, Ruparell *et al.* (2020); la placa supragingival presenta mayor diversidad bacteriana que otros nichos orales, mientras que la saliva muestra mayor variabilidad entre individuos, lo que demuestra que la composición bacteriana oral depende del sitio anatómico evaluado.

A nivel de morfotipos representados en la Tabla 4, los índices ecológicos obtenidos mostraron una riqueza de **S = 8**, un índice de **Shannon-Wiener de 1,997**, un **Simpson complementario de 0,853** y una **equidad de Pielou de 0,960**. Estos valores indican una comunidad cultivable con diversidad moderada-alta y una distribución relativamente equitativa entre los morfotipos recuperados. Además, el índice de **Berger-Parker de 0,233** muestra una baja dominancia individual, ya que el morfotipo más frecuente de la Tabla 3 no concentró la mayoría de las recuperaciones como se observa en la Tabla 2. Esta interpretación coincide parcialmente con estudios de microbioma oral canino en los que se ha descrito una alta diversidad bacteriana, con presencia de múltiples grupos taxonómicos y coexistencia de bacterias dominantes junto con taxones de baja abundancia. Sturgeon *et al.* (2013); describieron mediante secuenciación del gen 16S rRNA que la cavidad oral de perros sanos alberga una comunidad altamente diversa, dominada por filos como **Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes, Fusobacteria** y **Spirochaetes**, además de una fracción rara compuesta por numerosos taxones de baja abundancia.

Sin embargo, al agrupar los aislamientos por género bacteriano, como se observa en la Tabla 5, y evaluar sus índices ecológicos en la Tabla 6, la estructura comunitaria cambió de manera importante. La riqueza disminuyó de **S = 8 morfotipos** a **S = 5 géneros**, lo que indica que parte de la diversidad observada inicialmente correspondía a morfotipos diferentes pertenecientes a un mismo grupo taxonómico, esta reducción fue especialmente evidente en *Staphylococcus*, género que agrupó varios morfotipos y concentró **16 recuperaciones**, equivalentes al **53,3 %** del total. En consecuencia, el índice de **Shannon-Wiener disminuyó a 1,313**, reflejando una menor diversidad efectiva a nivel de género, mientras que el **Simpson complementario (1-D) de 0,656** indicó una diversidad moderada, pero con mayor peso de un género dominante. De forma concordante, el índice de **Berger-Parker aumentó a 0,533**, lo que confirma que más de la mitad

de las recuperaciones correspondieron al género dominante. Aunque la **equidad de Pielou fue de 0,816**, valor que todavía sugiere cierta distribución entre los géneros restantes, esta equidad fue menor que la observada por morfotipos, debido al predominio de *Staphylococcus*.

Además, la dominancia de *Staphylococcus* debe interpretarse con precaución, ya que los métodos basados en cultivo favorecen la recuperación de bacterias viables que logran crecer bajo las condiciones empleadas, especialmente aerobias o anaerobias facultativas. En estudios moleculares de disbiosis oral y enfermedad periodontal canina se ha reportado con frecuencia el incremento de bacterias anaerobias o asociadas a ambientes inflamatorios, como *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Tannerella* y otros grupos relacionados con enfermedad periodontal (Santibáñez *et al.,* 2021; Kislik *et al.,* 2024). No obstante, De Oliveira Tavares y colaboradores (2023) señalan que la enfermedad periodontal en perros se asocia con alteraciones de la microbiota oral cultivable y que, durante su progresión, pueden cambiar las proporciones de bacterias Gram positivas y Gram negativas, dependiendo del método y del sitio de muestreo. En este contexto, la dominancia de *Staphylococcus* en la fracción cultivable puede relacionarse con la mayor recuperación de bacterias aerobias o anaerobias facultativas bajo las condiciones de cultivo empleadas, ya que este género ha sido mencionado dentro de los grupos Gram positivos asociados a la cavidad oral de perros con enfermedad periodontal, junto con otros géneros como *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Actinomyces* y *Lactobacillus* (Oliveira *et al.,* 2016).

La recuperación de *Moraxella* también resulta relevante, ya que, en estudios recientes, *Moraxella* se ha descrito con frecuencia como parte de comunidades comensales o asociadas a estados de salud oral en perros, junto con *Capnocytophaga* y miembros de Neisseriaceae. Según Yang y Moon (2025) durante la transición hacia disbiosis periodontal, puede ocurrir una pérdida de géneros dominados por comensales como *Moraxella*, mientras aumentan bacterias anaerobias y proteolíticas como *Porphyromonas*, *Prevotella* y *Treponema*. Por tanto, en tu estudio, la presencia de *Moraxella* podría interpretarse más como parte de la microbiota oral cultivable acompañante, y no necesariamente como un marcador directo de disbiosis.

En cuanto al género de *Enterococcus*, la literatura lo toma como un microorganismo oportunista en contextos periodontales. Oliveira y colaboradores (2016), investigaron enterococos recuperados de mucosa oral en perros con enfermedad periodontal, y encontraron que estos aislamientos podían presentar rasgos de virulencia, resistencia antimicrobiana y capacidad de

formar biopelícula. Esto permite discutir que *Enterococcus* no necesariamente representa un patógeno periodontal primario, pero sí puede comportarse como un microorganismo oportunista dentro de una comunidad oral alterada. Además, en humanos se ha descrito que los enterococos pueden estar presentes de forma transitoria en la cavidad oral y que, especialmente *E. faecalis*, seguido de *E. faecium*, podrían participar en la gravedad o progresión de la periodontitis cuando existe un ambiente oral favorable (Bhardwaj *et al.,* 2020). Esto permite interpretar la recuperación de *E. faecium* como la presencia de una bacteria oportunista capaz de persistir en condiciones de alteración oral, más que como un marcador principal de disbiosis periodontal.

En cuanto a la recuperación de *Acinetobacter* esta debe interpretarse con cautela, debido a que la evidencia específica sobre su papel en disbiosis oral canina aun es limitada. No obstante, el género ha sido detectado mediante secuenciación en perros con periodontitis, lo que sugiere que puede formar parte de la comunidad bacteriana presente en ambientes orales alterados (Santibáñez *et al.,* 2021). De igual manera, en literatura humana reciente se ha propuesto que *A. baumannii* puede comportarse como patógeno orodental oportunista, asociado a condiciones como periodontitis, caries, infecciones endodónticas y lesiones orales, principalmente por su capacidad de adhesión, persistencia y formación de biopelículas en ambientes alterados (Girija, 2024). Aunque esta información no debe extrapolarse directamente a caninos ni a todas las especies del género *Acinetobacter*, permite interpretar su recuperación en este estudio como parte de la comunidad cultivable oportunista, posiblemente favorecida por condiciones de disbiosis oral, sin considerarlo un marcador periodontal principal.

Aunque *Aerococcus* no fue uno de los géneros más frecuentes en el presente estudio, su aislamiento permite compararlo con reportes veterinarios recientes que demuestran su presencia en cavidad oral de perros y gatos. Razali *et al.,* (2023) identificaron *A. viridans* oral en animales callejeros y, además, reportaron resistencia antimicrobiana en una proporción importante de los aislamientos, lo que resalta su posible importancia como bacteria oportunista y de interés en salud pública. Por tanto, la recuperación de *Aerococcus* en este trabajo aporta a la diversidad cultivable observada y sugiere que, aunque sea un componente minoritario, puede mantenerse en ambientes orales y crecer bajo condiciones de cultivo enriquecidos.

En conjunto, los índices ecológicos evaluados permiten concluir que la comunidad bacteriana cultivable recuperada de los caninos con disbiosis oral presentó una diversidad moderada-alta a

nivel de morfotipos, pero una dominancia más marcada cuando los aislamientos fueron agrupados por género. Esta diferencia se explica porque varios morfotipos correspondieron a *Staphylococcus*, género que concentró el mayor número de recuperaciones y elevó el índice de Berger-Parker a nivel taxonómico. Sin embargo, la presencia de *Moraxella*, *Enterococcus*, *Acinetobacter* y *Aerococcus* demuestra que la comunidad no estuvo compuesta por un único grupo bacteriano, sino por una estructura cultivable heterogénea, integrada por bacterias dominantes, secundarias y minoritarias. Por tanto, la disbiosis oral observada puede interpretarse como una alteración comunitaria de la fracción bacteriana cultivable, en la que coexistieron microorganismos con diferentes requerimientos fisiológicos, capacidades de persistencia y posible comportamiento oportunista. No obstante, debido a las limitaciones propias del cultivo, especialmente frente a bacterias anaerobias estrictas o de difícil recuperación, estos resultados deben entenderse como una aproximación parcial a la microbiota oral cultivable y no como una representación completa del microbioma oral de los caninos evaluados.

Cuantificación de la carga microbiana cultivable en caninos con disbiosis oral

La cuantificación de la carga microbiana cultivable se presenta en la Tabla 7, donde se incluyeron únicamente los pacientes que tuvieron crecimiento cuantificable en agar BHI a partir de la dilución 10^{-3}. Los valores obtenidos estuvieron entre **20.000 UFC/mL** y **1.740.000 UFC/mL**, lo que muestra que no todos los caninos con disbiosis oral presentaron la misma carga bacteriana recuperable. Esta diferencia entre pacientes era esperable, ya que la cavidad oral no es un ambiente homogéneo y la cantidad de bacterias puede variar según el sitio de muestreo, la presencia de placa, cálculo dental, inflamación gingival y las condiciones propias de cada animal (Ruparell *et al.,* 2020; Santibáñez *et al.,* 2021). Por esta razón, es esperable que la carga cultivable no sea igual entre individuos, incluso si pertenecen al mismo refugio y tienen hábitos alimenticios similares.

De esta manera, la Tabla 7 permite evidenciar que la disbiosis oral no se manifestó con una carga bacteriana homogénea en todos los caninos. Más bien, los resultados muestran distintos niveles de crecimiento cultivable, desde pacientes con cargas bajas hasta individuos con valores superiores a **1.000.000 UFC/mL**. Por tanto, la carga bacteriana recuperada parece estar más relacionada con las condiciones locales de la cavidad oral y con la fracción de bacterias viables capaces de crecer en agar BHI. Así, este objetivo permitió evidenciar que la disbiosis oral no solo

implica la presencia de una comunidad bacteriana diversa, sino también diferencias importantes en la cantidad de bacterias cultivables recuperadas entre los caninos evaluados.

Resistencia antimicrobiana de aislamientos bacterianos orales en caninos con disbiosis

Los resultados de la Tabla 8 muestran que los aislamientos bacterianos recuperados de la cavidad oral canina con disbiosis presentaron perfiles diferentes de sensibilidad frente a los antibióticos evaluados, se observa una buena respuesta frente a amoxicilina/ácido clavulánico y ampicilina/sulbactam, ya que todos los aislamientos fueron sensibles a estos dos antibióticos. Esto indica que, dentro de las condiciones evaluadas, las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas conservaron actividad frente a la totalidad de los morfotipos analizados. Este hallazgo es relevante porque la cavidad oral del perro constituye un ecosistema microbiano complejo, compuesto por múltiples géneros bacterianos que pueden comportarse como comensales, oportunistas o potenciales agentes zoonóticos dependiendo del estado del hospedero, la condición oral y la vía de exposición (Portilho *et al*. 2023). Estudios metagenómicos han demostrado que la cavidad oral canina alberga una alta diversidad bacteriana, incluyendo géneros como *Porphyromonas*, *Moraxella*, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*, *Campylobacter*, *Staphylococcus*, *Pasteurella* y *Neisseria*, algunos de ellos relacionados con infecciones humanas posteriores a mordeduras, lamidos o contacto estrecho con mascotas (Sturgeon *et al.,* 2013; Portilho *et al.,* 2023). En su matriz, Portilho reportan precisamente la presencia de bacterias con potencial zoonótico y cepas multirresistentes en perros sanos, lo cual refuerza la importancia de evaluar este riesgo en perros con disbiosis oral.

Sin embargo, el comportamiento cambia al evaluar cefalexina, eritromicina, meropenem y oxacilina. En estos antibióticos se observa una respuesta más variable, lo que permite identificar aislamientos con mayor nivel de resistencia. El caso más evidente corresponde a *Acinetobacter lwoffii*, que fue resistente a cefalexina, meropenem y oxacilina, además de presentar sensibilidad intermedia frente a eritromicina. Esto lo convierte en el aislamiento con el perfil menos favorable dentro del grupo evaluado, debido a que no solo presentó resistencia a tres antibióticos, sino que tampoco mostró una respuesta completamente sensible frente a eritromicina.

Después de *Acinetobacter lwoffii*, uno de los aislamientos con mayor relevancia fue *Aerococcus viridans*, el cual presentó resistencia frente a eritromicina, meropenem y oxacilina. Aunque fue sensible a amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam y cefalexina, su resistencia a tres

antibióticos sugiere que este morfotipo también posee un perfil de interés dentro del análisis. En este caso, la resistencia a eritromicina resulta importante porque no fue compartida por todos los aislamientos, sino que apareció de forma específica en este microorganismo.

Caso similar se observó en *Staphylococcus equorum*, resistente a meropenem y oxacilina, y sensibilidad intermedia frente a eritromicina, este resultado es interesante porque los otros aislamientos del género, como *Staphylococcus* sp., *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus lugdunensis*, si resultaron sensibles a todos los antibióticos evaluados. Lo que indica la susceptibilidad puede variar entre especies e incluso entre aislamientos de un mismo grupo bacteriano.

Para el caso de *Moraxella* sp., se observó solo resistencia a meropenem y oxacilina, ubicándolo como un aislamiento con resistencia moderada dentro del conjunto analizado. Por último, *Enterococcus faecium* presentó un perfil mayoritariamente sensible, con sensibilidad frente a cinco de los seis antibióticos evaluados y una respuesta intermedia frente a eritromicina.

Estos resultados permiten pasar de una lectura individual de cada aislamiento a una interpretación general del comportamiento antimicrobiano observado. Aunque algunos morfotipos presentaron resistencia puntual o sensibilidad intermedia frente a determinados antibióticos, también se identificó un patrón común de sensibilidad frente a ciertas moléculas, lo que permite discutir tanto las diferencias entre aislamientos como las posibles implicaciones terapéuticas de estos hallazgos.

En este estudio, la sensibilidad observada frente a **amoxicilina/ácido clavulánico** y **ampicilina/sulbactam** en todas las cepas evaluadas permite argumentar que los betalactámicos combinados con inhibidores de betalactamasas **conservan** actividad in vitro frente a los aislamientos analizados. Este resultado es importante porque estos antibióticos son de uso frecuente en medicina veterinaria para procesos infecciosos orales, tejidos blandos y heridas contaminadas, especialmente cuando se sospechan infecciones mixtas (Cunha *et al.* 2022; Volk *et al*. 2025). Sin embargo, el hecho de que otras moléculas presenten resistencia en varias cepas demuestra que no se debe asumir una respuesta homogénea de la microbiota oral canina, especialmente en condiciones de disbiosis, por lo que el antibiograma sigue siendo necesario para orientar el tratamiento y evitar el uso empírico indiscriminado de antimicrobianos.

Por otro lado, la resistencia identificada frente a **cefalexina** en *Acinetobacter lwoffii* tiene importancia clínica y epidemiológica, debido a que este microorganismo puede comportarse como un **patógeno oportunista en humanos**, especialmente en individuos inmunosuprimidos, hospitalizados, con heridas abiertas o con enfermedades de base. Aunque *A. lwoffii* puede formar parte de la microbiota de piel y mucosas, se han reportado cepas multirresistentes asociadas con bacteriemia en pacientes inmunocomprometidos y catheterizados, lo que demuestra su capacidad de producir infección bajo condiciones favorables para el microorganismo y desfavorables para el hospedero (Tega *et al.* 2007; Wong *et al.* 2017). Aunque *A. lwoffii* no se considera uno de los principales patógenos de la cavidad oral canina, su aislamiento en un canino con disbiosis oral y su resistencia frente a varios antibióticos permiten discutirlo como un microorganismo de interés en salud pública. Este hallazgo no implica que necesariamente produzca enfermedad tras el contacto con el animal, pero sí sugiere un riesgo potencial si ocurre inoculación mediante mordedura, lamido sobre heridas o exposición de personas inmunosuprimidas. En este sentido, la disbiosis oral no solo implica un cambio en la abundancia bacteriana, sino también una posible modificación en la composición funcional de la comunidad microbiana, favoreciendo bacterias oportunistas, persistentes o con perfiles de resistencia, coincidiendo con la idea de que los cambios en la composición y función del microbioma oral pueden alterar la relación microorganismo-hospedero y favorecer enfermedad local o sistémica (Radaic & Kapila, 2021).

También, los resultados de la **eritromicina** muestran un comportamiento variable: *Aerococcus viridans* fue resistente, mientras que *Staphylococcus equorum, Acinetobacter lwoffii* y *Enterococcus faecium,* presentaron una respuesta intermedia, y las demás cepas fueron sensibles. Este patrón no dice que la susceptibilidad antimicrobiana depende del género bacteriano, de la especie y de los mecanismos de resistencia propios de cada aislamiento, para el caso de los macrólidos, como la eritromicina, la resistencia puede estar relacionada con modificación del sitio blanco ribosomal, principalmente por genes **erm**, o con mecanismos de eflujo, como genes **mef**, lo que reduce la unión o permanencia del antibiótico en la célula bacteriana (Fyfe *et al.,* 2016; Schroeder & Stephens, 2016).

La resistencia hacia la **oxacilina** en la mayoría de los aislamientos es uno de los hallazgos más relevantes, se ha reportado que en estafilococos, la oxacilina se utiliza como marcador fenotípico para sospechar resistencia a betalactámicos mediada por alteraciones en proteínas ligadoras de

penicilina, especialmente **PBP2a**, codificada por el gen **mecA**; este mecanismo disminuye la afinidad por los betalactámicos y puede generar resistencia frente a penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos de la misma familia. El Centers for Disease Control and Prevention (CDC), explica que la resistencia a oxacilina/meticilina en *Staphylococcus aureus* se asocia principalmente con **mecA**, aunque también pueden existir otros mecanismos menos frecuentes (Portilho *et al.* 2023; CDC, 2025). En este sentido, la resistencia observada en *Staphylococcus equorum* y en uno de los aislamientos identificados como *Staphylococcus sp.* puede interpretarse como una alerta de resistencia, pero no como confirmación definitiva mediada por **mecA/mecC**. Para confirmarlo, sería necesario realizar pruebas complementarias, como PCR para genes **mecA/mecC**, detección de PBP2a o pruebas fenotípicas confirmatorias.

Finalmente, la resistencia observada frente a **meropenem** en cinco de las seis cepas debe manejarse como un hallazgo de alerta, pero no como una afirmación directa de producción de carbapenemasas. El meropenem pertenece a los **carbapenémicos**, un grupo de antibióticos betalactámicos de amplio espectro usados principalmente en infecciones graves o complicadas, especialmente cuando existen bacterias resistentes a otros betalactámicos (Papp-Wallace *et al.* 2011). Por esta razón, la resistencia frente a meropenem tiene importancia epidemiológica, ya que puede sugerir mecanismos de resistencia relevantes, como disminución de permeabilidad, bombas de eflujo, alteración de proteínas blanco o producción de enzimas tipo carbapenemasas; sin embargo, estos mecanismos no pueden diferenciarse únicamente con el halo de inhibición.

En resumen, se recomienda realizar una identificación bacteriana y antibiograma antes de instaurar tratamientos con antibióticos de amplio espectro en caninos con disbiosis oral, especialmente cuando existen lesiones periodontales, heridas, abscesos, mordeduras o riesgo de contacto con humanos vulnerables o inmunosuprimidos, debido a que la cavidad oral canina es un ecosistema microbiano en donde pueden coexistir bacterias comensales, oportunistas y microorganismos con potencial zoonótico, por lo que el uso empírico de antimicrobianos puede favorecer fallas terapéuticas y selección de cepas resistentes. Los estudios de de Portilho *et al.* (2023) y Sturgeon *et al.* (2013) han demostrado que incluso perros sanos pueden portar bacterias orales diversas, algunas asociadas a infecciones humanas por mordeduras o contacto estrecho. Además, Santibáñez *et al.* (2021) y Niemiec *et al.* (2022) describen que la enfermedad periodontal canina se asocia con cambios en la composición del microbioma oral, favoreciendo

comunidades bacterianas relacionadas con inflamación y enfermedad. Por tanto, antes de recetar antibióticos de amplio espectro como betalactámicos combinados, cefalosporinas, macrólidos o carbapenémicos, el antibiograma permite seleccionar el fármaco más adecuado, reducir el uso innecesario de antimicrobianos y contribuir a una mejor vigilancia de la resistencia bacteriana desde un enfoque de salud pública y medicina veterinaria.

Identificación de la carga bacteriana cultivable en cavidad oral de caninos con disbiosis

La Tabla 1 presenta los morfotipos bacterianos aislados a partir de cavidad oral de caninos con signos compatibles con disbiosis oral. Los aislamientos aerobios siguieron el procedimiento descrito en la metodología; sin embargo, para las bacterias anaerobias fue necesario realizar un ajuste metodológico, debido a que no se obtuvo crecimiento representativo mediante el procedimiento de diluciones seriadas ni en los medios selectivos o nutritivos empleados inicialmente. Por esta razón, no fue posible continuar con la misma metodología aplicada a los aislamientos aerobios, y se optó por recuperar las cepas anaerobias mediante siembra directa en agar sangre por estría de agotamiento, donde se obtuvieron seis cepas puras que fueron remitidas para identificación mediante VITEK 2. De estas, solo tres lograron ser identificadas, correspondientes a dos aislamientos de *Veillonella* sp. y un aislamiento de *Fusobacterium necrophorum*; las tres cepas restantes no fueron identificadas o presentaron baja reactividad frente a la tarjeta ANC (Anexo 4). Esta limitación es coherente con las exigencias técnicas de la identificación de anaerobios, ya que la tarjeta ANC requiere cultivos puros, condiciones adecuadas de anaerobiosis y suficiente viabilidad bacteriana para generar un perfil bioquímico interpretable; además, el sistema puede reportar perfiles de baja reactividad cuando el patrón metabólico no permite una identificación confiable (Lee *et al*., 2011). Por lo anterior, el análisis de las bacterias anaerobias no incluyó conteo, cuantificación ni cálculo de índices de dominancia o diversidad, y se interpretó únicamente desde la identificación taxonómica de los aislamientos recuperados.

Entre las identificaciones se reconoce una comunidad bacteriana cultivable heterogénea, integrada por bacterias aerobias y anaerobias estrictas, con presencia de microorganismos Gram positivos y Gram negativos. Dentro de los aislamientos aerobios predominó la recuperación de cocos Gram positivos, representados principalmente por el género *Staphylococcus*, además de *Aerococcus viridans* y *Enterococcus faecium*. También, se identificaron bacterias Gram negativas

aerobias, como *Acinetobacter lwoffii* y *Moraxella* sp., mientras que en anaerobiosis se recuperaron *Fusobacterium necrophorum* y *Veillonella* sp. Ahora bien, este resultado solo representa una fracción de la microbiota oral total, la cavidad oral canina contiene comunidades bacterianas complejas, organizadas principalmente en biofilms, cuya composición ha sido descrita con mayor amplitud mediante estudios moleculares como la secuenciación del gen 16S rRNA; por ello, una parte importante de estos microorganismos puede no crecer fácilmente bajo condiciones convencionales de laboratorio, especialmente cuando se trata de bacterias anaerobias estrictas o de crecimiento exigente (Santibáñez *et al.,* 2021; Davis & Weese, 2022; Morita *et al.,* 2024).

Ahora, como grupo los estafilococos deben interpretarse como bacterias con doble comportamiento (ecológico y clínico) estos pueden formar parte de la microbiota habitual de piel y mucosas, pero también actuar como oportunistas cuando existen alteraciones tisulares, inflamación crónica, disrupción de barreras o presión antimicrobiana. Hay evidencia en perros, de diferentes especies de *Staphylococcus* relacionadas principalmente con infecciones cutáneas, otitis, heridas, piodermas e infecciones oportunistas, esto se debe a su capacidad de formar biofilm (Bertelloni *et al.,* 2021; Oliveira *et al.,* 2021). Así pues, desde el enfoque One Health, algunos estafilococos de origen canino pueden compartir nichos con humanos y circular entre animales de compañía, propietarios y personal veterinario, especialmente cuando presentan resistencia antimicrobiana. Es por esta razón que, aunque los morfotipos estafilocócicos recuperados en este estudio no correspondan necesariamente a biomarcadores clásicos de periodontitis canina, no deben considerarse como hallazgos irrelevantes dentro de una cavidad oral con signos de disbiosis (Bertelloni *et al.,* 2021).

En el caso del morfo2, identificado como *Staphylococcus* sp. **(Figura 2B)**, su interpretación debe mantenerse a nivel de género, debido a que no fue posible establecer una especie concreta. Esto limita la inferencia clínica, ya que dentro del género existen especies con perfiles muy diferentes de virulencia, resistencia y adaptación al hospedero. Aun así, su presencia en una muestra oral con alteración clínica puede asociarse con un comportamiento oportunista inespecífico, probablemente favorecido por la disponibilidad de superficies para adherencia, placa bacteriana y tejido inflamado. En este sentido, el aislamiento tiene valor como indicador de participación

estafilocócica en la comunidad cultivable, pero no permite atribuir un riesgo patogénico específico sin identificación molecular o confirmación a especie.

Para el morfo5, identificado como *Staphylococcus equorum* **(Figura 2E)**, esta especie se ha reportado en animales y ambientes asociados a ellos, pero no se reconoce como uno de los estafilococos caninos de mayor importancia clínica. Estudios recientes en caniformes, como dingos en cautiverio, han descrito la presencia de *S. equorum* dentro del repertorio de estafilococos colonizadores, y se han explorado características genómicas y de resistencia en estos aislamientos. Sin embargo, en comparación con especies como *S. pseudintermedius*, *S. aureus* o *S. epidermidis*, su papel como patógeno primario parece menos frecuente. Por tanto, en este estudio puede interpretarse principalmente como un colonizador oportunista (Wigmore *et al.,* 2024).

El morfo6, identificado como *Staphylococcus epidermidis* **(Figura 2F)**, tiene una relevancia mayor dentro del grupo, ya que esta especie es reconocida como un oportunista asociado a biofilm (Burke *et al.,* 2024). Aunque tradicionalmente se ha considerado un habitante comensal de piel y mucosas, la literatura actual resalta que *S. epidermidis* puede adquirir importancia clínica cuando coloniza tejidos alterados, superficies biológicas inflamadas o dispositivos, debido a su capacidad de adherencia, persistencia y formación de comunidades bacterianas protegidas. En medicina veterinaria, los estafilococos coagulasa negativos han dejado de interpretarse exclusivamente como contaminantes, pues pueden participar en infecciones oportunistas y presentar genes asociados a virulencia o resistencia (Sigudu *et al.,* 2024). En el contexto de una cavidad oral con disbiosis, *S. epidermidis* no debe plantearse como marcador periodontal principal, pero sí como un microorganismo capaz de persistir dentro del biofilm y contribuir al mantenimiento de un microambiente inflamatorio crónico.

Para el morfo7, identificado como *Staphylococcus lugdunensis* **(Figura 2G)**, aunque pertenece al grupo de estafilococos coagulasa negativos (CoNS), se diferencia de otros porque puede comportarse de manera más agresiva y con un potencial invasivo más cercano al de especies patógenas, a *S. lugdunensis* Davis *et al.,* (2013), lo describe como un comensal cutáneo con capacidad de producir infecciones invasivas, incluyendo bacteriemia, infecciones osteoarticulares y endocarditis. Además, análisis genómicos han mostrado que esta especie posee determinantes asociados con adhesión, adquisición de hierro y otros factores que podrían

favorecer la colonización persistente e invasión tisular (Davis *et al.,* 2013). En este estudio, su presencia en una cavidad oral con inflamación, sangrado gingival o lesiones compatibles con disbiosis debe interpretarse como un hallazgo de interés, especialmente por su posible capacidad de persistir en biofilm y, bajo condiciones desfavorables, actuar como oportunista con potencial sistémico.

Para el morfotipo 4 identificado como *Moraxella* sp. **(Figura 2D)**, se reporta que forma parte de la microbiota oral habitual y se ha descrito dentro de comunidades bacterianas asociadas con condiciones de homeostasis oral. De hecho, revisiones recientes sobre microbioma oral canino indican que en animales sanos la comunidad oral puede estar dominada por bacterias aerobias y facultativas como *Moraxella*, *Capnocytophaga* y miembros de la familia *Neisseriaceae*, relacionadas con estabilidad ecológica, integridad epitelial y resistencia a la colonización (Yang & Moon, 2025). Por lo que su detección en la cavidad oral no debe interpretarse automáticamente como evidencia de enfermedad periodontal. No obstante, algunas especies, como *Moraxella canis*, han sido reportadas en infecciones oportunistas, incluyendo aislamiento a partir de úlcera corneal en un perro y casos humanos asociados a exposición a saliva canina, lo que sugiere que ciertos miembros del género pueden comportarse como oportunistas cuando existen tejidos lesionados, inmunosupresión o exposición directa por mordeduras o lamidos (Wang *et al.,* 2022).

En cuanto al morfo3, identificado como *Aerococcus viridans* **(Figura 2C)**, su presencia en la cavidad oral canina si esta reportada como un microorganismo oportunista, encontrandose en ambientes mucosos de perros y gatos, en donde su importancia clínica aumenta cuando existen lesiones, inflamación persistente o alteración de la barrera oral (Razali *et al.,* 2023). Por otro lado, Liu *et al.,* (2015), describe que los aerococos pueden ser subestimados por dificultades de identificación, ya que pueden confundirse fenotípicamente con estreptococos, estafilococos o enterococos. Además, los *A. viridans* se han asociado con infecciones humanas y veterinarias, incluyendo cuadros sistémicos, mastitis bovina, infecciones en animales acuáticos y enfermedades en porcinos.

Dentro de los aislamientos Gram negativos, el morfo1, identificado como *Acinetobacter lwoffii* **(Figura 2A)**, constituye es un hallazgo de interés, esto debido al comportamiento oportunista. *Acinetobacter* se reconoce por su importancia en infecciones asociadas al ambiente hospitalario y

por su capacidad de adquirir resistencia antimicrobiana (Mitchell *et al.,* 2018), tal como se observa en la Tabla 8, además, se ha documentado su presencia en animales de compañía. En perros, *Acinetobacter* sp. puede mantenerse sobre la piel sana y actuar como reservorio potencial de infección, lo que evidencia su capacidad de persistir en superficies corporales sin producir enfermedad inmediata (Mitchell *et al.,* 2018).

Por otro lado, desde una perspectiva ecológica del biofilm oral, el morfo10, identificado como *Veillonella* sp. **(Figura 2I)**, adquiere relevancia por su posible participación en la organización de comunidades bacterianas mixtas. Este género está conformado por cocos Gram negativos anaerobios y ha sido descrito como un microorganismo capaz de favorecer la interacción entre diferentes bacterias orales. En particular, *Veillonella* puede actuar como una especie puente, facilitando la coagregación con microorganismos como estreptococos y fusobacterias. De esta manera, puede contribuir al ensamblaje y maduración de biopelículas complejas dentro de la cavidad oral (Zhou *et al.,* 2021).

En el contexto de una muestra anaerobia obtenida de cavidad oral canina con signos de disbiosis, la presencia de *Veillonella* sp. resulta coherente con un biofilm más estructurado y metabólicamente activo, siendo que su importancia no radica tanto en considerarla un patógeno invasivo inicial, sino en su posible papel como soporte ecológico de comunidades anaerobias, permitiendo que otros microorganismos con mayor potencial inflamatorio o tisular persistan en la cavidad oral. Además, aunque las infecciones invasivas por *Veillonella* son poco frecuentes, se han descrito casos humanos de bacteriemia, endocarditis, osteomielitis e infecciones diseminadas, lo que indica que puede comportarse como oportunista cuando existe ruptura de barreras anatómicas o condiciones predisponentes (Richards *et al.,* 2022).

Dentro de los aislamientos recuperados, *Enterococcus faecium* **(Figura 2H)**, adquiere relevancia no tanto por ser un taxón clásico de disbiosis oral canina, sino por su comportamiento como microorganismo oportunista de importancia clínica. Según, Osman *et al.,* (2022), los enterococos pueden habitar mucosas y tractos gastrointestinales, pero bajo condiciones de inflamación, alteración de barreras o presión antimicrobiana pueden adquirir un papel patogénico. En perros, se han descrito enterococos en procesos como otitis, infecciones urinarias, septicemia y enfermedad periodontal, además de reconocerse su importancia por la resistencia antimicrobiana que pueden portar. Además, *E. faecium* posee características que favorecen su permanencia en

ambientes inflamados. Entre estas se destacan proteínas de adhesión, factores asociados a superficie celular y la capacidad de formar biofilm, mecanismos que permiten su fijación a tejidos o superficies y aumentan su tolerancia frente a condiciones adversas. En una boca con inflamación crónica, exposición de matriz extracelular o daño gingival, estas propiedades podrían facilitar su permanencia dentro de comunidades bacterianas mixtas (Soares *et al.,* 2014).

Por último, entre los microorganismos anaerobios recuperados, *Fusobacterium necrophorum* **(Figura 2J)**, constituye uno de los hallazgos con mayor relevancia biológica dentro de la serie. Su importancia se relaciona con el papel del género *Fusobacterium* en ambientes orales inflamados y con su capacidad de participar en infecciones oportunistas profundas. En perros, estudios recientes sobre microbiota oral han señalado que especies del género, como *Fusobacterium nucleatum*, se asocian de manera importante con gingivitis y periodontitis, lo que respalda la afinidad de los fusobacterios por nichos periodontales alterados. Además, un estudio en perros con periodontitis reportó mayor presencia de *F. necrophorum* en enfermedad periodontal avanzada y detectó el gen de leucotoxina en 11 de 18 aislamientos evaluados, lo que refuerza su posible importancia en lesiones orales crónicas (Kwon *et al*., 2025).

Desde el punto de vista patogénico, *F. necrophorum* no debe interpretarse solo como un anaerobio acompañante del biofilm, sino como un oportunista con repertorio de virulencia relevante. Nagaraja y colaboradores (2025), describen que puede producir o expresar factores como leucotoxina, endotoxina, hemolisina, hemaglutinina, adhesinas, proteasas y proteínas de membrana externa, los cuales favorecen la evasión inmune, la adhesión tisular y la progresión de infecciones mixtas. Dentro de estos factores, la leucotoxina se considera uno de los principales determinantes de virulencia del microorganismo.

Por lo anterior, en una cavidad oral con inflamación persistente, sangrado gingival o daño periodontal, la presencia de *F. necrophorum* resulta coherente con un ambiente anaerobio más agresivo y con mayor riesgo biológico. Aunque con los datos no se puede afirmar que el aislamiento haya invadido tejidos profundos o generada infección sistémica, sí es válido plantearlo como un microorganismo oportunista con capacidad potencial de persistir en el biofilm, contribuir al daño local y adquirir importancia clínica si se altera la barrera mucosa. Esta interpretación se refuerza porque *F. necrophorum* está ampliamente descrito en infecciones orofaríngeas, bacteriemia y cuadros graves como el síndrome de Lemierre en humanos, además

de lesiones necróticas y piogénicas en animales (Carrara *et al.,* 2024). En este estudio, por tanto, *F. necrophorum* puede considerarse un aislamiento de alto interés dentro de la comunidad cultivable oral. Su relevancia no depende únicamente de su presencia, sino de que fue recuperado bajo condiciones anaerobias en una cavidad oral con disbiosis, lo cual es compatible con su ecología y con su potencial como patobionte oportunista en tejidos periodontales lesionados.

En síntesis, este estudio es importante porque permite reconocer la diversidad bacteriana cultivable presente en la cavidad oral de caninos con disbiosis, cuantificar parte de su carga microbiana y evaluar su respuesta frente a antibióticos de uso veterinario. Los aislamientos obtenidos muestran que la disbiosis oral no corresponde a la presencia de un solo microorganismo, sino a una comunidad bacteriana compleja donde participan colonizadores, oportunistas y bacterias con potencial de persistencia en biofilm. Además, conservar estas cepas en un cepario representa una herramienta clave para estudios posteriores, ya que permite realizar confirmaciones moleculares, evaluar genes de virulencia, estudiar resistencia antimicrobiana y analizar la capacidad de formación de biofilm. Por ello, los resultados de este trabajo constituyen una base microbiológica inicial para comprender mejor la enfermedad oral en caninos del Refugio Milagrinos y fortalecer futuras investigaciones en salud animal y enfoque One Health.

CONCLUSIONES

- Se concluye que la cavidad oral de los caninos con disbiosis del Refugio Milagrinos presentó una carga bacteriana cultivable polimicrobiana y heterogénea, compuesta por aerobios y anaerobios con distintos perfiles ecológicos y clínicos. En conjunto, los resultados son más compatibles con un ecosistema oral alterado que con la acción de un solo agente causal.
- La diversidad bacteriana cultivable observada fue amplia, con recuperación de diez morfotipos y predominio de cocos Gram positivos aerobios, especialmente estafilococos, lo que sugiere una dominancia de bacterias facultativas dentro de la fracción cultivable. Sin embargo, la diversidad y dominancia calculadas representan principalmente el componente aerobio, ya que los anaerobios solo pudieron analizarse de manera parcial y sin índices comparables.
- La cuantificación permitió documentar la carga bacteriana cultivable en la fracción aerobia y confirmar colonización microbiana activa en cavidad oral disbiótica. Sin

embargo, los valores obtenidos deben interpretarse como una aproximación parcial, no como una medida definitiva del ecosistema oral en disbiosis.

- Para finalizar, el perfil de sensibilidad mostró que la comunidad bacteriana aislada no tuvo una respuesta antimicrobiana uniforme, y que parte de las cepas presentó resistencia a antibióticos evaluados. Esto indica que la microbiota cultivable asociada a disbiosis oral puede actuar como reservorio de persistencia y de resistencia, por lo que no es recomendable asumir tratamientos empíricos sin respaldo microbiológico, especialmente en cuadros crónicos o recurrentes.

RECOMENDACIONES

- Fortalecer la metodología de recuperación e identificación de bacterias anaerobias, uso de medios pre-reducidos, incubación más prolongada y verificación estricta de las condiciones de anaerobiosis mediante indicadores. Esto permitiría mejorar la recuperación, aislamiento, cuantificación y confirmación taxonómica de este grupo bacteriano en estudios posteriores. Además, de mejorar la coordinación en el horario en que se envían e ingresan las muestras al laboratorio para su análisis con el Vitek.
- Realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana específicas para las cepas anaerobias ya aisladas, especialmente para *Fusobacterium necrophorum* y *Veillonella* sp., una vez se optimicen las condiciones de recuperación e inoculación bajo anaerobiosis estricta. Esto permitiría ampliar la interpretación clínica de la carga bacteriana recuperada.
- Conservar en el cepario institucional todas las cepas identificadas y no identificadas, garantizando duplicados, rotulación adecuada, metadatos completos del aislamiento y controles periódicos de viabilidad. Esta conservación es importante para permitir investigaciones posteriores sobre biofilm, factores de virulencia, genes de resistencia y comparación molecular de los aislamientos recuperados.
- Ampliar el diseño experimental en futuras investigaciones, incluyendo un grupo control de caninos sanos. Además, se recomienda complementar el cultivo con técnicas moleculares como 16S rRNA o metagenómica, con el fin de comparar con mayor precisión la diversidad, dominancia, carga microbiana y perfiles de resistencia entre animales sanos y con disbiosis oral.

REFERENCIAS

Acuna, L., & Barloy, F. (2020). Porphyromonas spp. have an extensive host range in ill and healthy individuals and an unexpected environmental distribution: A systematic review and meta-analysis. *Anaerobe*, *66*, 102280.

Bertelloni, F., Cagnoli, G., & Ebani, V. V. (2021). Virulence and antimicrobial resistance in canine Staphylococcus spp. isolates. *Microorganisms*, *9*(3), 515.

Bhardwaj, S. B., Mehta, M., & Sood, S. (2020). Enterococci in the oral cavity of periodontitis patients from different urban socioeconomic groups. *Dental Research Journal*, *17*(2), 147-151.

Burke, Ó., Zeden, M. S., & O'Gara, J. P. (2024). The pathogenicity and virulence of the opportunistic pathogen *Staphylococcus epidermidis*. *Virulence*, *15*(1). https://doi.org/10.1080/21505594.2024.2359483

Cabrera, J. M., & Monte, D. F. (2024). Microbiota [mī″-krō-bī′-ō-′ tə], microbiome [mī″-krō-bī′-ōm]. Emerging Infectious Diseases, 30(8), 1663.

Carrara, A., Bertelli, C., Gardiol, C., Marquis, B., Andrey, D. O., Schrenzel, J., Pillonel, T., & Greub, G. (2024). Association of pathogenic determinants of Fusobacterium necrophorum with bacteremia, and Lemierre's syndrome. *Scientific reports*, *14*(1), 19804. https://doi.org/10.1038/s41598-024-70608-y

Centers for Disease Control and Prevention. (2025, Junio 27). *Laboratory testing for methicillin (oxacillin)-resistant Staphylococcus aureus (MRSA).* U.S. Department of Health and Human Services. https://www.cdc.gov/mrsa/php/laboratories/

Cunha, E., Tavares, L., & Oliveira, M. (2022). Revisiting periodontal disease in dogs: how to manage this new old problem?. *Antibiotics*, *11*(12), 1729.

Davis, E. M., & Weese, J. S. (2022). Oral microbiome in dogs and cats: dysbiosis and the utility of antimicrobial therapy in the treatment of periodontal disease. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, *52*(1), 107-119.

Davis, M. F., Cain, C. L., Brazil, A. M., & Rankin, S. C. (2013). Two coagulase-negative staphylococci emerging as potential zoonotic pathogens: wolves in sheep's clothing?. *Frontiers in microbiology*, *4*, 123. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00123

de Oliveira Tavares, M., Dos Reis, L. D., Lopes, W. R., Schwarz, L. V., Rocha, R. K. M., Scariot, F. J., ... & Delamare, A. P. L. (2023). Bacterial community associated with gingivitis and periodontitis in dogs. *Research in veterinary science*, *162*, 104962.

Deo, P., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 23(1), 122–128. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18

Dewhirst, F. E., Klein, E. A., Thompson, E. C., Blanton, J. M., Chen, T., Milella, L., ... & Marshall-Jones, Z. V. (2012). The canine oral microbiome. *PloS one*, *7*(4), e36067.

Filippo, D. A., Guardone, L., Listorti, V., & Elisabetta, R. (2024). Microbiome in cancer: A comparative analysis between humans and dogs. *The Veterinary Journal*, *305*, 106145.

Fyfe, C., Grossman, T. H., Kerstein, K., & Sutcliffe, J. (2016). Resistance to macrolide antibiotics in public health pathogens. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, *6*(10), a025395.

Girija, A. S. (2024). Acinetobacter baumannii as an oro-dental pathogen: a red alert!!. *Journal of Applied Oral Science*, *32*, e20230382.

Guardone, L., Listorti, V., & Elisabetta, R. (2024). Microbiome in cancer: A comparative analysis between humans and dogs. *The Veterinary Journal*, 106145.

Kislik, G., Zhou, L., Rubbi, L., & Pellegrini, M. (2024). Age-correlated changes in the canine oral microbiome. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1426691.

Kwon, D., Bae, K., Jang, K., Jo, H. M., Kang, S. S., Byun, J., & Kim, S. E. (2025). *Fusobacterium nucleatum* and *Treponema denticola* are robust biomarkers for gingivitis and periodontitis in small dogs. *Frontiers in veterinary science*, *11*, 1515521. https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1515521

Lee, A. S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Nature reviews Disease primers*, *4*(1), 18033.

Lee, E. H. L., Degener, J. E., Welling, G. W., & Veloo, A. C. M. (2011). Evaluation of the Vitek 2 ANC card for identification of clinical isolates of anaerobic bacteria. *Journal of clinical microbiology*, *49*(5), 1745-1749.

Lin, Y., Liang, X., Li, Z., Gong, T., Ren, B., Li, Y., & Peng, X. (2024). Omics for deciphering oral microecology. *International Journal of Oral Science*, *16*(1), 2.

Marchesi, J. R., & Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: a proposal. Microbiome, 3(1), 31.

Morita, M., Nambu, T., Yamasaki, R., Nagai-Yoshioka, Y., Inoue, M., Nishihara, T., ... & Ariyoshi, W. (2024). Characterization of oral microbiota in 6–8-month-old small breed dogs. *BMC Veterinary Research*, *20*(1), 138.

Mitchell, K. E., Turton, J. F., & Lloyd, D. H. (2018). Isolation and identification of Acinetobacter spp. from healthy canine skin. *Veterinary dermatology*, *29*(3), 240–e87. https://doi.org/10.1111/vde.12528

Nagaraja, T. G., Narayanan, S. K., Stewart, G. C., & Chengappa, M. M. (2005). Fusobacterium necrophorum infections in animals: pathogenesis and pathogenic mechanisms. *Anaerobe*, *11*(4), 239–246. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2005.01.007

Niemiec, B. A. (2021). Conditions common in small and toy breed dogs. *Breed Predispositions to Dental and Oral Disease in Dogs*, 1-38.

Ohira, C., Kaneki, M., Shirao, D., Kurauchi, N., & Fukuyama, T. (2025). Oral treatment with catechin isolated from Japanese green tea significantly inhibits the growth of periodontal pathogen Porphyromonas gulae and ameliorates the gingivitis and halitosis caused by periodontal disease in cats and dogs. *International Immunopharmacology*, *146*, 113805.

Oliveira, F., Rohde, H., Vilanova, M., & Cerca, N. (2021). Fighting Staphylococcus epidermidis biofilm-associated infections: can iron be the key to success?. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *11*, 798563.

Oliveira, M., Tavares, M., Gomes, D., Touret, T., São Braz, B., Tavares, L., & Semedo-Lemsaddek, T. (2016). Virulence traits and antibiotic resistance among enterococci isolated from dogs with periodontal disease. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, *46*, 27-31.

Osman, M., Altier, C., & Cazer, C. (2022). Antimicrobial resistance among canine enterococci in the northeastern United States, 2007-2020. *Frontiers in microbiology*, *13*, 1025242. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1025242

Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *55*(11), 4943-4960.

Portilho, F. V., Nóbrega, J., de Almeida, B. O., Mota, A. R., de Paula, C. L., Listoni, F. J., ... & Ribeiro, M. G. (2023). Microbial complexity of oral cavity of healthy dogs identified by mass spectrometry and next-generation sequencing. *Animals*, *13*(15), 2467.

Radaic, A., & Kapila, Y. L. (2021). The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Computational and structural biotechnology journal*, *19*, 1335-1360.

Razali, K., Nalbone, L., & Giarratana, F. (2023). Aerococcus viridans and public health: oral carriage and antimicrobial resistance in stray dogs and cats in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, *29*(12), 576-581.

Richards, T., Stephen, J., & Lui, C. L. (2022). Severe disseminated Veillonella parvula infection including endocarditis, bilateral psoas abscess, discitis, and osteomyelitis but sparing spinal and hip prostheses: a case report. *Journal of medical case reports*, *16*(1), 157. https://doi.org/10.1186/s13256-022-03386-8

Ruparell, A., Inui, T., Staunton, R., Wallis, C., Deusch, O., & Holcombe, L. J. (2020). The canine oral microbiome: variation in bacterial populations across different niches. *BMC microbiology*, *20*(1), 42.

Santibáñez, R., Rodríguez-Salas, C., Flores-Yáñez, C., Garrido, D., & Thomson, P. (2021). Assessment of changes in the oral microbiome that occur in dogs with periodontal disease. *Veterinary sciences*, *8*(12), 291.

Schroeder, M. R., & Stephens, D. S. (2016). Macrolide resistance in Streptococcus pneumoniae. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *6*, 98.

Sigudu, T., Qekwana, D., & Oguttu, J. (2024). A Retrospective Descriptive Study of *Staphylococcus* Species Isolated from Canine Specimens Submitted to a Diagnostic Laboratory in South Africa, 2012–2017. *Animals*, *14*(9), 1304. https://doi.org/10.3390/ani14091304

Soares, R. O., Fedi, A. C., Reiter, K. C., Caierão, J., & d'Azevedo, P. A. (2014). Correlation between biofilm formation and gelE, esp, and agg genes in Enterococcus spp. clinical isolates. *Virulence*, *5*(5), 634–637. https://doi.org/10.4161/viru.28998

Sturgeon, A., Stull, J. W., Costa, M. C., & Weese, J. S. (2013). Metagenomic analysis of the canine oral cavity as revealed by high-throughput pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Veterinary microbiology*, *162*(2-4), 891-898.

Tega, L., Raieta, K., Ottaviani, D., Russo, G. L., Blanco, G., & Carraturo, A. (2007). Catheter-related bacteremia and multidrug-resistant Acinetobacter lwoffii. *Emerging infectious diseases*, *13*(2), 355.

Volk, A. C., Goldschmidt, S. L., Bollig, E. R., Montebello, J. A., & Granick, J. L. (2025). Prophylactic antibiotic use is common in dogs and cats presenting for procedures at veterinary referral dental practices. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *263*(4), 483-491.

Wallis, C., & Holcombe, L. J. (2020). A review of the frequency and impact of periodontal disease in dogs. *Journal of small animal practice*, *61*(9), 529-540.

Wang, Z., Guo, L., Li, J., Li, J., Cui, L., Dong, J., & Wang, H. (2022). Case Report: The First Report on *Moraxella canis* Isolation From Corneal Ulcer in a Bulldog. *Frontiers in veterinary science*, *9*, 934081. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.934081

Wigmore, S. M., Nankervis, S. A., Watson, L., & Bean, D. C. (2024). Staphylococcal carriage among captive dingoes (Canis dingo) in Victoria, Australia. *Veterinary microbiology*, *294*, 110104. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.110104

Wong, D., Nielsen, T. B., Bonomo, R. A., Pantapalangkoor, P., Luna, B., & Spellberg, B. (2017). Clinical and pathophysiological overview of Acinetobacter infections: a century of challenges. *Clinical microbiology reviews*, *30*(1), 409-447.

Xu, H., Huang, W., Hou, Q., Kwok, L. Y., Laga, W., Wang, Y., ... & Zhang, H. (2019). Oral administration of compound probiotics improved canine feed intake, weight gain, immunity and intestinal microbiota. *Frontiers in Immunology*, *10*, 394673.

Yang, S. B., & Moon, J. H. (2025). Microbial therapeutics for canine periodontal disease: current status and future perspectives. *Frontiers in Veterinary Science*, *12*, 1748968.

Zhou, P., Manoil, D., Belibasakis, G. N., & Kotsakis, G. A. (2021). Veillonellae: Beyond Bridging Species in Oral Biofilm Ecology. *Frontiers in oral health*, *2*, 774115. https://doi.org/10.3389/froh.2021.774115

ANEXOS

Los anexos serán enviados como documentos complementarios con el número de cada anexo nombrado en el trabajo de investigación.