

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

ESCUELA DE ODONTOLOGÍA

**“Estudio comparativo de agentes químicos utilizados para la
desinfección de cepillos dentales”**

María Elizabeth Aguirre Fernández

Johanna Monar Coloma, Dra. Endodoncista, Directora de tesis

Tesis de grado presentada como requisito

para la obtención del título de Odontólogo

Quito, Enero 2013

Universidad San Francisco de Quito

Colegio de Ciencias de la Salud

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

“Estudio comparativo de agentes químicos utilizados para la desinfección de cepillos dentales”

María Elizabeth Aguirre Fernández

Dra. Johanna Monar Coloma
Directora de Tesis

Dr. Germán Moreno
Tutor de Tesis

Dra. Iván Bedoya
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Fernando J. Sandoval
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Francisco Andrade Marín
Miembro del Comité de Tesis

Dr. Fernando Sandoval
Decano Escuela de Odontología

Quito, Enero del 2013

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos y dispuestos en esta política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitación y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior

Firma:

Nombre: María Elizabeth Aguirre Fernández

C.I.: 171989553-2

Fecha: Enero 2013

Dedicatoria

A mis padres por ser quienes me enseñaron valores de responsabilidad, honradez, respeto y lealtad, por ser mis guías y porque nunca han dejado de creer en mí.

A mis hermanos y abuelos por ser mi compañía y una de mis mayores inspiraciones.

Agradecimientos

A los mis profesores de la Universidad San Francisco de Quito por ser quienes han guido mi camino para lograr convertirme en una profesional

Al Dr. German Moreno y la Dra. Johanna Monar por ayudarme en la culminación de mi tesis.

A Tec. med. Roberto Rodríguez por su ayuda invaluable en la concepción de este estudio.

Resumen

Desde el año 1920 se han discutido ampliamente la contaminación y descontaminación de los cepillos dentales. El objetivo del presente estudio es determinar la acción desinfectante del Gluconato de Clorhexidina al 0,12% y un compuesto fenólico (Listerine®) sobre microorganismos comúnmente presentes en la cavidad bucal en cepillos dentales utilizados por los participantes voluntarios. Es así que, posterior a la firma del consentimiento informado, se examinó el estado periodontal de 15 voluntarios y se procedió a entregar cepillos nuevos, pasta dental y un spray. El estudio se realizó en un lapso de tres semanas en intervalos de una semana para cada etapa, al final de cada semana se procedió a la recolección del cepillo de dientes utilizado y a la entrega de uno nuevo para continuar con la siguiente fase del estudio. Después de recolectado el cepillo de cada voluntario, se lo llevo al laboratorio de microbiología para su cultivo en medios de cultivo específicos. Luego de 7 a 8 semanas se procedió a la identificación de los patógenos y al análisis estadístico, con el cual se demostró que los microorganismos más comunes son *Streptococos viridans*, *Stafilococo aureus*, *Moraxella, catarralis*, *Eschericha coli*, *Cladosporium spp*, y *Aspergillus fumigatus*. También se demostró que el Listerine® es el mejor agente químico para la desinfección de cepillos dentales, a pesar de demostrada capacidad de desinfección de la clorhexidina. Asimismo, la mejor forma de cultivo es a través del lavado del cepillo por su capacidad de arrastre. En conclusión, los objetivos propuestos se cumplieron ya que se logró determinar la acción desinfectante de los agentes químicos para la descontaminación de los cepillos dentales.

Abstract

The contamination and decontamination of toothbrushes has been widely studied since 1920. The aim of this study was to determinate the efficacy of 0.12% chlorhexidine gluconate and Listerine® in microorganism found in the oral cavity in toothbrushes used by volunteers. Thus, after the signing of an informed consent, we examined the periodontal status of 15 volunteers, then, we gave them new toothbrushes, toothpaste and a spray. The study was conducted over a period of three weeks at weekly intervals for each stage, at the end of each week we proceeded to collect the used toothbrush and delivery a new one to continue the next phase of the study. After the brush was collected from each volunteer, it was taken to the microbiological laboratory for cultivation in a specific culture media. Then, after 7 to 8 weeks we identify the pathological microorganism and perform all the statistical analyzes, the data showed that the most common bacteria were *Streptococos viridans*, *Stafilococo aureus*, *Moraxella, catarralis*, *Eschericha coli*, *Cladosporium spp* and *Aspergillus fumigatus*. Also data showed that Listerine® was the best antimicrobial for tooth decontamination, despite, proven ability of disinfection of chlorhexidine gluconate. On the other hand, the best way of microbial culture is by immerse the head of the toothbrush in sterile distilled water cause their ability to drag. In conclusion, the objectives were accomplish and it was determined that the action of the disinfectant for decontamination of toothbrushes.

Contenido

1	Introducción	13
1.1	Justificación.....	15
1.2	Objetivos	15
1.2.1	Objetivo general	15
1.2.2	Objetivos específicos.....	16
1.3	Hipótesis	16
2	Marco Teórico.....	17
2.1	Antecedentes históricos	18
2.2	Cepillo de Dientes	19
2.3	Métodos de Desinfección	23
2.3.1	Sprays	23
2.3.2	Desinfectante para cepillo de dientes con luz Ultravioleta (UV)	24
2.3.3	Cepillos modificados.....	24
2.3.4	Agentes Químicos	25
2.4	Microbiología.....	32
2.5	Bacteriología	33
2.5.1	Clasificación de las Bacterias	34
2.5.2	Elementos de la estructura bacteriana	35
2.6	Microflora Humana	37

2.7	Microflora Oral.....	39
2.7.1	Géneros y especies microbianas presentes en la cavidad bucal	40
2.8	Medios de cultivo	48
3	Materiales y Métodos.....	51
3.1	Tipo de estudio.....	51
3.2	Tamaño de la muestra	51
3.3	Criterios de inclusión.....	52
3.4	Criterios de exclusión.....	52
3.5	Grupos de estudio.....	53
3.6	Materiales.....	53
3.7	Metodología	54
3.7.1	Elaboración medios de cultivo	57
3.7.2	Análisis Microbiano, procedimiento de siembras y resiembras	59
3.7.3	Procedimiento de siembras en pruebas confirmatorias.....	61
3.7.4	Procedimiento de incubación.....	62
3.7.5	Lectura de los cultivos	63
4	Análisis Estadístico.....	64
5	Resultados.....	65
5.1	Fotografías de los cultivos positivos.....	74
6	Discusión	79
7	Conclusiones	84

	10
8 Recomendaciones	85
9 Bibliografía.....	86
10 Anexos	94
10.1 Anexo 1: Carta de autorización del Comité de Bioética	94
10.2 Anexo 2: Consentimiento informado	95
10.3 Anexo 3: Periodontograma	100
10.4 Anexo 4: Indicaciones para el uso correcto del cepillo dental.....	101
10.5 Anexo 5: Carta de autorización de la Vicedecana de la Escuela de Odontología	102
10.6 Anexo 7: Certificado Laboratorio Universidad Central del Ecuador	103

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura Química de la Clorhexidina.....	27
Figura 2: Medios de cultivo Agar Sangre, chocolate, Cled, Mc Conkey.....	50
Figura 3. Muestra almacenada y codificada.....	56
Figura 4: Medio de cultivo estéril-Agar base.....	58
Figura 5. Elaboración de medios de cultivo.....	59
Figura 6. Técnica con asa.....	60
Figura 7: Pruebas confirmatorias.....	62
Figura 8. Incubadora.....	63
Figura 9: Edad (años) de las participantes.....	65
Figura 10: Cultivos positivos en el hisopado de cerdas o en el líquido de enjuague de cepillos.....	72
Figura 11: <i>Streptococcus viridans</i>	74
Figura 12: <i>Moraxella catarrhalis</i>	75
Figura 13: <i>Escherichia coli</i>	76
Figura 14: <i>Stafilococcus aureus</i>	77
Figura 15: <i>Cladosporium spp</i>	78
Figura 16: <i>Aspergillus fumigatus</i>	78

Índice de Tablas

Tabla 1. Distribución de la microflora residente	38
Tabla 2. Bacterias Gram negativas	45
Tabla 3. Bacterias Gram positivas	46
Tabla 4. Otros microorganismos	48
Tabla 5: Contaminación de cepillos a la primera semana (agua destilada)	67
Tabla 6: Contaminación de cepillos a la segunda semana (Gluconato de Clorhexidina 0.12%)	69
Tabla 7: Contaminación de cepillos a la tercera semana (Listerine®)	71
Tabla 8: Número y porcentaje de cepillos contaminados en el hisopado de cerdas o en el líquido de enjuague	73
Tabla 9: Desinfectante, número y porcentaje de cepillos contaminados.....	73

1 Introducción

La higiene personal es uno de los principales elementos para mantener una adecuada salud en el humano. Durante la higiene diaria, no se debe olvidar el cuidado de la cavidad bucal, ya que sus estructuras especialmente los dientes contribuyen no solo en el aspecto estético a las personas, sino que permiten un adecuado inicio de la alimentación y digestión, así como una correcta fonación. La adecuada salud bucal es importante para el bienestar general y es el resultado de algunas de actividades que tienen como objetivo controlar la acción de la placa bacteriana sobre las superficies de las diferentes estructuras de la cavidad bucal. Para este propósito disponemos de cuidados preventivos diarios, como el cepillado y uso de hilo dental (Colgate, 2012; Mayo Clinic Staff, 2011).

Los cepillos de dientes son instrumentos que cumplen un importante papel en el mantenimiento de la higiene bucal. Este instrumento se viene utilizando por siglos para remover las partículas de alimento y placa bacteriana de las superficies dentales y la cavidad bucal en general (Wolf & Hossell, 2009). Su correcto empleo permite el manejo mecánico de la placa dental y evita la acumulación de la misma, sin embargo, existe evidencia que los cepillos dentales pueden ser un vector de transmisión de enfermedades, ya que su uso regular los expone a una elevada contaminación de microorganismos (Taji & Rogers, 1998).

Frazelle (2012), señala que la contaminación es la retención y la supervivencia de microorganismos infecciosos que puede ocurrir en objetos animados o inanimados, la que en adultos sanos ocurre poco tiempo después del uso inicial y aumenta con el uso repetido del cepillo dental. Se debe considera que

para la contaminación de los cepillos dentales no solo participan microorganismos de la cavidad bucal, sino que también tienen relación las condiciones de su almacenamiento, que pueden favorecer la introducción de patógenos como *Streptococos mutans* o inclusive el virus del herpes. Los microorganismos del medio ambiente asimismo pueden contaminar los cepillos, estos incluyen *Pseudomonas* y *Coliformes* usualmente presentes en cuartos de baño o pueden contaminarlos a través de aerosoles de baño y los dedos durante la manipulación (Taji & Rogers, 1998).

Varios estudios han demostrado la contaminación de los cepillos dentales durante su uso y recomiendan métodos de desinfección para los mismos (Sato & Ito, 2004; Nelson, 2000). Se ha comprobado también que el sumergirlos en algún agente químico, es útil para la desinfección de la mayoría de los microorganismos que pueden estar contaminando las cerdas de estos instrumentos de aseo (Sato & Ito, 2004).

Con estos antecedentes, el objetivo del presente estudio es evaluar la contaminación microbiana de los cepillos dentales durante su primera semana de uso y la eficacia de algunos agentes químicos para prevenir su contaminación con microorganismos propios de la cavidad oral u oportunistas.

1.1 Justificación

Los cepillos de dientes al ser uno de los instrumentos más utilizados para su higiene, están expuestos a la acumulación de microorganismos provenientes de la cavidad bucal y aún del medio ambiente que contribuyen no solo al establecimiento de infecciones propias de esta cavidad sino de otras estructuras relacionadas.

Existen bacterias que estando presentes en el medio oral no solo producen enfermedades en la boca, sino pueden afectar la garganta, tracto digestivo y aun el sistema cardiovascular. Por las razones expuestas, es importante difundir que las personas deben desinfectar los cepillos de dientes luego de su uso para evitar infecciones, en especial personas que están o han estado enfermas y más si están inmunocomprometidas.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

- Determinar la acción desinfectante a base de Gluconato de Clorhexidina al 0,12% y un compuesto fenólico (Listerine ®) sobre microorganismos comúnmente presentes en la cavidad bucal en cepillos dentales utilizados por los participantes en este estudio.

1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia de bacterias gram positivas, gram negativas y hongos mediante cultivos específicos, en cepillos empleados durante una semana, por participantes adultos sanos.
- Comparar la capacidad desinfectante del Gluconato de Clorhexidina al 0.12% con capacidad desinfectante del Listerine® aplicando en forma de spray luego del cepillado dental.

1.3 Hipótesis

Los cepillos de dientes luego de ser sometidos a desinfección con agentes químicos específicos, presentan disminución de microorganismos y hongos.

2 Marco Teórico

La cavidad bucal está colonizada por diversos microorganismos, se cree que hay más de 700 especies diferentes de bacterias (Huang, Li1, & Gregory, 2011). Este conocimiento es tan antiguo como la microbiología y es probable que una de las primeras evidencias obtenidas sobre su presencia fuera la del inventor del microscopio, Van Leeuwenhoek 1663, que describió en forma preliminar los microorganismos presentes en la boca humana (Negroni, 2009). Años después se relaciona su presencia con la aparición de caries (Miller 1890), enfermedad periodontal, abscesos dentales, etc. (Pisterna & Spoleti, 2003), conceptos que se han ratificado en estudios posteriores (Huang, Li1, & Gregory, 2011).

En este contexto, la higiene bucal es clave para evitar la caries dental y la base del éxito en la prevención y tratamiento de la Enfermedad Periodontal. Para este objetivo el cepillado dental es esencial para el controlar la placa dental, siendo el método más efectivo, incrementando su eficacia con el uso del hilo dental y los productos químicos del enjuague bucal, con estos últimos y durante su uso exclusivo se ha demostrado la disminución de hasta el 60% de la placa bacteriana (Casals i Peidró, 2010).

No obstante a los beneficios del cepillado, durante su uso y aún durante su almacenamiento, los cepillos dentales suelen acumular en forma progresiva diversos microorganismos, lo que paradójicamente pueden favorecer el establecimiento de infecciones bucales y aún de otros órganos. Precisamente para prevenir esta nociva acumulación es aconsejable la desinfección rutinaria del cepillo de dientes luego de su uso con algunos agentes químicos.

Para el efecto están disponibles algunos productos específicos, entre los más empleados tenemos la Clorhexidina y Fenólicos como Listerine ® , Tricloxan, Hexetidina; los que limitarían significativamente durante su empleo, la contaminación y acumulación de microorganismos potencialmente patógenos que se produce en los cepillos dentales, disminuyendo la posibilidad de infecciones de la cavidad bucal o en otros órganos como la faringe y garganta.

2.1 Antecedentes históricos

Se considera que la higiene oral se inició 3000 A.C. por los sumerios, pero se atribuye la invención del cepillo de dientes a los chinos, ya que en sus escrituras refieren personas que masticaban palos hechos de ramas o raíces para la limpieza dental. (Linde, 2009; Ankola & Hebbal, 2009)

Durante el último siglo, los cepillos de dientes fueron hechos a mano con mangos de hueso, madera o marfil que sostenían cerdas de cerdo, jabalí u otros animales. Así, los primeros cepillos de dientes fabricados con cerdas de jabalí, aparecieron hacia el año 1600 (Ankola & Hebbal, 2009), se patentó por primera vez en América en 1857 (Carranza, 2010). Más tarde, para el año de 1938 se introducen los filamentos de nylon, por las limitaciones en la importación de cerdas de jabalí durante la Segunda Guerra Mundial (Linde, 2009).

2.2 Cepillo de Dientes

El cepillo de dientes es el instrumento más efectivo para la remoción del biofilm o placa dental, es la principal arma para la higiene bucal por lo que es ampliamente utilizado (Daniel & Harfst, 2004; Alexander, 2012). Con el cepillado y la remoción de la placa dental se evita que esta madure, lo que de ocurrir cambia la ecología microbiana, se vuelve patógena por los diferentes microorganismos presentes y por sus productos de desecho (Alexander, 2012). Se considera que aproximadamente el 80 a 90% de las personas en países industrializados se cepillan los dientes al menos una vez al día (Daniel & Harfst, 2004).

El apropiado uso del cepillo de dientes contribuye a una buena salud periodontal y a la prevención de caries, interrumpiendo la formación de la placa dental; cuando esta no se retira y se acumula conduce a una respuesta inflamatoria de los tejidos periodontales y una potencial destrucción de los mismos y favorece la proliferación de organismos cariogénicos por su capacidad de producir ácidos desmineralizantes (Alexander, 2012).

Los cepillos de dientes modernos a pesar de variar en tamaño, forma, textura y diseño, mantienen algunas partes que no cambian. Un cepillo manual consta de una cabeza con cerdas y un mango. La cabeza se divide en punta y talón que corresponden el extremo de la cabeza y a la parte más cercana al mango respectivamente. La cabeza del cepillo de dientes es una extensión del mango y está contorneada para posicionar las cerdas. Entre la cabeza y el mango por lo general se encuentra una constricción que se llama astil (Harris & Garcia-Godoy, 2001; Alexander, 2012).

El mango permite el fácil y sencillo agarre del usuario, manteniendo el cepillo en un ángulo correcto para que las cerdas se conserven a 45 grados a lo largo del eje largo del diente. Su longitud debe ser suficiente para proporcionar una adherencia adecuada y control completo de sus movimientos, además la distancia entre la zona de agarre y la cabeza debe permitir un fácil acceso a los dientes más posteriores (Alexander, 2012). Los cepillos se fabrican en diferentes tamaños para que puedan adaptarse a la anatomía oral de las personas por lo que disponemos de cepillos grandes, medianos y pequeños (Harris & Garcia-Godoy, 2001).

Cuando se observa un cepillo de dientes de manera lateral, se puede identificar cuatro perfiles básicos: cóncavo, convexo, plano y multiniveles. La forma cóncava es efectiva para superficies faciales, mientras que la convexa es mejor para las superficies linguales. En estudios de laboratorios el perfil multilateral en la disposición de las cerdas es más eficaz que en solo plano, en especial cuando se trata de la limpieza de las zonas interproximales. En cuanto al perfil transversal, la mayoría de cabezas de los cepillos es rectangular. (Harris & Garcia-Godoy, 2001)

Actualmente las cerdas de los cepillos dentales son de nylon, estas se flexionan hasta 10 veces más que las naturales, no se degradan y se limpian con mayor facilidad (Harris & Garcia-Godoy, 2001), además el grado de dureza o rigidez del cepillo está determinada por las características de las cerdas, especialmente por el diámetro y longitud, así como su elasticidad (Alexander, 2012).

La forma de las cerdas todavía es clasificada de manera subjetiva por cada fabricante. Originalmente las cerdas se cortaban en forma de haces y con frecuencia se presentaban con extremos afilados. Después de varios estudios, el

año 1940, se determinó que las cerdas deberían ser redondas, obtusas o lisas, para evitar traumatizar el tejido, sin embargo, el grado de redondez de una cerda depende de las especificaciones del fabricante y no del diseño del cepillo. Las cerdas deben ser suaves y flexibles con la punta redonda, para una mayor eficacia en la limpieza de la zona interproximal (Harris & Garcia-Godoy, 2001).

Otro aspecto a considerar es la firmeza o textura de las cerdas, la que está dada por cuatro factores: composición, diámetro, longitud y cantidad de cerdas individuales dentro de un cerdamen. La mayor parte de los cepillos contienen cerdas de 10 a 12mm de largo, con intervalos normales entre 0.007 y 0.015 pulgadas. Los cepillos suaves tienen cerdas con un diámetro de 0.007 y 0.009, medios entre 0.010 a 0.012, duros entre 0.013 a 0.014 y extraduros de 0.015 pulgadas (Harris & Garcia-Godoy, 2001). En consideración a lo descrito anteriormente, la Asociación Dental Americana ADA (2007) sugiere escoger un cepillo con cerdas suaves, con un tamaño y forma que se ajuste a la boca con comodidad y le permita llegar a todas las zonas del diente con facilidad.

Para mantener la efectividad de los cepillos dentales, deben ser remplazados periódicamente. Su vida útil está determinada por su tiempo de uso, el método de cepillado y por la fuerza aplicada sobre este; su condición se traduce por ejemplo cuando las cerdas se encuentran separadas, dobladas o incluso rotas. En promedio un cepillo de dientes manual dura 3 meses, aunque este periodo puede variar por los hábitos del usuario, además existen otras causas para el remplazo más frecuente del cepillo las que incluyen algunas enfermedades infecciosas y consuntivas, su continua exposición al agua u otras sustancias y daños durante su uso (Daniel & Harfst, 2004; Daly, Marshall, & Lazarus, 2000).

Luego de su uso diario, el cepillo debe ser limpiado bajo un chorro de agua, para que se elimine cualquier resto o pasta entre las cerdas. A continuación el mango del cepillo debe ser sacudido contra la parte superior del fregadero para eliminar cualquier agua restante. El cepillo debe ser mantenido en forma vertical en un lugar abierto para que se pueda secar y evitar el crecimiento de microorganismos, además no deben estar en contacto con otros cepillos para evitar una contaminación cruzada (Daniel & Harfst, 2004).

A pesar de estas recomendaciones para el mantenimiento de los cepillos dentales, se debe tomar en cuenta que estos no solo obtienen microorganismos de la boca, sino también dependen de sus condiciones de almacenamiento. Los microorganismos del medio ambiente pueden ser introducidos, por ejemplo a través las manos, aerosoles del baño y la humedad (Caudry & otros, 1995).

Se ha determinado que los cepillos de dientes tanto de individuos sanos o con enfermedades periodontales, contienen bacterias y virus patógenos como *Stafilolococos aureus*, *Eschericha coli*, *Pseudomonas*, e inclusive virus como el del *Herpes Simple* (Glass, 1992), además según Taji (1998) existe la presencia de *Stafilococos* que pueden ser transmitidos a través de la piel. También se ha identificado *Corynebacterium* que podría tener su origen en la piel o la boca, *Streptococos* provenientes seguramente de la placa atrapada en las cerdas y *Cándida albicans* del mismo origen, adicionalmente se han identificado *pseudomonas*, *coliformes* y *aerococci*, procedentes del grifo de agua y del medio ambiente.

Un aspecto alarmante es que se han aislado bacterias como *Streptococos Mutans* y *Streptococos sobrinus*, conocidos agentes etiológicos de la caries.

También se puede encontrar *Streptococo β hemolítico* que suele ser el causante de infecciones de garganta y faringe (Sato & Ito, 2004). Finalmente se han informado casos de endocarditis bacteriana como resultado de la bacteriemia producida por el cepillado dental (Donna & otros., 2001; Warren & otros, 2001).

2.3 Métodos de Desinfección

La desinfección de los cepillos dentales ha tenido poca atención debido a que solo se considera a este instrumento como un dispositivo de control de caries o para la eliminación de partículas entre los dientes y el control de la placa bacteriana, más los cepillos contaminados son fuentes potenciales de microorganismos que pueden llegar a ser dañinos para la salud del usuario (Ankola & Hebbal, 2009; ADA, 2005).

Actualmente contamos básicamente con cuatro opciones para la desinfección de los cepillos dentales:

2.3.1 Sprays

El más conocido es el Brushtox,[®] una solución desinfectante o descontaminante que contiene etanol activado (40%) con parabenos biocidas. Es utilizado como spray que se aplica sobre el cepillo antes y después de cada uso y elimina la mayoría de los patógenos (99.9%) especialmente por su capacidad de

humectación que ayuda a penetrar al desinfectante entre las cerdas (Ankola & Hebbal, 2009; Neal & Rippin, 2003).

2.3.2 Desinfectante para cepillo de dientes con luz Ultravioleta (UV)

Ankola (2009) menciona productos como Purebrush®, Ioncare®, eliminan los microorganismos mediante una corriente constante de luz UV durante 3 min. Otros como Germ Terminator ® se basan en dos métodos con un ciclo de vapor y un ciclo de calor seco. El ciclo de vapor se inicia automáticamente cuando se agrega agua, desinfectando el cepillo cuando se ve y oye el vapor llenar la cámara. Después sigue automáticamente el ciclo de calor seco, que mantiene el cepillo de dientes desinfectado en la cámara limpia hasta su próximo cepillado. A pesar de ser muy eficaz, los costos de estos aparatos son bastante elevados (Bitfocus, 2007; Gujjari & otros, 2011)

2.3.3 Cepillos modificados

Básicamente existen dos métodos cuando se trata de modificar los cepillos dentales. Estos son cambiando el diseño del cepillo en sí o agregando algún agente antibacterial a las cerdas (Ankola & Hebbal, 2009). En cuanto al cambio de diseño, se ha creado el cepillo de dientes de ozono (Ozone ®), este posee la misma dimensión de cualquier cepillo, pero su cabeza esta perforada y las cerdas están dispuestas alrededor de la perforación. Esta fue diseñada para poder lavar a través

del centro abierto, eliminado la placa y los sedimentos de pasta (Ankola & Hebbal, 2009), son de nylon convencional con rigidez ultra suave, suave, media y dura.

Otra forma es la incorporación de un desinfectante en las cerdas del cepillo, desarrollándose dos prototipos. El primero contiene un recubrimiento de cristales de zeolita con iones de zinc y plata, colocados en los filamentos durante la fabricación. Esta fórmula antiséptica, también se utiliza como un agente de conservación en la industria alimentaria, es estable y tiene una actividad de contacto a largo plazo, que se reduce significativamente después de 45 días (Ankola & Hebbal, 2009; Donna & otros., 2001).

Por otro lado, se ha desarrollado filamentos recubiertos con Clorhexidina la cual reduce la carga bacteriana y mantienen actividad antibacteriana de la punta a la base del filamento (Ankola & Hebbal, 2009).

2.3.4 Agentes Químicos

Son utilizados para eliminar, reducir y alterar los efectos nocivos de los microorganismos patógenos en la cavidad bucal y pueden desempeñar un papel importante como ayuda a los métodos mecánicos para la prevención y tratamiento de patologías periodontales. (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009). En la desinfección de los cepillos dentales su utilidad depende del tiempo que estos están en contacto con el agente o permanecen sumergidos, de su dilución y su composición química.

Algunos estan disponibles, siendo los más empleados:

2.3.4.1 Clorhexidina

En 1954 la compañía Imperial Chemical Industries en el Reino Unido sintetiza una sustancia a partir de polibisguanidas la que se la utilizaría como antiviral, pero su eficiencia para este propósito fue muy pobre. Años más tarde se relanza como una sustancia con propiedades bactericidas y bacteriostáticas (Zehnder, 2006). Para el año 1957 se publica el primer informe sobre la efectividad de la clorhexidina para combatir la gingivitis, pero es hasta los años setenta que se estudia de forma profunda el efecto inhibitor de la placa (Ruppert & Schlagenhauf, 2005).

La Clorhexidina es un agente antibacteriano con efecto antiplaca, aunque no la elimina cuando ya está formada. Se trata de una bisguanida catiónica, es decir está cargada positivamente, propiedad que le permite unirse a las superficies cargadas negativamente, lo que a nivel bucal incluye dientes, tejidos, y bacterias (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009). Su estructura química es 1,6-bis-4-clorofenildiguanidohexano (Fig. 1), además se disuelve bien en agua y en alcohol en forma de sal de digluconato (Ruppert & Schlagenhauf, 2005)

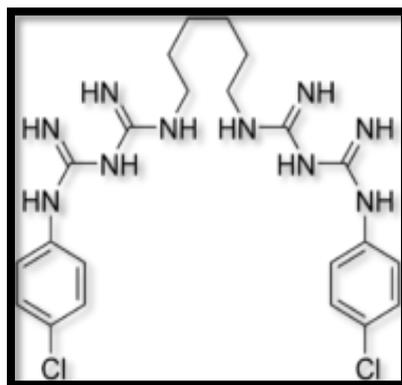


Figura 1. Estructura Química de la Clorhexidina

Nota: Fuente de Academic. (2010). *Clorhexidina*. Recuperado el 2012, de <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/273005>

La Clorhexidina tiene múltiples aplicaciones: reducción en el desarrollo de la placa bacteriana, interacción selectiva en la microflora de las bolsas en pacientes con periodontitis, eliminación de la flora cariogénica, tratamiento para candidiasis y para la desinfección de conductos radiculares (Ruppert & Schlagenhauf, 2005).

Posee una baja tensión superficial y se absorbe en los dientes, las membranas y los microorganismos a través de enlaces electrostáticos reversibles (Ruppert & Schlagenhauf, 2005). Las soluciones de 0,1% a 0,2% se recomiendan para el control de la placa, mientras que concentraciones de 2% se la utiliza como irrigante especialmente en endodoncia (Zehnder, 2006).

Por su mecanismo de acción se le considera como un agente microbiano del tipo membrana-activo ya que actúa sobre la membrana citoplasmática, con amplio espectro frente a Gram negativos y Gram positivos, hongos, dermatofitos y algunos virus (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009), pero es menos efectiva para *Pseudomonas* y especies de *Proteus* (Negroni, 2009).

Su mecanismo de acción puede dividirse en varias fases:

Fase 1: atracción hacia las superficies bacterianas que se da por la diferente carga electrostática que permite la unión con las bacterias cargadas negativamente (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009). Además, las moléculas catiónicas se unen a los grupos fosfato aniónicos de la pared celular y a los grupos carboxilo de las proteínas de la saliva adheridas a las membranas mucosa y los dientes (Ruppert & Schlagenhauf, 2005).

Fase 2: atracción de la membrana celular externa y unión con la membrana citoplasmática alterando su permeabilidad (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009).

Fase 3: coagulación y precipitación del contenido citoplasmático a través de la pared celular bacteriana, por lo tanto, provoca la muerte celular (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009; Ruppert & Schlagenhauf, 2005).

Se debe tomar en cuenta que dependiendo de su concentración la clorhexidina ejerce diferentes efectos sobre las bacterias. A bajas concentraciones es bacteriostática alterando solo la permeabilidad, permitiendo inclusive que la bacteria se recupere. A concentraciones altas es bactericida causando coagulación del material citoplasmático (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009).

Por otra parte se debe mencionar que este agente se libera lentamente, en forma activa, en el transcurso de 12 a 24 horas. Es así que, la Clorhexidina tiene una buena sustentividad, que se entiende como la capacidad de los tejidos orales para absorber el agente y permitir su liberación lenta en el transcurso del tiempo (Harris & Garcia-Godoy, 2001). Se ha observado un efecto bacteriostático *in vivo*,

tras el enjuague con una disolución al 0,2% de Clorhexidina, durante un período de hasta 12 h (Ruppert & Schlagenhauf, 2005).

La duración de esta sustancia en la boca depende de cada individuo en función del flujo salival, la concentración en la saliva de cationes rivales como el Ca^{2+} , y la presencia de iones H^+ procedentes de restos de alimentos (Ruppert & Schlagenhauf, 2005). Se debe además considerarse que la Clorhexidina se inactiva con la sangre y restos de materia orgánica y por tener una naturaleza catiónica alcanza su máxima actividad con un pH de 8, disminuyendo su actividad con un pH menor, perdiendo su efectividad con un pH menor de 5.2 (Ruppert & Schlagenhauf, 2005).

A pesar de que, la Clorhexidina es considerada hasta la fecha como el mejor agente antiplaca, también exhibe algunos efectos secundarios producidos por el uso prolongado. Entre los más comunes están la pigmentación de los dientes, la alteración en el sentido del gusto y el menos común la erosión de las mucosas (Malhotra, 2011).

La pigmentación de los dientes se da por el mismo efecto antibacteriano de la Clorhexidina, ya que uno de los 2 grupos catiónicos presentes en la molécula se une a los dientes y el otro grupo queda libre siendo este el responsable de la destrucción bacteriana. Sin embargo este grupo se puede unir a colorantes que están presentes en los alimentos que se ingiere o en bebidas como el té, café, vino tinto o tabaco. Asimismo, produce alteraciones en el sentido del gusto ya que estos productos se fijan a los botones gustativos irritándolos, las sensaciones de salado y amargo son la más afectadas por el bloqueo de los receptores específicos (Ruppert & Schlagenhauf, 2005).

2.3.4.2 Aceites esenciales

Este grupo incluye el fenol, timol, hexilresorcisol y el eucaliptol. Su mecanismo de acción consiste en atacar la pared celular de las bacterias e inhibir la acción de sus enzimas, provocando la muerte bacteriana, por lo que se los conoce como biocidas (Biological Therapies in Dentistry, 2011), además mantienen su efectividad en presencia de materia orgánica.

Este tipo de agentes químicos consiguen la reducción de la placa bacteriana y de la gingivitis, no obstante no son tan efectivos como la Clorhexidina, más no fomentan la aparición de resistencia bacteriana (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009), efecto positivo que se debe a la concentración de los aceites esenciales que es mayor a la necesaria para matar a las bacterias y además actúan sobre las bacterias de una manera no selectiva, reduciendo la posibilidad de resistencia. Atacan a las bacterias dañando la pared celular, destruyen las proteínas bacterianas, efecto localizado a solo ciertos sitios diana (Biological Therapies in Dentistry, 2011).

El principal representante de este grupo es Listerine, ® considerado como un enjuague bucal antiplaca y antigingivitis (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009). Fue presentado como un antiséptico quirúrgico en 1879 por los Drs. Joseph Lawrence y Jordan Wheat, Lambert estaba inspirando en la idea del Dr. Joseph Lister de utilizar desinfectantes en los hospitales durante cirugías. En efecto en 1865 el Dr. Lister fue el primero en realizar una cirugía antiséptica y por tanto fue el pionero en la implementación de una sala de operaciones moderna, antiséptica, lo que contribuyó a la reducción significativa de la mortalidad de los pacientes quirúrgicos durante el siglo 19. Lawrence y Wheat presentaron inicialmente una mezcla

especifica de aceites esenciales, como eucaliptol, timol, salicilato de metilo y mentol a la que le denominaron Listerine ® la que se empleó inicialmente como antiséptico quirúrgico, años más tarde se incorpora a la Odontología como antiséptico bucal (Dentistry magazine, 2012; Listerine, 2012).

Sus ingredientes activos son: timol, mentol, eucaliptol y salicilato de metilo, los llamados aceites esenciales (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009). La combinación de estos ingredientes es fija en el enjuagué conteniendo 0,064% de timol, eucaliptol 0,092%, 0,060% de salicilato de metilo, y 0,042% de mentol, fórmula que ha demostrado ser eficaz como antiplaca-antigingivitis en numerosas estudios clínicos (Charles, McGuire, Sharma, & Qaqish, 2011). La fórmula original contiene etanol en un 26.9% que se lo incluye por sus efectos antisépticos, proporciona estabilidad a la formula y reduce el riesgo de contaminación del producto (Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009; Harris & Garcia-Godoy, 2001).

En varios estudios se ha podido comprobar que Listerine ® es capaz de penetrar el biofilm y eliminar las a bacterias Gram positivas, además se lo considera un antibiótico de amplio espectro incluyendo este: *Streptococcus mutans*, virus del *Herpes simple* y virus de la *Influenza A* (Listerine antiseptic mouthwash for plaque and gingivitis, 2001).

Es importante mencionar que en la actualidad existen enjuagues que ya no contienen alcohol ya que este no es suficientemente efectivo como antibacteriano, inclusive estudios *in vitro* han demostrado que el alcohol promueve la penetración de diferentes carcinogénicos del tabaco en la mucosa oral. Asimismo existe evidencia sobre la existencia de bacterias orales con capacidad de metabolizar el alcohol en acetaldehído que es carcinogénico, sin embargo, en los estudios clínicos

realizados no se ha podido comprobar su relación con el posible desarrollo de cáncer (Marchetti, y otros, 2011).

Así, Marchetti et al (2011) consideran que existen otros aspectos a considerar, los que actualmente son líneas de investigación que buscan nuevas formulaciones para minimizar sus potenciales efectos negativos sobre la superficie de restauraciones y su papel en la posible formación de cáncer.

2.4 Microbiología

La microbiología es una ciencia que estudia a los microorganismos, un amplio y diverso grupo de organismos microscópicos; (bacterias, hongos y virus) que son células vivas y funcionales, dotados de individualidad, con una organización biológica elemental y con una enorme importancia básica y aplicada (Madigan, Martinko & Parker, 2004). El término microbiología, proveniente del griego *micro*=pequeño, *bios*=vida y *logos*=estudio (Negroni, 2009).

Es importante señalar que uno de los objetivos claves de la microbiología es comprender el impacto de los microorganismos en el ser humano, ya que a través de este conocimiento se puede maximizar sus efectos beneficiosos y reducir los perjudiciales (Madigan, Martinko, & Parker, 2004).

2.5 Bacteriología

Ciencia que forma parte de la microbiología y se dedica al estudio e investigación de la morfología, ecología, genética y bioquímica de las bacterias así como otros aspectos relacionados con ellas. Es trascendente para el hombre por sus implicaciones médicas, alimentarias y tecnológicas (Madigan, Martinko, & Parker, 2004).

Debemos considerar que todas las células vivientes pueden ser clasificadas en dos grandes grupos: procariotas y eucariotas. Las células eucariotas son más grandes y mucho más complejas que las procariotas, además presentan un núcleo verdadero y organelos delimitados por membranas (Madigan, Martinko, & Parker, 2004).

Por otra parte, las células procariotas tienen una estructura más simple, carecen de un núcleo verdadero y de organelos delimitados por membranas, a este grupo pertenecen las bacterias (Madigan, Martinko, & Parker, 2004). De esta manera, las bacterias son microorganismos que pertenecen al reino procariota, presentan una estructura simple y sin membrana celular. Este tipo de microorganismos son seres unicelulares que pueden vivir sin necesidad de un huésped, se reproducen por división simple o fisión binaria, lo que genera agrupaciones características (Negroni, 2009).

2.5.1 Clasificación de las Bacterias

La más empleada y antigua tiene en consideración su forma y agrupación clasificándolos en: cocos, bacilos, espirilos y espiroquetas.

Los cocos son formas esféricas u ovoides, generalmente aerobias, que tienden a agruparse entre sí. Cuando se presentan asociadas dos bacterias se denominan diplococos, si lo hacen en forma lineal tres o más células estreptococos. Además si forman grupos de cuatro elementos dispuestos en cuadro se conocen como tétradas (Madigan, Martinko, & Parker, 2004; Negroni, 2009).

Los bacilos tienen forma de bastoncillos. Se pueden encontrar en grupos de dos o diplobacilos o en cadenas similares a las que se observa en los cocos denominándose como estreptobacilos. Pueden tener los extremos redondeados, otros presentan extremos afilados por lo que se los conoce como fusiformes y existen también bacilos filamentosos por sus cortas ramificaciones y cuando quedan agrupados en cadenas son los estreptobacilos o estando unidos de un lado al otro están en empalizada (Negroni, 2009).

Para Negroni (2009) los espirilos son bacterias helicoidales con movilidad flagelar, generalmente gram negativas. A pesar de su semejanza morfológica con la espiroquetas se diferencian por sus flagelos bacterianos externos típicos.

Las espiroquetas son bacterias filiformes, flexibles muy largas, en forma de espiral con diez o más vueltas. Se clasifican según el número de vueltas y si poseen un cuerpo rígido o filamentosos. Existe vibrios con forma de comas, espirilos en forma de S, si son flexibles y con varias curvas se denominan borrelia, con

espiras más apretadas treponema o leptospiras si además presentan las puntas incurvadas hacia adentro (Negroni, 2009).

2.5.2 Elementos de la estructura bacteriana

Las bacterianas presentan estructuras que son comunes a todas ellas independientemente de la forma que presenten y comprenden: pared celular, membrana citoplasmática y el citoplasma donde están los ribosomas y nucleóide (Negroni, 2009).

La pared celular es la estructura rígida más externa, básicamente es la encargada de mantener la forma de la bacteria y la protege del medio que la rodea. También permite mantener la presión de turgencia dentro de la bacteria por la cantidad de solutos disueltos dentro de ella. Es incolora a simple vista, pero el bacteriólogo danés Gram ideó una forma de tinción que permitió dividirlos en dos grupos conocidos como Gram positivos y Gram negativos (Madigan, Martinko, & Parker, 2004; Negroni, 2009).

Las bacterias Gram positivas y negativas, presentan una capa rígida de composición química similar que lo podemos entender como un complejo de peptidoglicano o mureína. También está formada por finas láminas compuestas de derivados de azúcares llamados N-acetil-glucosamina y ácido N-acetil-murámico, y un pequeño grupo de aminoácidos (Madigan, Martinko, & Parker, 2004).

La diferencia en la tinción se basa en la distinta reacción de acuerdo a la estructura de las paredes celulares. Así las Gram positivas solo tienen un tipo de

molécula que puede ser muy ancha y está atravesada por ácidos teicoicos. Estos ácidos le confieren una carga eléctrica negativa lo que permite la unión o agregación interbacteriana. Por el contrario, las Gram negativas están compuestas por capas y son bastante más complejas, ya que no posee ácidos teicoicos. La capa más externa tiene lipopolisacáridos que se los conoce como antígeno O. La zona más interna es el lípido A o endotoxina. (Madigan, Martinko, & Parker, 2004; Negroni, 2009)

La membrana citoplasmática se encuentra por dentro de la pared celular, unida o no al espacio periplasmático. Está compuesta por fosfolípidos y proteínas, identificándose dos capas por lo que puede decirse que es una membrana bicapa lipídica. La membrana actúa permitiendo el paso de determinadas moléculas, es decir, es una membrana semipermeable. Tiene actividad enzimática e interviene en el proceso de división celular (Negroni, 2009).

Por su parte para Negroni (2009) el citoplasma es un coloide que tiene en suspensión proteínas, azúcares, lípidos, iones y compuestos de bajo peso molecular. Es la parte que tiene mayor contenido de agua y donde se encuentran los ribosomas y el nucleoide.

Los ribosomas son elementos redondos o ligeramente aplanados, están unidos con el RNA mensajero y están constituidos por proteínas y RNA ribosómico. En este sitio se realiza la síntesis de proteínas y tienen acción de algunos antibacterianos (Negroni, 2009; Madigan, Martinko, & Parker, 2004).

Los nucleoides según Negroni (2009) son una sola molécula de DNA bicatenaria larga, enrollada, cerrada, sin cubierta que se encuentra en la parte central de las bacterias junto a la membrana plasmática. La función de estos es

transmitir la información genética, para esto las cadenas de DNA se abren y cada una sirve de molde para que se produzca otra.

2.6 Microflora Humana

El término microflora o flora normal se refiere a los microorganismos que normalmente residen en la piel y mucosas de las personas sanas. La piel y las mucosas siempre hospedan microorganismos, los que pertenecen a dos grupos la microflora residente compuesta de microorganismos fijos y la microflora transitoria conformada por microorganismos no patógenos o potencialmente patógenos que solo están en las mucosas por horas, días o semanas (Jawetz, y otros, 1996; Marsh & Martin, 2011).

La microflora residente contribuye directamente o indirectamente al desarrollo normal de la fisiología, de la nutrición y del sistema inmune del organismo. Por ejemplo hay bacterias de la flora intestinal que sintetizan vitamina K y ayudan en la absorción de nutrientes. La supresión o perturbación de la microflora residente puede llevar a la colonización anómala de microorganismos exógenos que pueden ser patógenos (Jawetz, y otros, 1996; Marsh & Martin, 2011).

La colonización microbiana de la superficie del cuerpo comienza en el nacimiento. Esta superficie se exponen a una amplia gama de microorganismos, sin embargo, cada superficie por sus características físicas y biológicas solo es colonizada por unos pocos de estos (Marsh & Martin, 2011).

Tabla 1. Distribución de la microflora residente

Sitio Anatómicos	Microflora residente
Piel	Staphylococcus Micrococcus Corynebacterium Propionibacterium
Nasofaringe	Streptococcus Neisseria Moraxella Haemophilus
Tubo digestivo	Peptostreptococcus Eubacterium Clostridium Bifidobacterium Bacteroides
Tracto urogenital	Streptococcus Staphylococcus Lactobacillus Cándida

Nota: Fuente Marsh, P., & Martin, M. (2011). *Microbiología Oral*. Venezuela: Amolca.l

2.7 Microflora Oral

La boca es uno de los sitios biológicamente más complejos e importantes del cuerpo. Permite la existencia de diversos microorganismos que guardan una vida armoniosa con el huésped y constituyen una microflora o microbiota con una composición y existencia características debido a las condiciones peculiares de nutrientes, pH, humedad, factores que confluyen localmente y llegan a constituir un ecosistema.

Se considera que el ecosistema de la cavidad bucal está constituido por más de 700 especies de microorganismos, iniciándose la colonización de esta luego del nacimiento, ya que es estéril cuando el saco amniótico está intacto, antes del parto (Jawetz, y otros, 1996). A partir del nacimiento la orofaringe y cavidad bucal del neonato comienza a ser rápidamente colonizada, determinándose que la microflora temprana está compuesta por *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus viridans* y Bacilos Gram negativos ocasionales (Long & Swenson, 1976).

La microflora inicial va modificándose con el tiempo y con el apareamiento de nuevos elementos como los dientes. Es decir es variable durante toda la vida influenciada tanto por los factores microbianos y no microbianos que conforman lo que se ha denominado como sucesión autogénica y alogénica y el mayor ejemplo de la sucesión autogénica está dado por la biopelícula dental considerada como un hábitat específico (Ahmadiéh & otros, 2010).

Sin embargo, pueden presentarse episodios de desequilibrio entre esta microflora y el huésped, es decir alteraciones en el ecosistema, que pueden

conducir a alteraciones patológicas. Así, las más comunes en la boca, son la caries y la enfermedad periodontal. (Marsh & Martin, 2011; Negroni, 2009)

La caries dental es la desmineralización del esmalte o raíz por productos ácidos, originados por el metabolismo bacteriano de los hidratos de carbono provenientes de la dieta. También, la placa dental está asociada con la etiología de la enfermedad periodontal, su acumulación desencadena una respuesta inflamatoria que conduce a daños en los tejidos de soporte del diente (Marsh & Martin, 2011).

Estas dos enfermedades presentan desafíos cuando tienen una etiología microbiana. Esto se debe principalmente a que en la boca ya existe una microflora residente, donde distintos microorganismos están involucrados. Por tanto, es imprescindible determinar las especies responsables o las consideradas solo como espectadoras que constituyen la flora normal de la boca (Marsh & Martin, 2011).

2.7.1 Géneros y especies microbianas presentes en la cavidad bucal

Desde hace tiempo se sabe que las bacterias colonizan diferentes superficies en la cavidad oral como consecuencia de las adhesinas específicas de la superficie bacteriana. Así la mayoría de microorganismos en la boca son cocos y bacilos gram positivos y gram negativos, aerobios, anaerobios facultativos y estrictos. Además según Aas (2005) el 50% de la microbiota de la cavidad oral no es posible aislar en medios de cultivo generales.

Negróni (2009) menciona que entre los microorganismos que componen la microflora propia de la cavidad bucal predominan los que pertenecen a los phylum: destacando *Firmicutes*, *Actinobacterias*, *Fusobacteria*, *Deinococcus-Thermus*, *Acidobacteria* y *Chloroflexi* entre los gram positivos y los que se encuentran dentro de los phylum *Bacteroides*, *Spirochaetes*, *Synergistes* y *Proteobacterias* que agrupan a los microorganismos considerados como gram negativos. También se han identificado coccoides que son anaerobios estrictos como *Veillonella* y microorganismos filamentosos polimorfos como *Lactobacillus*, *Actinomyces* y *Bifidobacterium*.

Algunos cocos gram positivos, fundamentalmente *Streptococcus viridans* del phylum *Firmicutes*, son usualmente los más aislados de la cavidad bucal en un estado de salud normal, mientras los streptococcus del grupo *mutans* y *sobrinus*, son asociados con caries dentales. Asimismo se pueden encontrar *Staphylococcus* que es considerada como una biota transeúnte y el más representativo del grupo es el *Staphylococcus aureus*. (Negróni, 2009)

De esta manera, el *Streptococcus viridans* son en general alfa-hemolíticos ya que producen una coloración verde en el agar sangre por la pérdida masiva de potasio de los eritrocitos presentes en el medio de cultivo, de ahí su nombre (Madigan, Martinko, & Parker, 2004). Los streptococcus son muy abundantes en la flora normal de las vías respiratorias superiores y tienen importancia en el mantenimiento de la salud de las mucosas. Este grupo de microorganismos son los más abundantes en la flora total cultivable de la placa dental. No obstante, cuando estas bacterias alcanzan el torrente sanguíneo por algún traumatismo son las principales causantes de endocarditis bacteriana en válvulas cardiacas normales en un 21% (Jawetz, y otros, 1996; Poveda, y otros, 2008).

Análogamente, el *Staphylococcus aureus* es una bacteria distribuida en forma de racimo de uvas. Es coagulasa positiva, es decir, produce una proteína de tipo enzimático que coagula el plasma, además produce enterotoxinas cuando crece en alimentos constituidos por hidratos de carbono y proteínas (Jawetz, y otros, 1996). De esta manera, Negroni (2009) menciona que este microorganismo es parte de la biota transeúnte en boca, y que está presente en piel y membranas mucosas. Sin embargo se la asocia con infecciones endodónticas, periodontales, periapicales e infecciones supurativas en paciente inmunocomprometidos. Asimismo se lo relaciona con un 23% con la endocarditis bacteria. (Poveda, y otros, 2008)

Por otro lado Negroni (2009) sugiere que la mayoría de los microorganismos relacionados con la enfermedad periodontal se encuentran en el grupo de los phylum, generalmente como gram negativos entre los que tenemos: Porphyromonas, Prevotella, Bacteroides y Fusobacterium.

Asimismo, se ha identificado espiroquetas comensales y hongos como *Cándida albicans* y otros como *Mycoplasma* y aun virus como el de *Epstein- Barr* y *Cytomegalovirus* (Negroni, 2009).

Así, algunos microorganismos comensales presentes en boca son la *Moraxella catarrhalis* y *Escherichia coli*. La *Moraxella catarrhalis* son cocos gramnegativos considerados como comensales que habitan la boca y el tracto respiratorio. Este microorganismo se lo reporta desde el año de 1886 por Frosch y Kolle, siendo una bacteria aerobia, oxidasa y catalasa positiva, más aun es productor de β -lactamasa del tipo penicilinas. La *Moraxella catarrhalis* es un comensal inocuo presente en la flora normal del seres humanos sanos, sin embargo, esta puede producir neumonía e infecciones de oído medio y ojos. (Martínez, 2012)

Por otra parte, existen organismos que no son normales en flora normal de la boca, pero se los puede encontrar por contaminación de persona a persona a través de los excrementos (Miller, 1999). Este es el caso de la *Escherichia coli* que es una enterobacteria, gram negativa y anaerobia facultativa. Esta se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal donde no causa ninguna enfermedad, más bien contribuye a sintetizar vitaminas en especial la K y en la anaerobiosis del ambiente del intestino delgado. Sin embargo fuera de este sitio sepa patógenas producen infección de las vías urinarias y diarreas (Jawetz, y otros, 1996; Madigan, Martinko, & Parker, 2004).

También cabe mencionar que existen microorganismos oportunistas, es decir, microorganismos que pueden producir una infección cuando las defensas del huésped están bajas invadiendo cualquier órgano (Definiciones medicas, 2011; Jawetz, y otros, 1996). Tal es el caso de los hongos *Cladosporium spp* y *Aspergillus fumigatus*.

Jawetz (1996) define al *Aspergillus fumigatus* como un moho ubicuo que está presente sobre la vegetación en descomposición. Se desarrolla en la humedad y no es parte de la flora normal. Puede invadir la córnea traumatizada, quemaduras y el conducto auditivo externo. Lo más grave es que este moho se transforma en oportunista en personas inmunocomprometidas o en personas con anomalías anatómicas del aparato respiratorio. Estos mohos producen la enfermedad conocida como aspergilosis que es un grupo de micosis, con diversas causas y patogenias. (Jawetz, y otros, 1996)

En el caso de *Cladosporium spp* son mohos pigmentados, que se encuentran distribuidos en el aire, materia orgánica en descomposición y pueden ser

contaminantes de los alimentos. Es importante mencionar que se pueden desarrollar en las superficies de fibras de vidrio y en el interior de las tuberías de agua. Son mohos que no tienen una fase sexual de multiplicación y comprenden más de 30 especies. Este tipo de hongo se lo ha aislado en forma de contaminante, pero no se le considera patógeno para los seres humanos. Sin embargo se ha encontrado datos de que puede causar infecciones cutáneas, onicomicosis, sinusitis e infecciones pulmonares. Además puede causar reacciones alérgicas o asma (Tasic & Miladinovic, 2007).

Las siguientes tablas ilustran de manera general la clasificación en grupos de las bacterias orales:

Tabla 2. Bacterias Gram negativas

Gram negativos	
Phylum	Género
Bacteroides	Bacetroides, Bacilos anaerobios Tannrella, Bacilos anaerobios Prevotella, Bacilos anaerobios Porpyromonas, Bacilos anaerobios Capnocytophaga, Bacilos capnófilo
Spirochaetes	Treponema, Espiroqueta anerobia
Synergistes	Synergistes, Bacilos anaerobios Desulfovibrio
Proteobacterias	Campylobacter, bacilos anaerobios Haemophilus y Aggregatibacter, Cocobacilo aerobios facultativos o anaerobios Kingella, Cocobacilo capnófilo Eikenella, Cocobacilo aerobio Neisseria, cocobacilo anerobios facultativos Cocobacilos aerobios o microaerófilos
Chlamidiae	Chlamidophila, parásitos intracelulares

Nota: Fuente Negroni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. Argentina: Panamericana

Tabla 3. Bacterias Gram positivas

Gram positivas				
Clase Bacilli	Aerobios facultativos	o	Familia bacillales	Gemella Filifactor Filobacillus Stomatococcus Micrococcus
			Familia lactobacillales	Streptococcus Enterococcus Abiotrophia Granulicatella Lactobacillus
Clase Clostridia	Anaerobios		Cocos grampositivos	Finegoldia Micromonas Peptostreptococcus Peptoniphilus Anaerococcus
			Cocos gramnegativos	Veillonela Megasphaera Diaslister Bacilos curvos gramnegativos Selenomonas
Phylum Actinobaterias	Anaerobios anaerobios facultativos	y	Bacilos	Atopobium Olsenella Parascardovia

			Scardovia Bifidobacterium Propionibacterium
		Cocos	Corynebacterium Filamentosos Actinomyces Rothia
Phylum Fusobacteria	Bacilos Anaerobios	Fusobacterium Leptotrichia	
Phylum Deinococcus-Thermus	Cocos aerobios facultativos	Deinococcus	
Phylum Acidobacteria	Bacilos aerobios	Acidobacterium	
Phylum Chloroflexi	Filamentos aerobios facultativos	Chloroflexus	

Nota: Fuente Negroni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. Argentina: Panamericana.

Tabla 4. Otros microorganismos

Otros microorganismos			
Mycoplasma	Hongos	Virus	Protozoos
Micoplama salivarium	Candida albicans	Epstein Barr	Entamoeba gingivalis
M. buccale	C. tropicalis	Cytomegalovirus	Trichomonas tenax
M. faucium	C. stellatoidea		
M. orale	C. krusei		

Nota: Fuente Negroni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. Argentina: Panamericana

2.8 Medios de cultivo

Son soluciones nutritivas artificiales preparadas en el laboratorio que se utilizan para permitir y favorecer el crecimiento de microorganismos, lo que permite su identificación posterior. Cultivar un microorganismo es brindar las condiciones artificiales similares a los líquidos orgánicos del cuerpo humano para favorecer su crecimiento in vitro (Madigan, Martinko, & Parker, 2004; Negroni, 2009).

Los medios de cultivo se preparan añadiendo cantidades precisas de compuesto orgánicos o inorgánicos purificados en agua (Madigan, Martinko, & Parker, 2004). Por lo general contienen hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc., los hidratos de carbono se adicionan para incrementar el valor nutritivo del medio y para detectar reacciones de fermentación de los

microorganismos que ayuden a identificarlos, el suero y la sangre se añaden para promover el crecimiento de los menos resistentes (Negroni, 2009). También pueden agregarse colorantes al medio de cultivo como indicadores para detectar la formación de ácido o como inhibidores selectivos del crecimiento de algunas bacterias.

Un medio de cultivo adecuado para la investigación debe contener como mínimo carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas, en casos seleccionados será necesario adicionar ciertas vitaminas y otras sustancias inductoras del crecimiento así como sustancias que actúen como donantes o captadores de electrones para las reacciones químicas que tengan lugar (EducaMadrid, 2002).

De acuerdo a su estado físico los medios de cultivo pueden ser líquidos, semisólidos y sólidos, mientras que atendiendo a su utilidad práctica son para uso generales, selectivos, enriquecidos, para aislamientos especializados y diferenciales (EducaMadrid, 2002)



Figura 2: Medios de cultivo Agar Sangre, chocolate, Cled, Mc Conkey

3 Materiales y Métodos

3.1 Tipo de estudio

Para este estudio se obtuvo aprobación del Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito y se hizo firmar un consentimiento informado a cada uno de los participantes (Ver en Anexos).

Así, este es un estudio de tipo experimental, prospectivo, comparativo en el que se investiga por análisis microbiológico la presencia de algunos microorganismos de la cavidad bucal en los cepillos de dientes usados durante una semana y el efecto antibacterial que sobre estos tienen algunos agentes químicos empleados para la higiene bucal.

3.2 Tamaño de la muestra

Para este estudio se incluyeron a 15 sujetos (8 mujeres y 7 varones) que participaron voluntariamente y cumplieron los criterios de inclusión establecidos.

3.3 Criterios de inclusión

- Adultos de entre 18-25 años
- Sanos sin enfermedades sistémicas como diabetes, hipertensión arterial, insuficiencia renal, epilépticos, hemofílicos e inmunocomprometidos
- Sin ortodoncia
- Capacidad motriz y física normales
- Diagnostico periodontal hasta de gingivitis leve
- Consentimiento firmado

3.4 Criterios de exclusión

- Personas menores de 18 años o mayores a 25 años
- Pacientes con enfermedades sistémicas como diabetes, hipertensión arterial, insuficiencia renal, epilépticos, hemofílicos e inmunocomprometidos
- Cepillos utilizados más del tiempo estipulado en esta investigación
- Personas con problemas periodontales graves.
- Apiñamientos severos y con ortodoncia
- Personas con problemas motrices.

3.5 Grupos de estudio

Primera semana: 15 participantes voluntarios. Spray utilizado agua destilada

Segunda semana: 15 participantes voluntarios. Spray Gluconato de Clorhexidina al 0.12%

Tercera semana: 15 participantes voluntarios. Spray Listerine®

3.6 Materiales

PRIMERA FASE

- Cepillos dentales con cerdas suaves de nylon Colgate® Palmolive
- Pasta dental Colgate® Palmolive
- LISTERINE® Johnson & Johnson
- Gluconato de Clorhexidina al 0,12% Lamosan Cia. Ltda.
- Agua destilada

SEGUNDA FASE

- Medios de cultivo Agar Sangre, EMB, CLED, Mac Conkey, Muller Hinton, TSA, MVIC, TSI, Agar Saboureaud marca OXOID
- Cajas Petri estériles
- Tubos de 10mL tapa roja estériles marca Vacutech
- Agua destilada estéril

- Hisopos estériles marca Prime
- Juego de Asas bacteriológicas
- Lámpara de alcohol
- Mechero Bunsen
- Cilindro de gas
- Cámara de flujo laminar vertical marca YMX, modelo Steril 230 de 500 dalton de resistencia
- Incubadora de flujo vertical marca MLW, modelo BSU 100, temperatura regulable a 37° C.
- Autocalve de presión vertical, marca MYTIC, modelo DELL-s333, 200 atm de presión

3.7 Metodología

La investigación y la recolección de la muestra tomo lugar en la Clínica Odontológica de la Universidad San Francisco de Quito.

PRIMERA FASE DE LA INVESTIGACIÓN

PRIMERA SEMANA

Al iniciar el estudio se les explicó a los voluntarios en qué consistía la investigación y los que decidieron participar se les entregó el consentimiento

informado para que lo firmen. Luego, se les realizó la evaluación y examen clínico periodontal básico para determinar la presencia o ausencia de enfermedad y su estadio. También se entregó los cepillos dentales Colgate Palmolive, dentífricos Colgate Palmolive y agua destilada, junto con las instrucciones del correcto uso del cepillo dental y la explicación de la técnica de cepillado, específicamente la de Bass modificada. Los participantes comenzaron a cepillarse los dientes con la técnica indicada, 3 veces al día, para luego ser desinfectados con el agua destilada.

SEGUNDA SEMANA

Terminada la semana se recogieron los cepillos desinfectados con agua destilada. La cabeza de estos fue cortada para almacenarla y transportarla en cajas petri estériles de la siguiente manera:

Se procedió con los guantes estériles ya colocados, a cortar la cabeza del cepillo tratando de mantenerlo siempre lo más cerca posible al mechero. Luego junto al mechero, con la mano derecha, se levanta la caja para introducir la cabeza del cepillo cortada, a continuación con la mano izquierda se pone la tapa. Enseguida se coloca Parafilm, que es una película autosellante, moldeable y flexible, para sellar las cajas el cual evitará que las cajas Petri se abran durante el transporte hacia el laboratorio. Para finalizar se codificó cada una de las muestras con el tipo de aerosol empleado y la fecha de recolección. (Fig. 3)

Además se entregó los cepillos nuevos y Gluconato de Clorhexidina al 0.12% para la desinfección de los mismos.

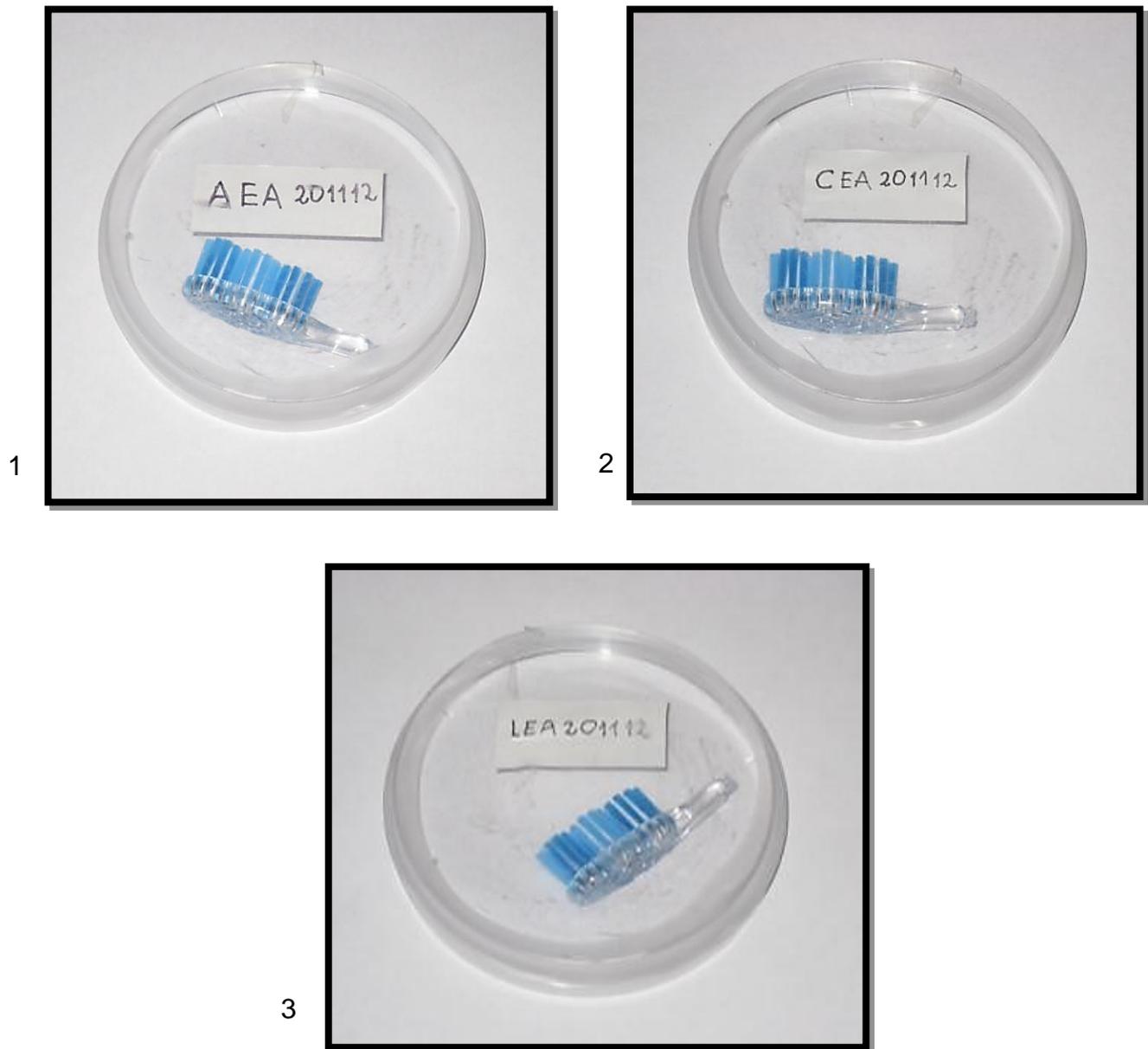


Figura 3. Muestra almacenada y codificada

Nota: Codificación (1) A: Agua destilada, (2) C: Clorhexidina, (3) L: Listerine. La identidad de los voluntarios se mantuvo anónimo

TERCERA SEMANA

Terminada la semana se recogieron los cepillos desinfectados con Gluconato de Clorhexidina al 0.12%. Se los almacenó y transportó de la misma manera antes detallada. Además se entregó los cepillos nuevos y Listerine® para la desinfección de los mismos.

CUARTA SEMANA

Se recolectaron los cepillos desinfectados con Listerine®. Se los almacenó y transportó de la misma manera ya detallada.

SEGUNDA FASE DE LA INVESTIGACIÓN

Una vez en el laboratorio de microbiología se lavó la cabeza del cepillo de dientes en agua destilada estéril y se realizó la siembra utilizando diferentes medios de cultivo como agar Sangre, TSA, IMVIC, TSI y Saboureaud como se detalla a continuación.

3.7.1 Elaboración medios de cultivo

Se pesó la cantidad de agar necesario para cada medio de cultivo, se agregó agua destilada de acuerdo a las indicaciones del fabricante, se llevó a calentar al

fuego para su completa homogenización, luego se introdujo en el autoclave para su esterilización a 200 atmósferas de presión por 20 minutos; mientras tanto se esterilizó la cámara de flujo laminar con rayos ultravioleta, igual por 20 minutos. Al termino de este tiempo se tomó el medio de cultivo estéril (Fig. 4) y se dejó enfriar por 10 minutos aproximadamente; cuando se encontró a una temperatura de 50°C a 60°C aproximadamente, se procedió a envasar en las cajas petri estériles.



Figura 4: Medio de cultivo estéril-Agar base

En el caso del Agar Sangre y Chocolate, se debe esperar que el medio de cultivo se enfríe hasta 40°C en el primer caso y 45°C en el segundo para agregar la sangre (Fig. 5).



Figura 5. Elaboración de medios de cultivo

Nota: Fuente Romero, M., Esquivel, J., Alvarado, F., Montes de Oca, C., & Rangel, M. (6 de Junio de 2012). *Microbiología*. Recuperado el 2012, de <http://realizaciondeanalisis.blogspot.com/>

3.7.2 Análisis Microbiano, procedimiento de siembras y resiembras

El paso seguido fue extraer la cabeza del cepillo de la caja petri y realizar un hisopado estéril de las cerdas, para continuar con la siembra en los cultivos primarios; esto es en Agar Sangre, Agar Mc. Conkey y Agar Sabouraud. Para esto se esterilizó la cámara de flujo con rayos ultravioleta por el lapso de 20 minutos, luego se tomó el hisopo y se realizó un raspado enérgico de las cerdas del cepillo, inmediatamente se efectuó un primer inóculo en cada caja de agar primario; al haber realizado esto con todos los cepillos, se tomó el asa, se esterilizó al fuego del mechero, luego de 5 minutos, cuando ya se ha enfriado, se realizó el estriamiento de cada inóculo primario de los agares sembrados (Fig. 6), efectuando una esterilización al fuego entre agar y agar, finalmente se rotula cada caja sembrada

con el código respectivo. Este mismo procedimiento se efectúa para las siembras de los otros grupos agua destilada, grupo Clorhexidina y grupo Listerine®.

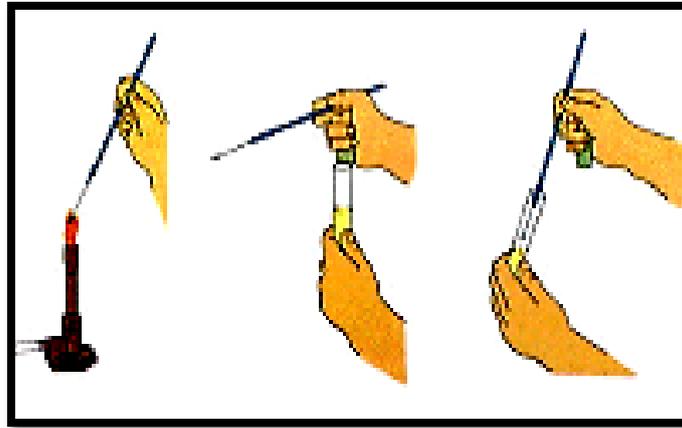


Figura 6. Técnica con asa

Luego con pinza estéril se sumergió la cabeza del cepillo en agua destilada, igualmente estéril; con la solución obtenida se realizó otra siembra en cultivos primarios: Agar Sangre, Agar Mc. Conkey y Agar Sabouraud.

A las 16 horas de las siembras, se realizó las resiembras en los agares selectivos, así en Agar TSA, Agar EMB y Agar Muller Hinton, tomando varias colonias diferentes entre sí por su morfología y características propias de reacción al agar primario. Para esto se esterilizó la cámara de flujo con rayos ultravioleta por el lapso de 20 minutos, luego con el asa esterilizada al fuego y enfriada necesariamente, se tomó una colonia sospechosa y se realizó la resiembra en el agar selectivo o en el agar diferencial según el caso, finalmente se rotuló cada caja sembrada con el código respectivo. Este mismo procedimiento se efectúa para las resiembras de los otros grupos agua destilada, grupo Clorhexidina y grupo Listerine®.

A las 24 horas de esta resiembra, se realizaron las siembras en agar diferencial, esto es en Agar CLED, según el caso, tomando la muestra de cada cultivo selectivo.

Finalmente, a las 48 horas de la última resiembra, se realizó siembras en las pruebas confirmatorias, según el caso de la bacteria identificada inicialmente, confirmando o no la posible identificación.

3.7.3 Procedimiento de siembras en pruebas confirmatorias

Cuando ya se logró una identificación preliminar de las colonias sembradas, se procedió a la siembra en las pruebas confirmatorias, para ello se esterilizó la cámara de flujo con rayos ultravioleta por el lapso de 20 minutos, luego con el asa esterilizada al fuego y enfriada necesariamente se tomó una colonia del agar diferencial positivo y se realizó la resiembra en cada tubo de cada prueba (Fig. 7); realizando un estriamiento o un inóculo, dependiendo del tipo de prueba necesaria, finalmente se rotuló cada tubo sembrado con el código respectivo.

Este mismo procedimiento se efectúa para las siembras en pruebas confirmatorias de los otros grupos agua destilada, grupo Clorhexidina y grupo Listerine®.



Figura 7: Pruebas confirmatorias

3.7.4 Procedimiento de incubación

Luego de la rotulación, se tomó los cultivos y se los llevó a incubarse durante 16, 24, 48 horas o 6 semanas, según el patógeno a identificar, en la incubadora a 37°C (Fig. 8).

Este mismo procedimiento se efectúa para la incubación de los cultivos a partir de la solución de enjuague del cepillo dental.

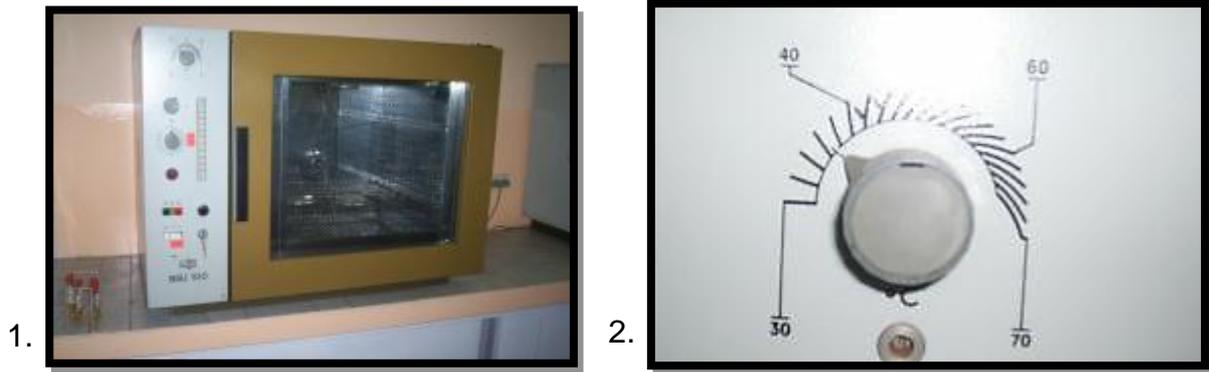


Figura 8. Incubadora

Nota: (1) Incubadora de temperatura regulable, (2) Perilla de temperatura a 37°C.

3.7.5 Lectura de los cultivos

Luego del tiempo de incubación requerido, se tomó los cultivos primarios, selectivos, diferenciales y confirmatorios y se logró determinar los patógenos crecidos de los cepillos dentales y de la solución obtenida de su enjuague.

4 Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se empleó el Statistical Package for Social Sciences, SPSS 12.0 para windows, SPSS Inc. Las variables obtenidas se expresaron como porcentajes, medias, y para la comparación de los valores obtenidos se empleó la prueba exacta de Fisher, un valor < 0.05 fue considerado como estadísticamente significativo.

5 Resultados

Quince pacientes cumplieron los criterios de inclusión establecidos y participaron en el estudio. La edad promedio de los participantes fue 20.7 años (18-23 años), siete (46.7%) fueron varones y ocho (53.3%) mujeres (Fig. 9).

Los diagnósticos encontrados en la evaluación periodontal fueron:

Gingivitis leve: 1 participante (6.6%)

Salud Periodontal: 14 participantes (93.4%)

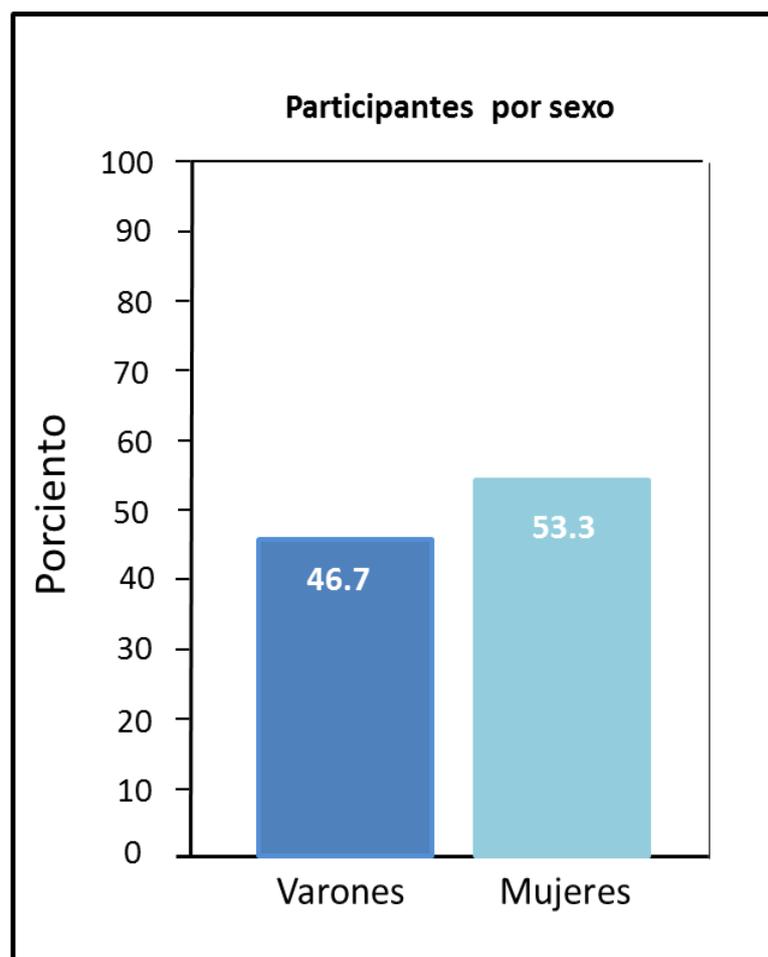


Figura 9: Edad (años) de las participantes

Nota: n=15, X= 20.73, SD=1.94, rango= 6, mediana= 21

En la primera semana de estudio 10 sujetos (66.6%) cumplieron el protocolo establecido, los otros 5 voluntarios no lo hicieron por diferentes motivos. En este grupo que empleó el agua destilada para la desinfección de los cepillos, el cultivo del hisopado de las cerdas de estos fue positivo en dos (20%) y los gérmenes identificados fueron *Streptococcus viridans* y *Moraxella catarrhalis*. El cultivo del líquido de enjuague de los cepillos de estos sujetos fue positivo en cuatro casos (40%) y los gérmenes identificados fueron: *Streptococcus viridans*, *Cladosporium spp*, *Moraxella catarrhalis* y *Stafilococcus aureus*. (Tabla 5)

Tabla 5: Contaminación de cepillos a la primera semana (agua destilada)

Siembra de hisopado de cerdas			Siembra del enjuague del cepillo	
Nº muestra	Contaminación	Bacteria	Contaminación	Bacteria
AMGO61112	Positivo	<i>Streptococcus viridans</i>	Positivo	<i>Streptococcus viridans</i>
ABA61112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
AXO51112	Negativo	Ausente	Positivo	<i>Cladosporium spp</i>
AMC61112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
ABM61112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
ADO51112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
APB61112	Positivo	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Positivo	<i>Moraxella catarrhalis</i>
AMJB61112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
ANC61112	Negativo	Ausente	Positivo	<i>Stafilococcus aureus</i>
AGB61112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente

Nota: *Streptococcus viridans* coco, gram positivo, anaerobio; *Stafilococcus aureus* coco, gram positivo, anaerobio facultativo; *Moraxella catarrhalis* coco, gram negativo, aerobia; *Cladosporium spp* moho ubicuo

En la segunda semana, 14 sujetos (93.3%) cumplieron el protocolo establecido. Este grupo empleo la clorhexidina para la desinfección de los cepillos luego de su uso, identificándose dos cultivos positivos (14.2%) en el hisopado de las cerdas de estos, los gérmenes encontrados fueron: *Escherichia coli* y *Moraxella catarrhalis*. En el líquido de lavado de los cepillos, tres cultivos (21.4%) fueron positivos, identificándose los siguientes gérmenes: *Aspergillus fumigatus*, *Escherichia coli* y *Moraxella catarrhalis*. (Tabla 6)

Tabla 6: Contaminación de cepillos a la segunda semana (Gluconato de Clorhexidina 0.12%)

Siembra de hisopado de cerdas			Siembra del enjuague del cepillo	
Nº Muestra	Contaminación	Bacteria	Contaminación	Bacteria
CMJB131112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CDO131112	Negativo	Ausente	Positivo	<i>Aspergillus fumigatus</i>
CXO131112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CNC121112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CGB131112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CMGO131112	Positivo	<i>Eschericha coli</i>	Positivo	<i>Eschericha Coli</i>
CBA131112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CGM131112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CNG131112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CPB131112	Positivo	<i>Moraxella catharrhalis</i>	Positivo	<i>Moraxella catharrhalis</i>
CCB131112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CLC141112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CMC141112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
CBM141112	Negativo	ausente	Negativo	Ausente

Nota: *Eschericha coli* enterobacteria, gram negativo, anaerobia facultativa; *Moraxella catharrhalis* coco, gram negativa, aerobia, *Aspergillus fumigatus* moho pigmentado.

La tercera semana en la que 15 sujetos (100%) cumplieron el protocolo y emplearon Listerine® para la desinfección de los cepillos, solo un cultivo (6.6%) fue positivo en el hisopado de las cerdas de los cepillos por ellos empleados, identificándose el *Stafilococcus aureus*, en tanto que en el líquido de lavado de estos cepillos el único cultivo positivo (6.6%) identificó también el *Stafilococcus aureus*. (Tabla 7)

Tabla 7. Contaminación de cepillos a la tercera semana (Listerine®)

Siembra de hisopado de cerdas			Siembra del enjuague de cepillo	
N muestra	Contaminación	Bacteria	Contaminación	Bacteria
LXO201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LDO201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LBA201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LLC201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LCB201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LNG201112	Positivo	<i>Stafilococcus aureus</i>	Positivo	<i>Stafilococcus aureus</i>
LNC191112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LCS201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LMGO201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LGB201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LMB201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LGM201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LMC201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LPB201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente
LMJB201112	Negativo	Ausente	Negativo	Ausente

Nota: *Stafilococcus aureus* coco, gram positivo, anaerobio facultativo

Los cultivos positivos identificados en el hisopado de las cerdas de todos los cepillos de los participantes ($n=39$) durante las cuatro semanas que duro el estudio fueron 5 (12.8 %), mientras que en el cultivo del líquido de enjuague de los cepillos se identificaron ocho (20.5%). Más aún los cultivos positivos con el mismo microorganismo coincidieron tanto en el cultivo del hisopado como el enjuague del cepillo en un 62.5 %. Por otro lado en un 37.5% los microorganismos encontrados por estos dos métodos no coincidieron. (Tabla 8 y Fig.10)

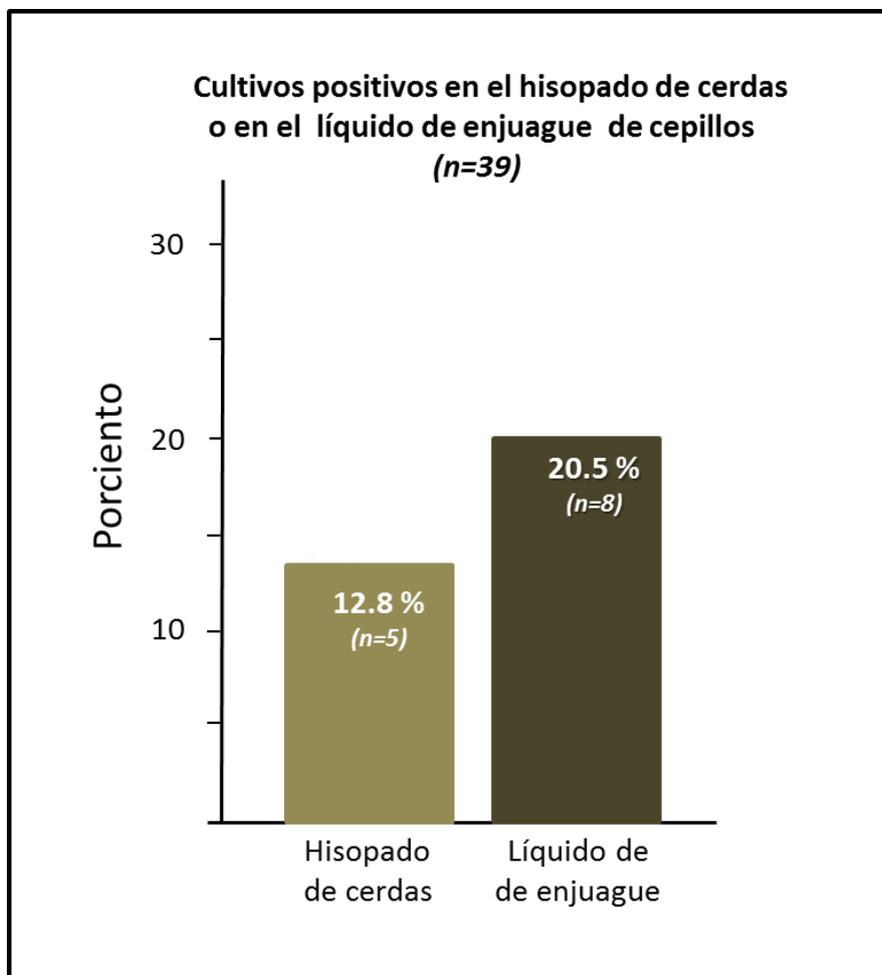


Figura 10: Cultivos positivos en el hisopado de cerdas o en el líquido de enjuague de cepillos

Tabla 8: Número y porcentaje de cepillos contaminados en el hisopado de cerdas o en el líquido de enjuague

Muestra	Número	Cultivos positivos	%
Hisopado de cerdas	39	5	12.8
Líquido de enjuague	39	8	20.5

Nota: $p = 0.545$ No es estadísticamente significativo

Tabla 9: Desinfectante, número y porcentaje de cepillos contaminados

Agente químico	Agua destilada	Clorhexidina	p
Nº y % de cepillos contaminados	6 (60%)	5(35.7%)	0.408
Agente químico	Agua destilada	Listerine	0.028
Nº y % de cepillos contaminados	6 (60%)	2(13.3%)	
Agente químico	Listerine	Clorhexidina	0.215
Nº y % de cepillos contaminados	2(13.3%)	5(35.7%)	

Nota: En cuanto a la comparación de la capacidad de desinfección, la única que es estadísticamente significativa es la encontrada entre el Listerine® y el agua destilada

$p = 0.028$

5.1 Fotografías de los cultivos positivos

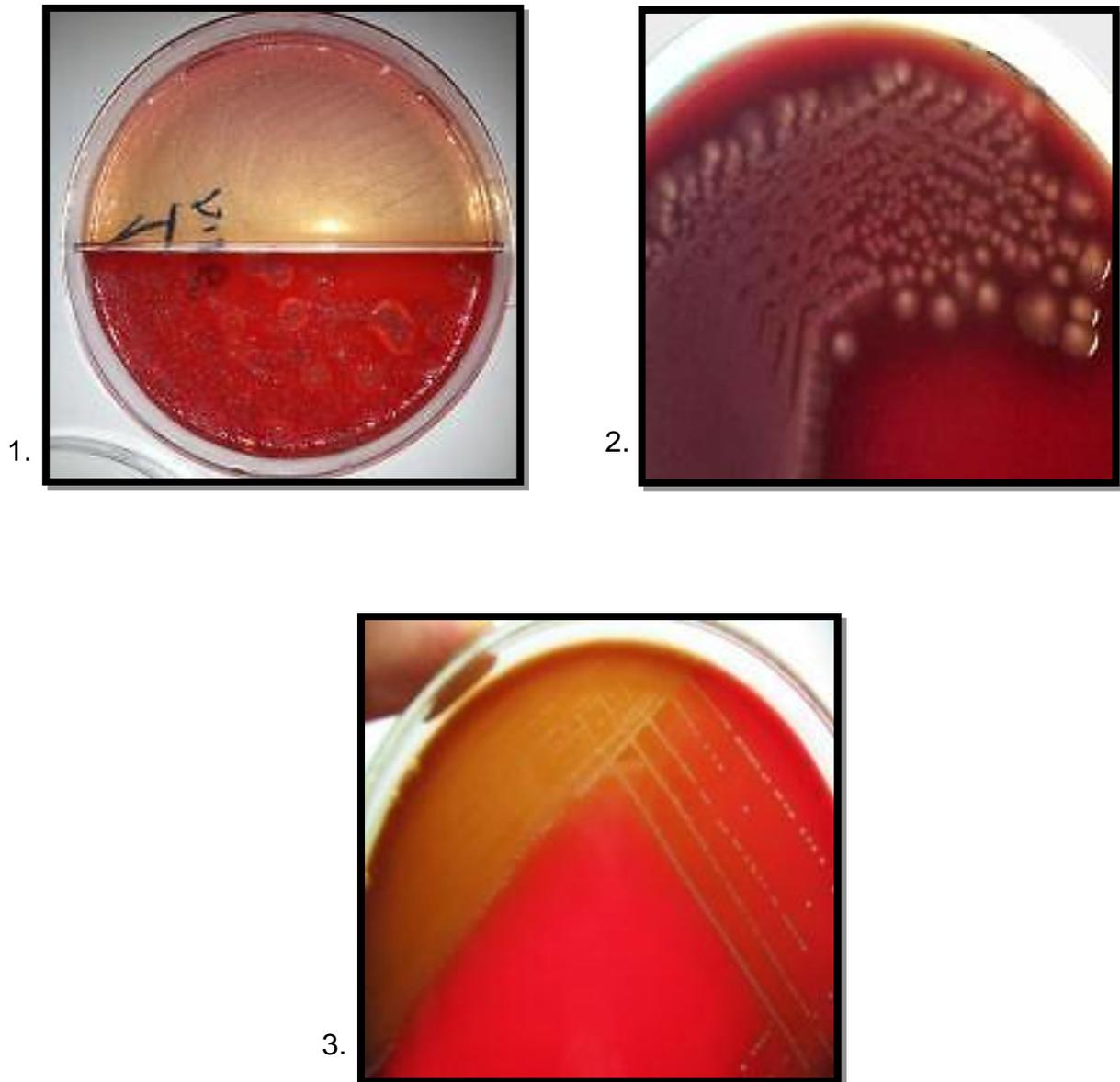


Figura 11: *Streptococcus viridans*

Nota: *Streptococcus viridans* en cultivos (1) Agar Sangre-Mc. Conkey, (2) Agar sangre, (3) Agar sangre.

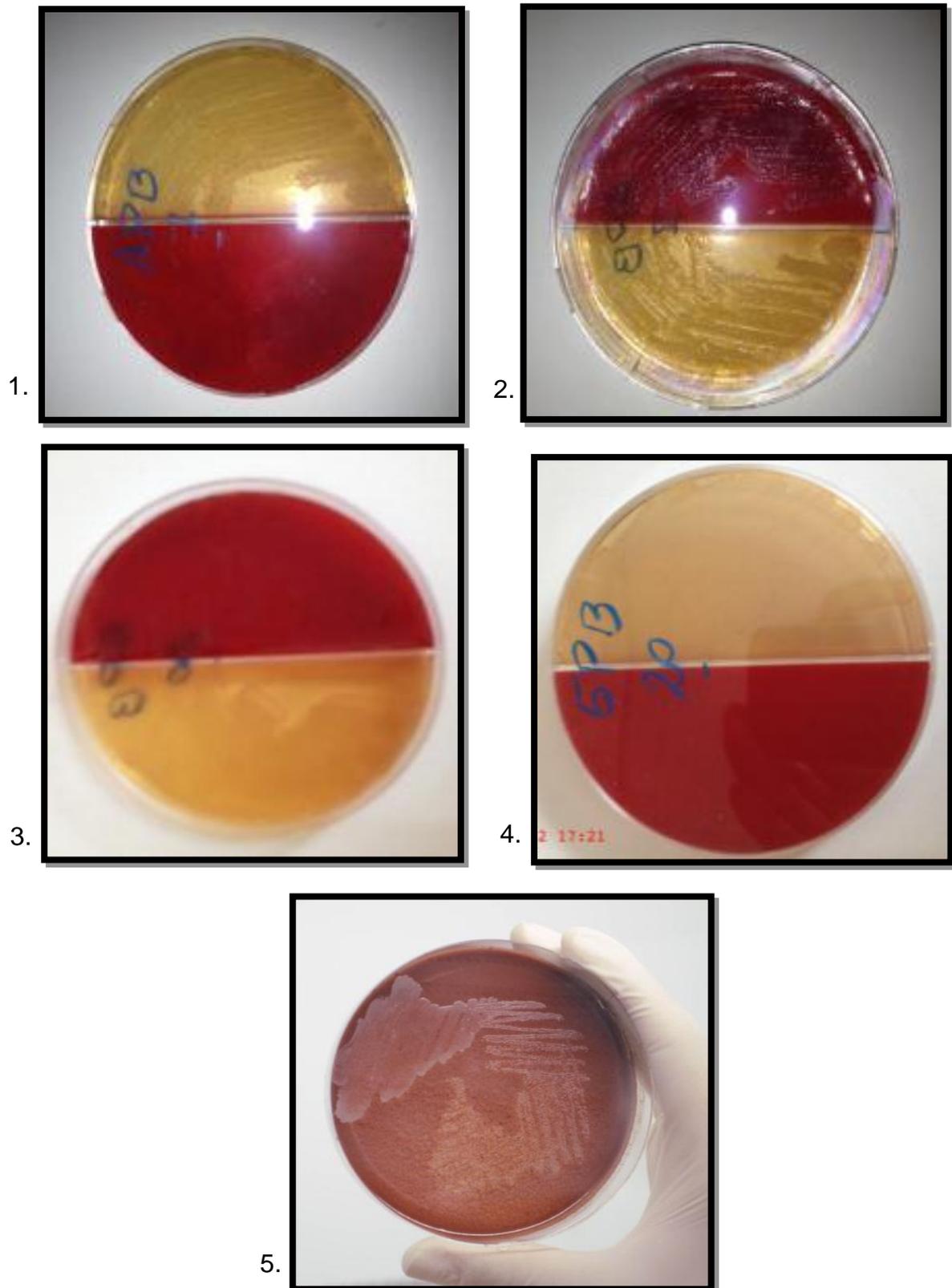


Figura 12: *Moraxella catarrhalis*

Nota: *Moraxella catarrhalis* en cultivos (1, 2, 3, 4) Agar sangre (5) Agar chocolate.

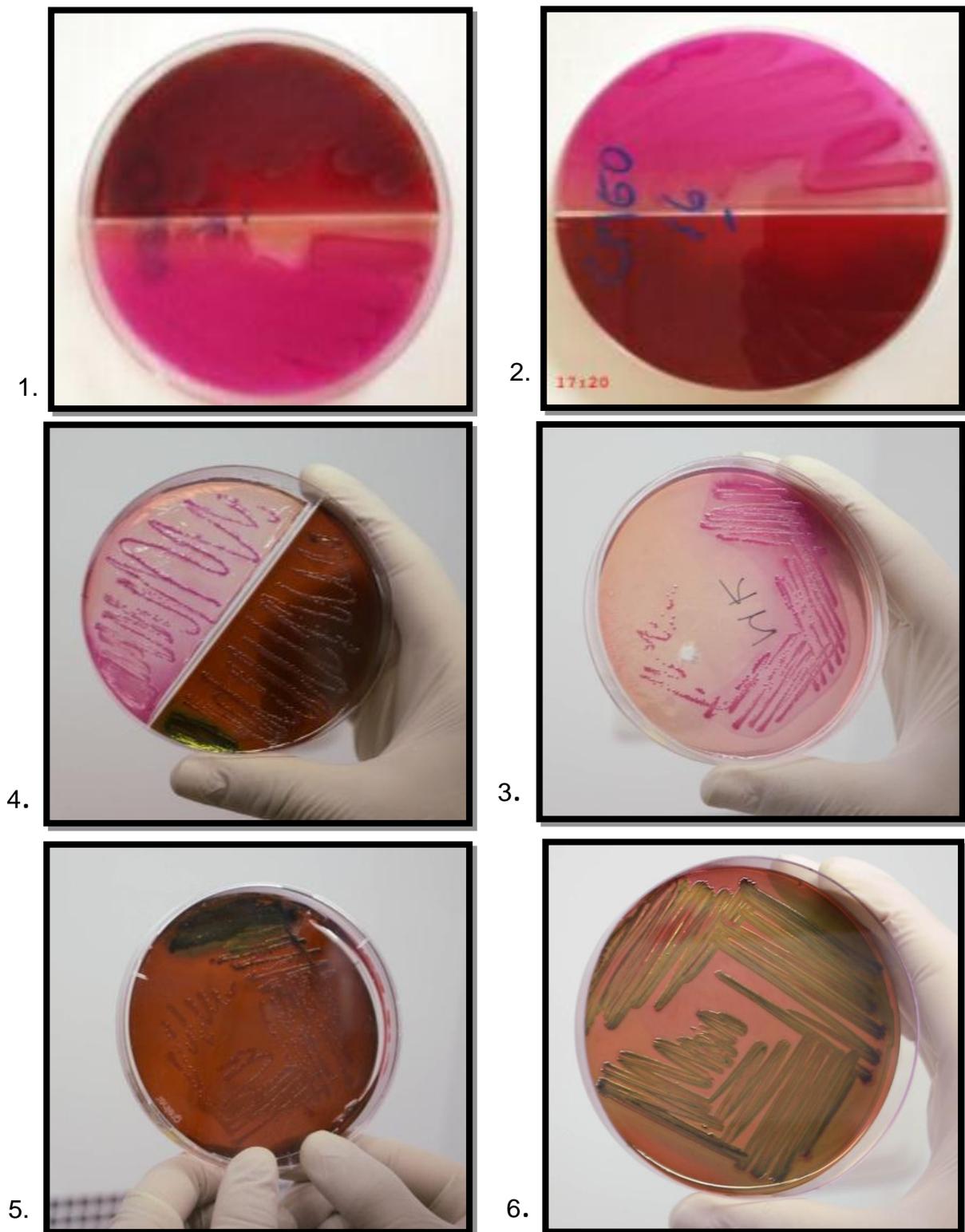


Figura 13: *Escherichia coli*

Nota: *Escherichia coli* en cultivos (1, 2) Agar sangre-Mc Conkey, (3) Agar Mc Conkey, (4) Agar Mc Conkey-chocolate, (5,6) Agar chocolate.

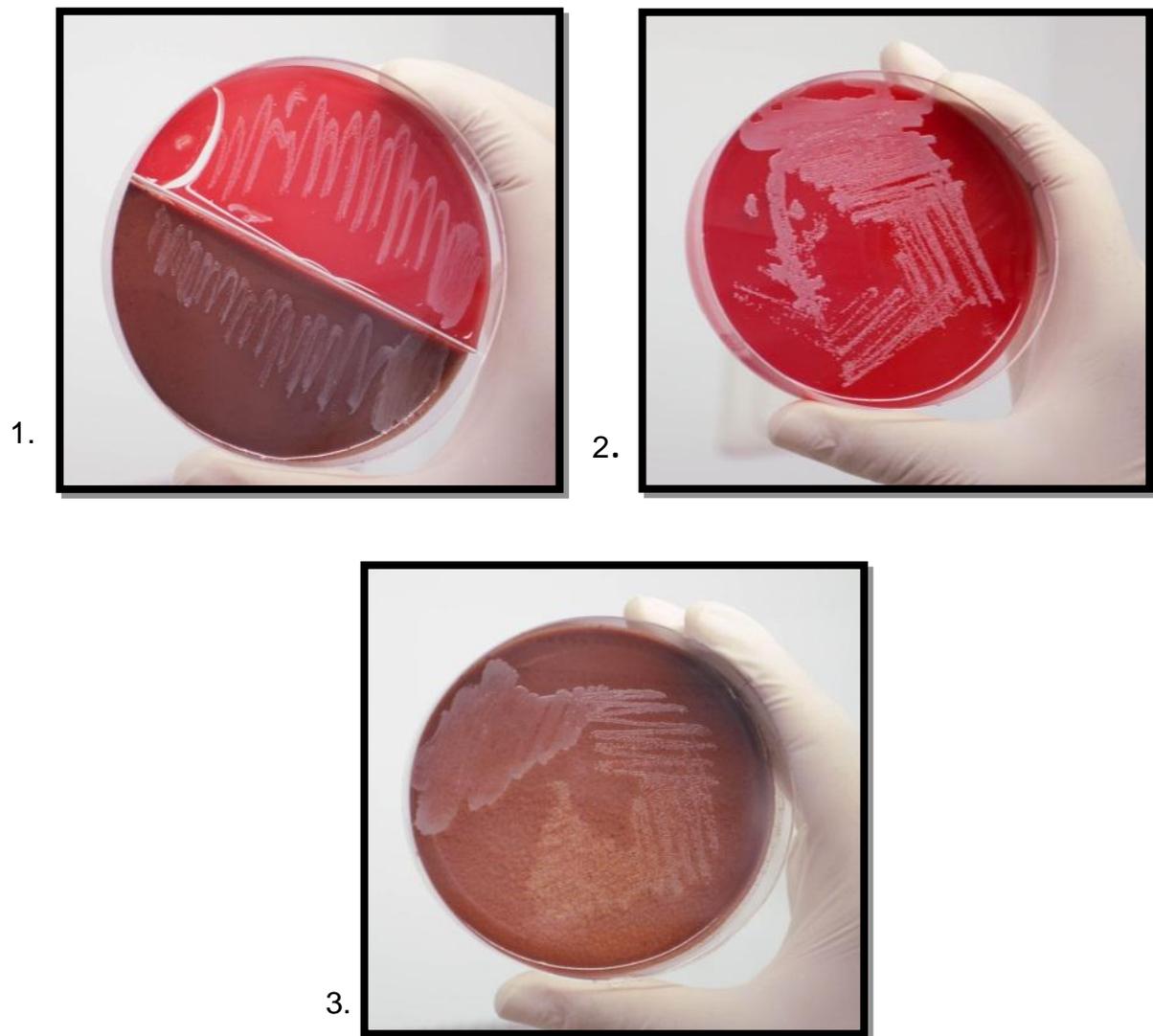


Figura 14: *Staphylococcus aureus*

Nota: *Staphylococcus aureus* en cultivos de (1) Agar sangre-chocolate, (2) Agar sangre, (3) Agar chocolate.



Figura 15: *Cladosporium* spp

Nota: *Cladosporium* spp en Agar Sabouraud

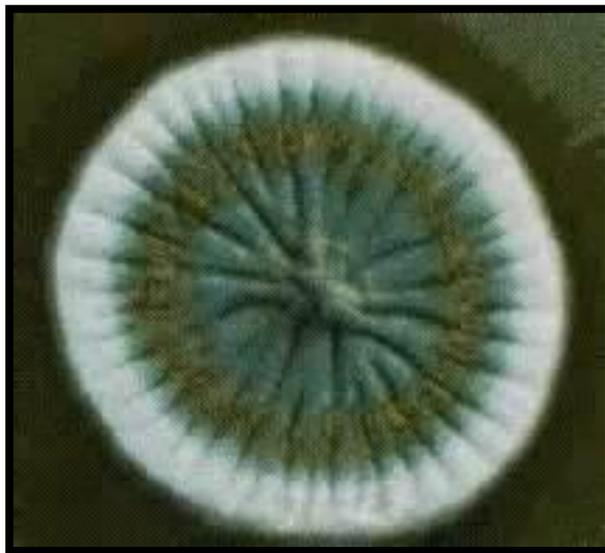


Figura 16: *Aspergillus fumigatus*

Nota: *Aspergillus fumigatus* en Agar Sabouraud

6 Discusión

Amplia y consistente es la bibliografía especializada que respalda los beneficios del cepillo de dientes en la higiene y salud bucal del humano. El uso sistemático, con la técnica apropiada de este instrumento ha demostrado un efecto positivo, eliminado no solo los restos de los alimentos luego de la deglución, y especialmente limitando la proliferación de la placa bacteriana, lo que permite prevenir problemas orales como la gingivitis y caries.

No obstante estos probados beneficios, varios estudios (Sato & Ito, 2004; Taji & Rogers, 1998; Caudry & otros, 1995; Frazelle & Munro, 2012) han demostrado que los cepillos dentales generalmente están contaminados por diversos gérmenes provenientes de la propia cavidad bucal e inclusive de su entorno durante su almacenamiento. El concepto de que los cepillos de dientes están contaminados después de su uso lo propuso Cobb en 1920 (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007). Esta contaminación, que puede ser tan temprana como las 24 h de iniciado su uso, implica la posibilidad de reinfección o el inicio de otras infecciones de la cavidad bucal, faringe, amígdalas o inclusive sistémicas, como neumonía, sepsis, osteomielitis, abscesos, etc., complicaciones que guardan un mayor riesgo en pacientes inmunocomprometidos (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007); pudiendo entonces el cepillo de dientes convertirse en un peligroso y potencial reservorio de microorganismos, no obstante de lo cual todavía es limitada la información y atención que se brinda a la desinfección de los cepillos de dientes luego de su uso.

Al igual que en otros estudios (Spolidorio & otros, 2011; Montero & al, 2012), en este, tanto en el hisopado de las cerdas de los cepillos utilizados durante una semana, como en el líquido del enjuague de los mismos, identificamos varios microorganismos. Los más frecuentes en orden de frecuencia fueron las bacterias: *Moraxella catarrhalis*, *Stafilococcus aureus*, *Echericha coli*, *Stafilococcus viridans*, y levaduras como *Cladosporium spp* y *Aspergillus fumigatus*, (Tabla 5). Las bacterias identificadas son anaerobias, gram positivas, excepto la *Moraxella catarrhalis* y *Eschericha coli* que son gram negativas y se han reconocido positivamente en la cavidad bucal en diversos estudios previos (Suma Sogi & otros, 2002).

Algunos de estos microorganismos como el *Streptococcus viridans* y el *Stafilococcus aureus* coinciden con los hallazgos de otros estudios (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007; Komiyama & otros, 2010) y no han sido identificados en otros (Sato & Ito, 2004), pero además en este estudio encontramos algunas bacterias comunes como la *Moraxella catarrhalis*, *Eschericha coli*, y hongos como el *Cladosporium spp* y *Aspergillum fumigatus*, estos dos últimos considerados como oportunistas y no habituales en la cavidad bucal del humano (Suma Sogi & otros, 2002; Malmberg & otros, 1994).

Determinamos en este estudio que el mayor número de cepillos contaminados se produce cuando su desinfección se efectúa con agua destilada, lo que no es sorprendente dado el nulo efecto bactericida de esta. La magnitud de la contaminación, empleando el agua para la desinfección bacteriana es similar a la encontrada en estudios similares (Sato & Ito, 2004) y es menor a lo informado en otros (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007). En este grupo fue en donde más gérmenes se reconocieron en los medios de cultivo y estos fueron: *Streptococcus viridans*,

Moraxella catarrhalis, *Stafilococcus aureus* y *Cladosporium SPP*. También al no ejercer el agua destilada ningún efecto bactericida, ratificamos la temprana contaminación por microorganismos que sufren estos instrumentos, la cual puede producirse desde las primeras horas de su empleo (Spolidorio & otros, 2011; Bhat, 2012). Y justamente con este propósito se utilizó el agua destilada sin esterilizar para simular las características del agua corriente del grifo.

El menor número de cultivos positivos, por tanto de contaminación de los cepillos de dientes, se produjo cuando se empleó el Listerine® como desinfectante. Este es un hallazgo trascendente ya que pese a que este agente no fue totalmente efectivo para la desinfección de los cepillos, su eficacia en este estudio es estadísticamente significativo al compararlo con el agua destilada ($p=0.028$). Al comparar su eficiencia de desinfección con la de la clorhexidina no se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.408$), a pesar de haber desinfectado a una mayor número de muestras. Estos hallazgos están de acuerdo con algunos reportes en los que este agente es superior a otros para la desinfección de los cepillos dentales (Caudry & otros, 1995). Tabla 11

Por su efecto bactericida y su peculiar mecanismo de acción el Gluconato de Clorhexidina se presentaba como la mejor opción para la desinfección de los cepillos dentales, (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007; Komiyama & otros, 2010; Suma Sogi & otros, 2002) demostrando inclusive en algunos reportes ser superior al Listerine® (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007), sin embargo en este estudio no se ratifica esta propiedad y aunque su eficacia antibacterial es significativamente superior al agua destilada ($p=0.408$), esta fue inferior a la del Listerine®. Se puede hipotetizar que la superioridad demostrada por el Listerine® como

desinfectante de los cepillos dentales en este estudio sobre la Clorhexidina, se debe a que empleamos la Clorhexidina en una concentración menor (0.12%) a la empleada en estudios previos (0.2%), concentración con la que ha demostrado una elevada efectividad (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007; Enrique de Roja & Fuenmayor, 2009).

Los hallazgos de esta investigación ratifican la efectividad del Listerine® y la clorhexidina para la desinfección de los cepillos dentales, esta sin ser total, es sustancialmente mayor que el agua destilada, no obstante destaca por sus resultados el Listerine®, que en este estudio, demuestra ser superior a la clorhexidina. Este hallazgo se lo puede atribuir a la concentración de sus componentes químicos y a la capacidad que tiene este agente químico de penetrar el biofilm. (Okud, Adachi, & Iijima, 1998).

Establecimos que porcentualmente existe una diferencia entre el número de cultivos positivos en el material del hisopado de las cerdas de los cepillos utilizados y el líquido de enjuague de estos (12.8% vs. 20.5%), siendo mayor en esta última, posiblemente porque durante el lavado del cepillo se arrastran y eliminan una mayor cantidad de gérmenes, sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p= 0.545$). Tabla 10

Finalmente es sugestivo que la desinfección de los cepillos dentales luego de su uso, debe realizarse por inmersión y no con la aplicación de agentes químicos por spray. Método que en este estudio lo empleamos por su sencillez, pero que comparativamente con estudios previos (Efstratiou, y otros, 2007; Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007; Frazelle & Munro, 2012; Spolidorio & otros, 2011) es inferior a la inmersión ya que posiblemente la cantidad de desinfectante que llega a las cerdas

y la cabeza del cepillo por el spray es menor y permanece por menor tiempo que durante la inmersión. También podría tomarse en cuenta una inapropiada aplicación del spray lo que causaría una disminución de la cantidad del químico para la desinfección.

7 Conclusiones

- La capacidad desinfectante que presentó el Listerine® en esta investigación mostró ser mayor a la de la clorhexidina sobre microorganismos encontrados en cepillos dentales, a pesar de que esta diferencia no fue estadísticamente significativa.
- Al comparar la capacidad desinfectante del agua destilada con el Gluconato de Clorhexidina, no hubo significancia estadística ($p=0.408$)
- Por otro lado, cuando se compara la capacidad desinfectante del agua destilada con el Listerine®, si se muestra una significancia estadística mostrando así la mayor capacidad del Listerine frente al agua ($p=0.028$).
- Los resultados de este estudio ratifican que desde etapas muy tempranas de su uso los cepillos dentales sufren contaminación, tanto así que tan solo con una semana de uso se pueden encontrar *Streptococcus viridans*, *Stafilococcus aureus* que son bacterias gram positivas; *Moraxella catarralis* que es gram negativa y *Cladosporium ssp* un hongo.
- Los objetivos planteados se cumplieron al demostrar estadísticamente que el Listerine® tiene mejor capacidad desinfectante para descontaminar los cepillos dentales usados por pacientes sanos.

8 Recomendaciones

- Se debe realizar más estudios sobre los cepillos dentales con mayor tiempo de exposición de estos al medio de contaminación y con diferentes métodos de descontaminación.
- Para futuros estudios se debe utilizar Gluconato de Clorhexidina al 2%, por su mayor capacidad de desinfección.
- Es menester de los odontólogos difundir que para una adecuada higiene bucal, está debe complementarse con la desinfección regular del cepillo para que este no se convierta en un instrumento contaminante. Además, el cambio del cepillo dental debe ser cada tres meses o antes, dependiendo del daño del cepillo y los hábitos que el paciente tenga.
- Tomando en cuenta la recomendación anterior en pacientes inmunocomprometidos es preciso que el cambio del cepillo sea más frecuente, más aún cada mes. Además es preciso que estos mantengan un régimen de desinfección de este instrumento.
- También es recomendable que los pacientes que hayan salido de una enfermedad infecciosa cambien su cepillo dental, ya que este suele estar contaminado con las bacterias causantes de la enfermedad.
- Se recomienda lavar muy bien el cepillo y dejarlo en un lugar con ventilación para que este se seque y evitar el desarrollo bacteriano, ya se según estudios si se lo cubre hay mayor posibilidad de desarrollo de *Pseudomona aeruginosa* (Mehta, Sequeira, & Bhat, 2007).

9 Bibliografía

Aas, J., & otros. (2005). Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721–5732.

Academic. (2010). *Clorhexidina*. Recuperado el 2012, de <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/273005>

ADA. (2007). Obtenido de A look to the toothbrushes: <http://jada.ada.org>

ADA. (Noviembre de 2005). *Statement on Toothbrush Care: Cleaning, Storage and Replacement*. Recuperado el 3 de Enero de 2012, de ADA: <http://www.ada.org/1887.aspx#top>

Ahmadiéh, A., & otros. (2010). Oral Microflora in Patients on Hemodialysis and Kidney Transplant Recipients. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 4(3), 227-31.

Alexander, D. (2012). Selecting the Right Toothbrush for Optimal patient care. *Compendium*, 33(7), 548-552.

Ankola, A., & Hebbal, M. a. (2009). How clean is the toothbrush that cleans your tooth? *Int J Dent Hygiene*, 7, 237-240.

Bhat, P. (2012). Effectiveness of Antimicrobial Solutions on Streptococcus mutans in used Toothbrushes. *World Journal of Dentistry*, 3(1), 6-10.

Biological Therapies in Dentistry. (Abril-Mayo de 2011). *Effects of Essential Oils on Bacteremia Reduction*. Recuperado el 13 de Diciembre de 2012, de Dentistry & Oral Sciences Source. EBSCO:

<http://web.ebscohost.com.ezbiblio.usfq.edu.ec/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=50ed0880-9d74-4213-acfb-74d86bb9ea48%40sessionmgr114&vid=14&hid=122>

Bitfocus. (2007). *Germ Terminator Toothbrush Sanitizer*. Recuperado el 4 de Enero de 2013, de Germ Terminator: <http://www.germterminator.com/>

Carranza, F. (2010). *Periodontología clínica*. Mexico: Mc Graw Hill.

Casals i Peidró, E. (27 de Octubre de 2010). *Guia de formación*. Recuperado el 22 de Diciembre de 2012, de Portalfarma: http://www.portalfarma.com/Profesionales/campanaspf/categorias/Documents/Mes_de_la_salud_bucal_II.pdf

Caudry, S., & otros. (1995). Contaminated toothbrushes and their disinfection. *Journal Candian Dental Association*, 61(6), 511-516.

Charles, C., McGuire, J., Sharma, N., & Qaqish, J. (Jul- Aug de 2011). Comparative efficacy of two daily use mouthrinses: randomized clinical trial using an experimental gingivitis model. *Braz Oral Res*, 25(4), 338-44.

Colgate. (2012). *Qué significa buena higiene oral*. Obtenido de Colgate Palmolive Company: <http://www.colgate.com.co/app/Colgate/CO/OralCare/OralHealthCenter/OralHygieneBasics/GoodOralHygiene.cvsp?Name=WhatisGoodOralHygiene?>

Daly, C., Marshall, R., & Lazarus, R. (2000). Australian dentists' views on toothbrush wear and renewal. *Australian Dental Journal* , 45(4), 254-256.

Daniel, S., & Harfst, S. (2004). *Dental hygiene concepts, cases and competencies*. USA: Mosbys.

Definiciones medicas. (2011). *Definición de Microorganismo Oportunista*. Recuperado el 5 de Enero de 2013, de Definiciones medicas: <http://www.definicionesdemedicina.com/microorganismo-oportunista/>

Donna, P., & otros. (2001). The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *JADA*, 132, 1241-1245.

EducaMadrid. (2002). *Medios de cultivo. Tipos, clasificación, enumeración, elaboración general y utilización de los mismos. técnicas de inoculación, incubación y recuento de la muestra biológicas*. Recuperado el 26 de Diciembre de 2012, de Educamadrid: <http://www.educa2.madrid.org/educamadrid/aviso-legal>

Efstratiou, M., Papaioannou, W., Nakou, M., Ktenas, E., Vrotsos, I., & Panis, V. (2007). Contamination of a toothbrush with antibacterial properties. *Journal of dentistry*, 35, 331-337.

Enrique de Roja, F., & Fuenmayor, V. (2009). *Manual de higiene bucal SEPA*. España: Panamericana.

Frazelle, M., & Munro, C. (2012). Frazelle, M. Toothbrush Contamination: A Review of the Literature. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-6.

Glass, R. (1992). The infected toothbrush, the infected denture, and transmission of disease: a review. *Compendium*, 13(7), 592-598.

- Gujari, S. K., & otros. (2011). Comparative evaluation of ultraviolet and microwave sanitization techniques for toothbrush decontamination. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 1(1), 20-26.
- Harris, N., & Garcia-Godoy, F. (2001). *Odontología preventiva primaria*. México: Manual Moderno.
- Higiene bucal paso a paso*. (15 de noviembre de 2011). Obtenido de Web consultal: Higiene bucal paso a paso". (<http://www.webconsultas.com/belleza-y-bienestar/higiene-bucal/higiene-bucal-paso-paso-2001>)
- Huang, R., Li1, M., & Gregory, R. (2011). Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence*, 2(5), 435-444.
- Jawetz, E., Melnick, J., Ornston, L., Alderberg, E., Brooks, G., Butel, J., & Ornston, N. (1996). *Microbiología Médica de de Jawetz, Melnick y Adelberg*. México: Manual Moderno.
- Komiyama, E., & otros. (2010). Evaluation of alternative methods for the disinfection of toothbrushes. *Braz Oral Res*, 24(1), 28-33.
- La importancia de una buena higiene bucodental*. (13 de Julio de 2011). Obtenido de El blog de la salud: www.blogsaludbucal.es/archive/2011/07/06/la-importancia-de-una-buena-higiene-bucodental.html
- Linde, L. (2009). *Periodontología clínica e implantología odontológica*. España: Pnamericana.
- Lindhe, J. (2009). *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Listerine antiseptic mouthwash for plaque and gingivitis. (Enero de 2001).

Recuperado el 13 de Diciembre de 2012, de Natural Standard:

<http://www.naturalstandard.com/news/news200101001.asp>

Listerine. (16 de Octubre de 2012). Recuperado el 13 de Diciembre de 2012, de

Listerine. Johnson & Johnson Inc: <http://www.listerine.ca/about-listerine>

Long, S., & Swenson, R. (1976). Determinants of the Developing Oral Flora in

Normal newborns. *Applied and Environmental Microbiology*, 32, 494-497.

Madigan, M., Martinko, J., & Parker, J. (2004). *Brok Biología De Los*

Microorganismos. Madrid: Pearson.

Malhotra, R. (2011). Comparison of the effectiveness of a commercially available

herbal mouthrinse with chlorhexidine gluconate at the clinical and patient

level. *J Indian Soc Periodontol*, 15(4), 349–352.

Malmberg, E., & otros. (1994). Microorganisms on toothbrushes at day-care centers.

Acta Odontologica Scandinavica, 52(2), 93-98.

Marchetti, E., Mummolo, S., Di Mattia, J., Casalena, F., Di Martino, S., Mattei, A., &

Marzo, G. (2011). Efficacy of essential oil mouthwash with and without

alcohol: a 3-Day plaque accumulation model. *Trials*, 12(262), 1-7.

Marsh, P., & Martin, M. (2011). *Microbiología Oral.* Venezuela: Amolca.

Martínez, I. (5 de Enero de 2012). *Neisserias y Moraxella catarrhalis.* Obtenido de

Microbiología y parasitología medica:

http://mvz.unipaz.edu.co/textos/biblioteca/microbiologia/microbiologia_y_parasitologia_medicas_-_tomo_i/microcap24.pdf

- Mayo Clinic Staff. (2 de Agosto de 2011). *Oral health: A window to your overall health*. Recuperado el 26 de Diciembre de 2012, de Mayo Clinic: <http://www.mayoclinic.com/health/dental/DE00001>
- Mehta, A., Sequeira, P., & Bhat, G. (2007). Bacterial Contamination and Decontamination of Toothbrushes after Use. *NYSDJ*, 20-22.
- Miller, R. (1999). *Tipos de bacterias que habitan en los cepillos de dientes*. Recuperado el 5 de Enero de 2013, de Salud: http://www.ehowenespanol.com/tipos-bacterias-habitan-cepillos-dientes-lista_97407/
- Montero, E., & al, e. (2012). The Effects of Proximity on Aerosol Distribution of Bacteria on Toothbrushes. *CDHA Journal*, 27(2), 17-21.
- Neal, P., & Rippin, J. (2003). The efficacy of a toothbrush disinfectant spray--an in vitro study. *Journal of Dentistry*, 31(2), 153.
- Negroni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. Argentina: Panamericana.
- Nelson, P. (2000). Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *American Academy of Pediatric Dentistry*, 22(5), 381-384.
- Okud, K., Adachi, M., & Iijima, K. (1998). The efficacy of antimicrobial mouth rinses in oral health care. *Bull Tokyo Dent Coll*, 39(1), 7-14.
- Pisterna, G., & Spoleti, P. (2003). Interacción infecto-inmunológica pulpar. *Electronic Journal of Endodontics Rosario*, 2, 1-6.

- Poveda, R., Jiménez, Y., Carbonell, E., Gavaldá, C., Margaix, M., & Sarrion, G. (2008). Bacteremia originating in the oral cavity. A review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 13(6), E355-62.
- Romero, M., Esquivel, J., Alvarado, F., Montes de Oca, C., & Rangel, M. (6 de Junio de 2012). *Microbiología*. Recuperado el 2012, de <http://realisaciondeanalisis.blogspot.com/>
- Ruppert, M., & Schlagenhauf, U. (2005). La clorhexidina en odontología. *Quintessenz*, 12-23.
- Sato, S., & Ito, I. y. (2004). Bacterial survival rate on toothbrushes and their decontamination with antimicrobial solutions. *J Appl Oral Sci*, 12(2), 99-103.
- Spolidorio, D., & otros. (2011). Evaluation of two alternative methods for disinfection of toothbrushes and tongue scrapers. *Int J Dent Hygiene*(9), 279-283.
- Suma Sogi, H., & otros. (2002). Contamination of toothbrush at different time intervals and effectiveness of varios desinfectin solutions in reducing the contamination of toothbrushes. *J Indian Soc Pedo Prev dent*, 20(3), 81-85.
- Supplies, S. (1995). *Parafilm® M and Dispenser*. Recuperado el 27 de Diciembre de 2012, de SPI Supplies: <http://www.2spi.com/catalog/supp/parafilm.php>
- Taji, S., & Rogers, A. (1998). The microbial contamination of tooth brushes. A pilot study. *The microbial contamination of tooth brushes. A pilot study*, 43(2), 128-30.
- Tasic, S., & Miladinovic, N. (2007). Cladosporium spp. Cause of opportunistic mycoses. *Acta FAC MED NAISS*, 24(1), 15-19.

Técnicas de cepillado. (s.f.). Recuperado el 19 de Octubre de 2012, de Chile Yellow:

<http://www.dentistasantiago.cl/como-cepillarse-los-dientes.html>

Warren, D., & otros. (2001). The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *JADA*(132), 1241-1245.

Wolf, H., & Hossell, T. (2009). *Atlas a color de periodontología.* Colombia: Amolca.

Zehnder, M. (2006). Root Canal Irrigants. *JOE*, 32(5), 389-398.

10 Anexos

10.1 Anexo 1: Carta de autorización del Comité de Bioética



Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito
El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
The Institutional Review Board of the USFQ

Quito, 13 de Noviembre de 2012

Doctora
María Elizabeth Aguirre Fernández
Estudiante de Odontología
UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO
Presente

De mi mejor consideración:

Por medio de la presente, el Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito se complace en informarle que su estudio "Estudio comparativo de agentes químicos utilizados para la desinfección de cepillos dentales" ha sido aprobado con fecha **13 de Noviembre de 2012**, en particular a lo que se refiere a:

- Protocolo de investigación,
- Consentimiento informado,
- Indicaciones para el uso correcto del cepillo dental,
- Periodontograma
- Carta de autorización de la Vice Decana de la Escuela de Odontología.

Esta aprobación tiene una duración de **un año (365 días)**, transcurrido el cual se deberá solicitar una extensión si fuere necesario. En toda correspondencia con el Comité de Bioética, favor referirse al siguiente código de aprobación: **2012-53T**.

El Comité estará dispuesto, a lo largo de la implementación del estudio, a responder cualquier inquietud que pudiere surgir tanto de los participantes como de los investigadores. Es importante recordar que el Comité debe ser informado de cualquier novedad, especialmente eventos adversos, dentro de las siguientes 24 horas. Asimismo, el Comité debe ser notificado de la fecha de término del proyecto.

El Comité de Bioética ha otorgado la presente aprobación en base a la información entregada por los solicitantes, quienes al presentarla asumen la veracidad, corrección y autoría de los documentos entregados. De igual forma, los solicitantes de la aprobación son los responsables de aplicarlos de manera correcta en la ejecución de la investigación, respetando los documentos y condiciones aprobadas por el Comité, así como la legislación vigente aplicable y los estándares nacionales e internacionales en la materia.

Atentamente,

William F. Waters, Ph.D.
Presidente del Comité de Bioética
Universidad San Francisco de Quito

Casilla Postal 17-12-841
Quito, Ecuador
comitebioetico@usfq.edu.ec
PBX (593-2) 297-1775



10.2 Anexo 2: Consentimiento informado



Código: 2012-53T

Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito
 El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
 The Institutional Review Board of the USFQ

Formulario Consentimiento Informado
Universidad San Francisco de Quito
Comité de Bioética

Título de la investigación: Estudio comparativo de agentes químicos utilizados para la desinfección de cepillos dentales

Versión y Fecha: 26 octubre 2012

Organización del investigador: Universidad San Francisco de Quito

Nombre del investigador principal y Co-investigadores: María Elizabeth Aguirre Fernández

Número telefónico y correo electrónico del investigador principal: 095836007,
 maria.aguirre.fernandez@estud.usfq.edu.ec/elizabeth.aguirre7@gmail.com

1. Introducción

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación sobre productos químicos utilizados para la desinfección de cepillos dentales.

Para participar debe usted tomarse el tiempo necesario para decidir si lo hará o no, conjuntamente con su familia y amigos. Este formulario incluye un resumen de la información que los investigadores analizarán con usted. Si usted decide participar en el estudio, recibirá una copia de este formulario. Le invitamos a compartir sus inquietudes sobre el estudio y a hacer todas las preguntas necesarias para que cualquier duda quede clara.

2. ¿Por qué se está realizando este estudio de investigación?

Los cepillos de dientes son importantes para mantener la higiene de la boca y dientes. Su utilización correcta permite el manejo de la placa dental y evita su acumulación. Sin embargo, investigaciones han demostrado que los cepillos de dientes pueden transmitir enfermedades, ya que su uso regular lo hace contaminarse.

Versión 1, de Octubre 26, 2012



1



Código: 2012-53T

Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito

El Comité de Revisión Institucional de la USFQ

The Institutional Review Board of the USFQ

Los cepillos de dientes acumulan micro-organismos de la boca, pero también pueden reintroducir gérmenes que producen enfermedades al ser almacenados. Por esto, se recomienda la desinfección de los mismos.

El objetivo de este estudio es evaluar la contaminación de los cepillos de dientes con microbios, y la eficacia de los productos para su desinfección.

3. ¿Hay algún beneficio por participar en el estudio?

Al conocer la existencia y cantidad de gérmenes en los cepillos de dientes, se podrá seleccionar los productos más adecuados y efectivos para evitar que éstos se contaminen. Esto prevendrá infecciones en la boca y de todo el organismo.

Además, al finalizar este estudio se podrá realizar recomendaciones sobre cómo mantener en buenas condiciones los cepillos de dientes.

Una ventaja importante para la sociedad es que este estudio es beneficioso en pacientes con enfermedades del corazón y de la sangre.

4. ¿Cuántas personas participarán en el estudio?

Participarán 15 personas de manera voluntaria que han sido elegidos luego de realizarse un examen clínico básico, donde se diagnosticará la posible presencia o no de enfermedad periodontal (de las encías).

5. ¿En qué consiste el estudio?

Los participantes con las características antes mencionadas, probarán tres aerosoles (o sprays) en los cepillos de dientes. Utilizarán un spray cada semana por 7 días, todos los participantes utilizaran el mismo spray, hasta completar la prueba de los tres sprays en 3 semanas.



Código: 2012-53T

Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito
 El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
 The Institutional Review Board of the USFQ

Al comienzo de cada semana todos los participantes recibirán un cepillo de dientes nuevo, de cerdas de nylon suave, un tubo de pasta de dientes y un spray con uno de los desinfectantes. Cada semana se cambiarán los cepillos y los sprays, hasta haber probado los tres desinfectantes.

Después de utilizar los cepillos de dientes, se los enjuagará con agua corriente del grifo, y se utilizará el spray seis veces sobre el cepillo, eliminando el exceso agitando el cepillo y dejándolo parado (en un vaso que no toque el cepillo) hasta su siguiente uso.

Al final de una semana los cepillos serán recogidos y llevados al laboratorio de microbiología para su análisis.

6. ¿Cuánto tiempo durará mi participación en el estudio?

El estudio durará 3 semanas, 1 semana para la prueba de cada desinfectante.

7. ¿Cuáles son los riesgos de participar en este estudio?

El riesgo para usted al participar en este estudio es sentir una ligera incomodidad durante los minutos que dure la revisión de su boca. También pudiera sentirse incómodo al tener que recordar desinfectar los cepillos de dientes entregados, por tres semanas consecutivas y siguiendo las indicaciones que se le darán.

8. ¿La información o muestras que doy son confidenciales?

Los resultados solo serán utilizados para este estudio. La información o muestra tendrá un código para proteger su privacidad. Su nombre no será mencionado en las publicaciones o reportes de la investigación.

El Comité de Bioética podrá tener acceso a los expedientes en caso de necesidad por problemas de seguridad o ética en el estudio.

9. ¿Qué otras opciones tengo?

Usted puede decidir NO participar

10. ¿Cuáles son los costos del estudio de investigación?

Versión 1, de Octubre 26, 2012





Código: 2012-53T

Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito
 El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
 The Institutional Review Board of the USFQ

Este estudio estará completamente autofinanciado por el autor de la investigación, por lo tanto usted no tendrá que correr con ningún gasto

11. ¿Me pagarán por participar en el estudio?

Usted no recibirá ningún pago por participar en este estudio, pero al final de este usted obtendrá recomendaciones de como mantener limpio y desinfectado su cepillo dental.

12. ¿Cuáles son mis derechos como participante de este estudio?

Su participación en este estudio es voluntaria, es decir, usted puede decidir NO participar. Si usted decide participar, puede retirarse del estudio en cualquier momento. Para hacerlo debe ponerse en contacto con los investigadores mencionados en este formulario de consentimiento informado. No habrá sanciones ni pérdida de beneficios si usted decide no participar, o decide retirarse del estudio antes de su conclusión.

13. ¿A quién debo llamar si tengo preguntas o problemas?

Si usted tiene alguna pregunta acerca del estudio, llame o envíe un mensaje de correo electrónico a:

María Elizabeth Aguirre F.

Telf: 095836007

E-mail: maria.aguirre.fernandez@estud.edu.ec/elizabeth.aguirre7@gmail.com

Si usted tiene preguntas sobre este formulario también puede contactar a Dr. William F. Waters, Presidente del Comité de Bioética de la USFQ, al teléfono 02-297-1775 o por correo electrónico a: comitebioetica@usfq.edu.ec

14. El consentimiento informado:

Comprendo mi participación y los riesgos y beneficios de participar en este estudio de investigación. He tenido el tiempo suficiente para revisarlo y el lenguaje del consentimiento fue claro y comprensible. Todas mis preguntas como participante fueron contestadas. Me han entregado una copia de este

Versión 1, de Octubre 26, 2012



Código: 2012-53T

Comité de Bioética, Universidad San Francisco de Quito

El Comité de Revisión Institucional de la USFQ

The Institutional Review Board of the USFQ

formulario de consentimiento informado. Acepto voluntariamente participar en este estudio de investigación.

Firma del participante o representante legal

Fecha

Nombre del investigador que obtiene el consentimiento

Firma del investigador

Fecha

Firma del testigo (*si aplica*)

Fecha

Versión 1, de Octubre 26, 2012



10.4 Anexo 4: Indicaciones para el uso correcto del cepillo dental

INDICACIONES

1. Todos los sujetos deberán usar la técnica de cepillado de Bass modificada. Además tendrán que realizarlo 3 veces al día, durante una semana
2. Después de la utilización, el cepillo de dientes se enjuagaran con agua corriente del grifo para retirar cualquier residuo
3. Luego deben rociar la solución entregada sobre el cepillo seis veces, eliminado el exceso agitando el cepillo y se los dejara parados hasta su siguiente uso. Cualquier exceso de solución que pudiese haber quedado en el cepillo deberá ser enjuagado con agua antes del uso.
4. Los cepillos serán recolectados al cabo de una semana en la Clínica Odontológica de la USFQ.



TECNICA DE BASS: consiste en colocar el cepillo en ángulo de 45 grados contra la unión del diente con la encía, luego se realiza un movimiento horizontal para remover la placa bacteriana y para las caras internas se cepilla verticalmente. La superficie de masticación de los molares y premolares se cepilla por medio de movimientos de frotamiento hacia adelante y atrás.



Documento realizado por
Elizabeth Aguirre F.
Estudiante
Universidad San Francisco de Quito
Telf. 0995836007



10.5 Anexo 5: Carta de autorización de la Vicedecana de la Escuela de Odontología

Aguirre 1

Cumbaya

25 de octubre 2012

Dra. Paulina Aliaga
Vice Decana Escuela de Odontología
Universidad San Francisco de Quito

De mis consideraciones:

Por medio de la presente solicito autorización para la realización, bajo las instalaciones de la Clínica Odontológica, de mi tesis, que se tratara de un "Estudio comparativo de agentes químicos utilizados para la desinfección de cepillos dentales". En el estudio participaran 15 sujetos voluntarios de la Facultad de Odontología de la Universidad San Francisco de Quito y tendrá una duración de 3 semanas.

De antemano agradezco su atención.

Atentamente,

Elizabeth Aguirre F.
María Elizabeth Aguirre Fernández
22579



10.6 Anexo 7: Certificado Laboratorio Universidad Central del Ecuador



CERTIFICADO

El suscrito **Licenciado en Laboratorio Clínico e Histotecnológico del Hospital del Día de la Universidad Central del Ecuador.-** Certifica que la señorita María Elizabeth Aguirre Fernández, realizó en conjunto con este profesional, las pruebas diagnósticas bacteriológicas para el estudio señalado en su tesis. Corroboro y garantizo los resultados obtenidos en dicho estudio realizado con las normas de calidad establecidas por protocolos internacionales.

La mencionada señorita puede hacer uso de este documento como crea conveniente a sus intereses.

Quito, 08 de enero de 2013

**Lic. T.M. Roberto Rodríguez Quirola
HOSPITAL DEL DÍA
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**