



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN CEPILLOS  
DENTALES, UTILIZADOS POR PACIENTES QUE  
ACUDEN A LAS CLÍNICAS DE LA FACULTAD DE  
ODONTOLOGÍA, UNAM 2013.

**TESINA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**CIRUJANA DENTISTA**

P R E S E N T A:

SHOSHANA BASHKOZ PIÑA

TUTORA: C.D. MARÍA CONCEPCIÓN RAMÍREZ SOBERÓN

ASESORA: C.D. MARTHA CONCEPCIÓN CHIMAL SÁNCHEZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



## AGRADECIMIENTOS

*A mi Alma Mater, la Universidad Nacional Autónoma de México porque con su grandeza y legado académico me inspiró a alcanzar una de mis metas y contribuir al desarrollo académico y social de mi entorno.*

*A la Facultad de Odontología por sembrar en mi los conocimientos y aptitudes para esta profesión que elegí seguir, por otorgarme un entorno donde la grandeza académica y su liderazgo a nivel nacional, fueron herramientas fundamentales que me impulsarán a desarrollar plenamente mi profesión, además agradezco por las facilidades otorgadas en el Laboratorio de Microbiología.*

*A mi Tutora la C.D. María Concepción Ramírez Soberón, por el tiempo y dedicación que me brindó en el desarrollo del presente estudio y por su orientación y apoyo que me otorgó a lo largo de mis estudios. Igualmente le extiendo un profundo agradecimiento porque con su ayuda, sostén moral y comprensión me alentaron a lograr esta hermosa realidad, haciendo que este triunfo también sea suyo, ya que el presente trabajo simboliza mi gratitud por toda la invaluable ayuda, cariño y apoyo que me proporcionó. Sabiendo que jamás encontraré la forma de agradecer su constante apoyo y confianza, sólo espero que comprenda que mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos e inspirados por usted.*

*A mi asesora la C.D. Martha Concepción Chimal Sánchez, por su valioso apoyo y dedicación, así como por sus consejos y conocimientos aportados para lograr que el presente estudio llegara a buen término, además de que gracias a sus enseñanzas en el campo de la microbiología fueron determinantes para lograr esta meta académica. Doctora, gracias por el cariño y apoyo moral que siempre he recibido de usted y con el cual he logrado culminar mi esfuerzo, terminando así mi carrera profesional, y finalmente gracias por siempre proporcionarme un espacio dentro de sus actividades.*

*A la Mtra. Arcelia Felicitas Meléndez Ocampo, le extiendo mi más sincero agradecimiento por haberme abierto las puertas del Seminario de Epidemiología y Salud Pública cuando más lo necesite, así como por sus consejos y comprensión que me brindó a lo largo del desarrollo del presente trabajo. Gracias por que con usted comprendí que el hombre se descubre a sí mismo cuando se enfrenta a los obstáculos.*



*Al Biólogo José Daniel Córdova Cárdenas por impulsar la formación profesional de aquellos que como yo, acudimos a las instalaciones del laboratorio de microbiología, pues su experiencia y orientación fueron indispensables para llevar a cabo los procedimientos necesarios en este trabajo, y que estos se realizaran dentro de los estándares de seguridad requeridos.*

*A mi mamá.*

*Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, por enseñarme que la adversidad es factor de motivación, por su ejemplo de lucha y tenacidad, por darme las herramientas necesarias para salir adelante y que siempre has estado a mi lado pero más que nada, por su amor incondicional. Sin duda este logro es tuyo también.*

*A mi papá.*

*Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre para salir adelante, porque desde niña me has enseñado a ser una persona de bien, y aunque nuestras distancias sean largas siempre estas en mi corazón. Gracias por tu amor.*



## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	5
2. ANTECEDENTES .....	6
2.1 MARCO TEÓRICO .....	8
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	38
4. JUSTIFICACIÓN .....	39
5. OBJETIVOS .....	40
5.1 OBJETIVO GENERAL .....	40
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	40
6. METODOLOGÍA .....	41
6.1 MATERIAL Y MÉTODO .....	41
6.2 TIPO DE ESTUDIO .....	54
6.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	54
6.4 VARIABLE .....	55
6.5 RECURSOS .....	55
6.5.1 Humanos .....	55
6.5.2 Materiales .....	55
6.5.3 Financieros .....	55
7. RESULTADOS .....	56
8. CONCLUSIONES .....	61
9. BIBLIOGRAFÍA .....	63
10. ANEXOS .....	66



## 1. INTRODUCCIÓN

Alrededor del 95% de las pérdidas dentales en los seres humanos tienen origen en la Caries dental y la Periodontitis. Diversas especies patogénicas orales han sido implicadas como factores etiológicos, indicadores o agravantes de la caries dental y los diversos tipos de enfermedad periodontal. Es posible que algunas áreas previamente tratadas contra caries dental y periodontitis se reinfecten (transmisión intraoral/traslocación) en un mismo individuo o que las parejas se infecten por besos y contacto íntimo y finalmente que los padres infecten a sus hijos con organismos patogénicos. Otros estudio han evidenciado también la transmisión de especies cariogénicas y periodontopáticas a través de instrumentos dentales o vía elementos usados en la higiene oral diaria como son el hilo dental, los enjuagues bucales y los cepillos dentales.



## 2. ANTECEDENTES

Se ha encontrado que los cepillos dentales desde su primer uso y exposición al medio ambiente, se convierten en elementos contaminados, albergando gran cantidad de microorganismos propios de la cavidad bucal y también del entorno en el que son guardados.<sup>1</sup>

Existe evidencia científica que la transmisión de microorganismos de la boca puede ocurrir a través de la saliva. La translocación de especies cariogénicas y periodontopatógenas puede ser producida por el uso de instrumentos dentales, así como instrumentos de higiene oral.

El uso prolongado del cepillo, el incremento de microorganismos en el cepillo, y una recontaminación oral con microorganismo puede causar infecciones orales como la caries, gingivitis y estomatitis.

Estos microorganismos pueden transferirse de diversas fuentes tales como el aerosol emanado del inodoro, de los dedos de la persona, de los sitios húmedos del cuarto de baño y en general del medio ambiente.

Glass y Lare sugirieron que la contaminación del cepillo dental juega un rol importante como puerta de entrada de una enfermedad sistémica, ya que debido al uso de una inapropiada técnica de cepillado, el usuario puede lacerar la encía favoreciendo la introducción de microorganismos al torrente sanguíneo provenientes de la flora presente en el cepillo.<sup>2</sup>

La contaminación de los cepillos dentales por organismos periodontopáticos y bacilos entéricos puede ocurrir en pacientes con enfermedades periodontales y de esta manera generar una continua reinfección a los tejidos periodontales.<sup>3</sup>



Algunos investigadores indican una relación entre microorganismos encontrados en los cepillos dentales y la presencia de enfermedades de tipo respiratorias. Han observado reducción de síntomas y una mejoría tan sólo con cambiar el cepillo dental; por ello sugieren investigar sobre métodos para desinfectar los cepillos, como una medida preventiva importante.

Actualmente, existen estudios sobre la utilización de soluciones antimicrobianas en spray, que se rocían sobre las cerdas de los cepillos dentales, reduciendo significativamente el crecimiento de los microorganismos propios de la cavidad bucal; sin embargo, no se mencionan los efectos sobre los microorganismos adquiridos del medio ambiente (bacterias oportunistas) donde los cepillos son almacenados. No obstante el mismo estudio hace referencia a que el digluconato de clorhexidina es un antiséptico tópico potente con muy poca posibilidad de absorción; con acción sobre bacterias Gram positiva y Gram negativas.

Nelson Filho señala que el uso de un enjuague a base de gluconato de clorhexidina al 0.12% después del cepillado dental es beneficioso en la reducción de Enterobacterias al 60%, mientras que la misma sustancia usada al 0.5% fue efectiva en un 75%.<sup>1</sup>

Es por ello que estos instrumentos de higiene dental pueden contribuir en la transmisión de microorganismos que causen infecciones.



## 2.1 MARCO TEÓRICO

### 2.1.1 CEPILLOS DENTALES

El cepillo de dientes es el dispositivo de higiene bucodental utilizado con mayor frecuencia y más difundido en el mundo. Independientemente de su diseño, la función del cepillo es simple: disgregar la placa por acción mecánica de las cerdas y barrerla de la superficie.

La eficacia de la limpieza de un cepillo depende del tiempo de cepillado y mejora significativamente utilizando pasta dental.

Abraham y cols. en 1990 y Daly y cols. en el 2000, concluyeron que los registros de profesionales dentales, periodoncistas e higienistas dentales recomiendan a la mayoría de sus pacientes que reemplacen su cepillo dental cada 2 o 3 meses.<sup>4</sup>

### 2.1.2 HISTORIA DEL CEPILLO DENTAL

Los cepillos dentales han evolucionado a lo largo de la historia, desde los antiguos “palos para masticar” de los egipcios hasta el día de hoy donde se pueden encontrar novedosos y sofisticados cepillos eléctricos.<sup>5</sup>

El crédito de inventar el cepillo dental moderno se atribuye a los chinos durante la dinastía Tang (618-907 d.C.), utilizando cerdas comprimidas en un mango. En 1780, en Inglaterra, William Addis fabricó lo que se denominó “el primer cepillo dental moderno”. Este instrumento tenía un mango de hueso y hoyos para la colocación de las cerdas naturales de porcinos, las cuales se conservaban en su sitio amarradas con un alambre. A principios de siglo XX el celuloide empezó a sustituir al mango de hueso, un cambio interrumpido por la Primera Guerra Mundial debido a la escasez en los suministros de hueso y cerdas porcinas. Durante la Segunda Guerra



Mundial, como resultado del bloqueo de cerdas de porcos de gran calidad procedentes de China y Rusia, se utilizaron cerdas de nylon.<sup>4</sup>

La introducción de las cerdas de nylon y los mangos de plástico en 1938 en Estados Unidos, terminaron por revolucionar la tecnología de los cepillos dentales, incorporándose algunas ventajas al producto como la homogeneidad y elasticidad, la modificación en las propiedades de las cerdas, el incremento en la repulsión del agua y la menor susceptibilidad a la contaminación por microorganismos.

En 1939 se desarrolló en Suiza el primer cepillo dental, pero el avance tecnológico tuvo lugar en 1961, cuando la Squibb Company presentó el primer cepillo dental eléctrico, con el nombre de Broxodent. Tenía la acción limpiadora de arriba abajo, y fue recomendada por la American Dental Association (ADA).<sup>6</sup>

### 2.1.3 DISEÑO DEL CEPILLO DENTAL MANUAL

Los cepillos dentales manuales varían en tamaño, forma, textura y diseño. Un cepillo dental manual consta de una cabeza con cerdas y un mango. Al conjunto de cerdas se le conoce como penachos. La cabeza se divide arbitrariamente en punta, que corresponde al extremo de la cabeza, y talón, que es la parte más cercana al mango. Entre el mango y la cabeza, por lo general se presenta una constricción denominada astil. Muchos cepillos dentales se fabrican en tamaños diferentes: grande, mediano y chico (o compacto), para mejor adaptación a la anatomía oral de las diferentes personas. Los cepillos dentales también difieren en dureza o textura y comúnmente se clasifican como duros, medianos, blandos o extra blandos.<sup>4</sup>



#### 2.1.4 Características de los cepillos dentales.

Las cerdas de los cepillos dentales pueden ser naturales (pelos de cerdo o de jabalí) o sintéticas (nylon). En la actualidad es recomendado utilizar cepillos de cerdas sintéticas y con un grado de dureza medio o blando.

Hoy en día existe una gran diversidad de cepillos y se debe utilizar siempre el que más se adapte a las diferentes necesidades:

- Cepillo convencional: con 3 o 4 tiras de cerdas, es el que se utiliza normalmente.
- Cepillo periodontal: también llamado sulcular o crevicular, tiene dos tiras de cerdas. Se utiliza en casos de inflamación gingival y surcos periodontales profundos. También es recomendable en niños con ortodoncia fija.
- Cepillo eléctrico: Posee 3 tipos de movimiento horizontal, alternado, vertical arqueado o vibratorio. Pueden ser especialmente útiles en personas disminuidas física o mentalmente, debido a la simplicidad de la operación por el paciente o por quien le ayude.
- Cepillos interproximales: son un penacho para los espacios interdentales.<sup>7</sup>

Los objetivos del cepillo dental son:

- 1) Retirar la placa e interrumpir la reformación de esta.
- 2) Limpiar los dientes de alimento, detritos y tinciones.
- 3) Estimular los tejidos gingivales.



4) Aplicar el dentífrico con ingredientes específicos dirigidos a la caries, enfermedad periodontal o sensibilidad.<sup>4</sup>

### 2.1.5 TÉCNICAS DE CEPILLADO

Los métodos de cepillado más naturales empleados por los pacientes corresponden a una técnica de restregado horizontal (técnica de Fones), a un movimiento rotatorio o a un sencillo movimiento de arriba hacia abajo sobre los dientes maxilares y mandibulares (técnica de Leonard).

El método de Stillman fue desarrollado originalmente para proporcionar estimulación gingival. El cepillo dental se coloca en una posición inclinada de 45° respecto al vértice dental, colocando parte del cepillo sobre la encía y parte sobre el diente. Se utiliza un movimiento vibratorio con presión ligera para estimular la encía. El cepillo se levanta y enseguida se coloca en la misma parte, y se repite el movimiento de impulsos (ver imagen 1).



Imagen 1. Método de Stillman<sup>8</sup>

Charters propone una técnica vibratoria con presión para limpiar las partes interproximales. El cepillo dental debe colocarse en un ángulo de 90° en



dirección al eje largo de los dientes, de manera que las cerdas se fuercen suavemente entre los dientes, pero no reposen sobre las encías. Asimismo, se realizan movimientos rotatorios pequeños, de tal modo que los lados de las cerdas entren en contacto con el borde gingival. El cepillo se retira después de 2 o 3 movimientos, para colocarse en el mismo lugar y repetir el procedimiento.

Es importante la técnica de Bass por ser la primera en centrarse en el retiro de la placa y los detritos presentes en el surco gingival mediante la utilización combinada de un cepillo dental blando y del hilo dental. En la técnica de Bass, el cepillo dental se coloca sobre el surco gingival a un ángulo de 45° respecto al vértice dental. En seguida, las cerdas se presionan suavemente para que entren en el surco. Una acción vibratoria de atrás hacia adelante produce un impulso de las cerdas para limpiar el surco.<sup>4</sup>

### **2.1.6 Reemplazo del cepillo dental.**

El desgaste del cepillo dental (cerdas abiertas, dobladas o rotas) está más influenciado por los métodos de cepillado, que por el tiempo o número de cepilladas por día (ver imagen 2). La “vida” promedio de un cepillo dental manual es aproximadamente de tres meses. Sin embargo este promedio puede variar en gran medida debido a las diferencias en los hábitos de cepillado. Es un buen consejo para los pacientes contar con varios cepillos dentales y alternar su uso diario, para asegurar el cesado entre cepilladas. Si los cepillos dentales necesitan ser reemplazados con una frecuencia mayor de 3 meses, la técnica de cepillado del paciente debe ser evaluada. Aún si la técnica de cepillado es aceptable o ha sido corregida, los cepillos dentales deben ser reemplazados de forma frecuente. De hecho, después de cada



enfermedad médica contagiosa u oral, es imperativo que los pacientes sean advertidos de la importancia de adquirir un nuevo cepillo dental<sup>4</sup>



Imagen 2. Cepillo dental con cerdas desgastadas. Fuente directa.



## 2.2 MICROBIOTA NORMAL

El medio donde vivimos es un ambiente poblado de microorganismos. El hombre nace sano y a lo largo de toda su vida alojará miles de especies de bacterias, en menor número, a otros seres vivos (hongos, virus protozoos) en diferentes sitios de su organismo. De este modo la interacción hombre-microorganismo es permanente, y dicha interacción puede resultar indiferente, beneficiosa o perjudicial.

La flora humana normal es el conjunto de microorganismos que conviven en el huésped en estado normal sin causarle enfermedad. También se denomina flora indígena, autóctona o nativa del hombre.<sup>9</sup>

La microflora indígena no es estable a lo largo de la vida como consecuencia del desarrollo anatómico y fisiológico. La edad del huésped, el requerimiento alimenticio, la temperatura corporal, la acidez, la disponibilidad de oxígeno, el pH de la zona, la influencia ejercida por otros microorganismos, la disponibilidad de elementos nutritivos, el estado inmunológico del hospedero, el ambiente, son algunos de los factores que determinan el número y tipo de flora presente en diferentes sitios del organismo.

### 2.2.1 MICROBIOTA DE LA CAVIDAD ORAL

En la cavidad oral se desarrolla una microbiota característica que varía enormemente en las diferentes comunidades humanas, que es habitualmente comensal y mantiene un equilibrio armónico con el hombre.



La cavidad oral alberga aproximadamente 700 especies de microorganismos diferentes, principalmente bacterias, pero también hongos unicelulares y protozoos.<sup>10</sup>

La microbiota oral parece desarrollar diferentes funciones beneficiosas para su hospedador, entre las cuales se destaca, la prevención de la colonización de las superficies bucales por patógenos potenciales.

En efecto, la cavidad bucal está permanentemente colonizada por una microbiota bacteriana residente que se organiza en ecosistemas donde se encuentran especies que, en ocasiones, pueden comportarse como patógenos. En la vida intrauterina la boca es estéril. En el nacimiento empieza la colonización por bacterias del aparato urogenital durante el paso a través del conducto vaginal de la madre y por bacterias del medio ambiente. De 4 a 12 horas después del nacimiento se establecen *Streptococcus viridans* como miembros más prominentes de la flora residente.

En un principio la flora es simple y generalmente aerobias (cocos Gram+). También pueden establecerse inicialmente algunos anaerobios, aunque todavía no existe espacio suficiente donde se creen condiciones de anaerobiosis. Las anaerobias se suman cuando erupcionan los primeros dientes.<sup>11</sup>

Cuando aparece la primera dentición se establecen espiroquetas anaerobias, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, especies de *Rothia* y *Capnocytophaga*, así como algunos vibriones anaerobios y lactobacilos. En los adultos se encuentran especies de *Actinomyces*, en amígdalas y encías.

Una de las principales características de las bacterias es su capacidad de adaptación evolutiva a distintos medios y condiciones fisicoquímicas. La colonización bacteriana de las superficies (piel y mucosas) de los animales debió resultar fácil, pues ofrecía condiciones ideales para el desarrollo de las células.<sup>12</sup>



La microflora de la cavidad oral consiste en bacterias, levaduras, algunos hongos, micoplasma, protozoarios y virus. Cuando se habla de placa bacteriana dental, el mayor grupo bacteriano encontrado es el de los cocos Gram positivos, los bacilos largos y cortos Gram positivos, bacterias filamentosas y levaduras; mientras que en menor proporción se encuentran los cocos Gram negativos y los bacilos Gram negativos.<sup>11</sup>

#### Bacterias anaerobias alojadas en la cavidad bucal

- Bacilos Gram + : *Lactobacillus*
- Bacilos Gram - : *Actinobacillus*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Porphyromonas*.
- Cocos Gram + : *Peptostreptococcus*
- Cocos Gram - : *Veillonella*
- Spiroquetas: *Treponema*

#### Bacterias aerobias.

- Cocos Gram + :
  - Género *Staphylococcus*: flora normal: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hemolyticus*.
  - Género *Streptococcus*: *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguinis*.
- Cocos Gram - :
  - Género *Neisseria*: *N. sicca*, *N. flava*, *N. mucosa*.
  - Género *Branhamella*: *B. Catarralis*.

En la biopelícula las bacterias se ubican en un orden, quedando las anaerobias en la superficie, las facultativas en la capa intermedia y las anaerobias estrictas en la parte profunda.<sup>13</sup>



Los *Streptococcus viridans* y otros estreptococos constituyen del 30 al 60% de la flora indígena de la boca. Estas especies se adhieren específicamente a la mucosa oral y al esmalte de los dientes. El *Streptococcus mitior* es la especie asociada sobre todo, a las células de la cavidad oral: el *Streptococcus salivarius* está asociado con la lengua, el *Streptococcus sanguinis* y el *Streptococcus mutans* al esmalte de los dientes y placa bacteriana.

La mayoría de la flora anaerobia aparece después del brote de los dientes y habitan la Biopelícula y las grietas gingivales (periodontitis), donde el nivel de oxígeno es menor que 0.5%. Están presentes *Bacteroides melaninogenicus*, treponemas no patógenos, *Veillonella*, *Clostridium*, *Fusobacterium* y especies de *Peptostreptococcus*. El *Actinomyces israeli* es un patógeno potencial, que habita normalmente en la encía.

La flora oral indígena varía de forma considerable en cada individuo, a expensas de factores que pueden ser tan diversos como el tipo de nutrición y los hábitos de higiene personal. <sup>14</sup>



## MICROBIOTA ORAL

Cocos Gram Positivos	Cocos Gram Negativos	Bacilos Gram Positivos	Bacilos Gram Negativos
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Neisseria sicca</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Prevotella sp.</i>
<i>Streptococcus viridans</i>	<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Fusobacterium sp.</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Porphyromonas sp.</i>
<i>Streptococcus mutans</i>			<i>Capnocytophaga sp.</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Neisseria perflava</i>	<i>Actinomyces bovis</i>	<i>Actinobacillus sp.</i>
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Veionella sp.</i>	<i>Biphidobacterium sp.</i>	<i>Eikenella sp.</i>
<i>Streptococcus oralis</i>		<i>Rothia dentocariosa</i>	<i>Leptotrichia bucalis</i>
<i>Streptococcus α hemolyticus</i>		<i>Corynebacterium matruchotii</i>	<i>Bacteroides Haemophilus hemolyticus</i>
<i>Streptococcus β hemolyticus</i>		<i>Diphtheroides sp.</i>	<i>Coliformes</i>
<i>Streptococcus γ hemolyticus</i>			
<i>Staphilococcus aureus</i>			
<i>Staphylococ epidermoidis</i>			
<i>Micrococcus sp.</i>			
<i>Peptococcus sp.</i>			
<i>Enterococcus faecalis</i>			
<i>Peptostreptococcus sp.</i>			

Hongos	Micoplasmas	Espiroquetas	Espirilos (Gram Negativos)
<i>Candida albicans</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Spirochaeta plicatilis</i>	<i>Campylobacter sp.</i>
<i>Candida stellatoidea</i>	<i>Mycoplasma sp.</i>	<i>Spirochaeta sp.</i>	
<i>Candida guilliermondi</i>			
<i>Geotrichum</i>			

Protozoos
<i>Trichonomas tenax</i>
<i>Entomaeba gingivalis</i>

Tabla 1. Microbiota normal de la cavidad oral. Fuente directa



### **2.2.2 *Escherichia coli***

Desde su descubrimiento en 1886, el género *Escherichia* y su principal especie *E. coli*, están constituidos por enterobacterias móviles que fermentan rápidamente diversos azúcares como la lactosa y la glucosa, produciendo gas y ácidos.

Son bacilos Gram negativos poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a los agentes externos. Crecen abundantemente en los medio nutritivos ordinarios y pueden cultivarse en medios nutritivos más sencillos, como los que tienen una fuente de nitrógeno inorgánico y glucosa. Crecen a una temperatura que oscila entre 10°C y 46°C, siendo el nivel óptimo de 37°C. Las colonias, en especial las que crecen en agar nutritivo son opacas o parcialmente translúcidas, lisas y de consistencia homogénea, y presentan la forma de hoja de arce común a muchas enterobacterias.

*Escherichia coli* (*E. coli*) forman parte de la flora normal aerobia y anaerobia del tubo digestivo del hombre, y se elimina por las heces al exterior. Por esto no es infrecuente que se encuentren en el medio ambiente, donde son capaces de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento constituye un indicador de contaminación fecal reciente. Por otra parte, intervienen en procesos patológicos como en la producción de cuadros intestinales con diarrea o como oportunistas en infecciones extra intestinales diversas, que también pueden ser producidas por otras enterobacterias.<sup>15</sup>



### 2.2.3 Infecciones intestinales con diarrea

*Escherichia coli* constituye una de las causas más importantes de diarrea en el recién nacido y en el adulto. Las cepas de *E. coli* que provocan diarrea se agrupan en tres categorías según su mecanismo de patogénesis:

1. *E. coli* enteropatógenos: son los responsables de frecuentes epidemias de diarrea infantil, se presentan fundamentalmente en lactantes y niños pequeños durante los meses de verano.
2. *E. coli* enterotoxigénico: son los responsables de cuadros de diarrea en niños menores de 2 años y menor frecuencia en adultos, en los países en vías de desarrollo, los viajeros que visitan estos países también presentan cuadros de diarrea (diarrea de los viajeros).
3. *E. coli* enteroinvasivos: la enfermedad suele observarse en niños mayores y adultos, como consecuencia de alimentos o agua contaminada. Estas cepas se demuestran con rareza en los países desarrollados.

### 2.2.4 Infecciones extra intestinales

Es una de las causas más frecuentes de infecciones urinarias, interviene en infecciones biliares, peritoneales (peritonitis, abscesos abdominales) y meningitis. Produce infecciones de las heridas y mucosas (otitis, sinusitis). Causa procesos generalizados, bacteriemias y sepsis.

### 2.2.5 Tratamiento

En las diarreas por *Escherichia coli* enterotoxígenas es mucho más importante llevar a cabo el tratamiento paliativo de rehidratación y restauración del balance electrolítico que la administración de antibióticos, que por lo general son menos eficaces, aunque puede reducir la infectividad.



En los brotes graves en recién nacidos producidos por *Escherichia coli* enteropatógenos, se administra por vía oral Neomicina durante 3-5 días o Colistina en casos de resistencia.

En los casos de *Escherichia coli* enteroinvasivos es eficaz la administración de Ampicilina, aun cuando su cura se puede dar sin la administración de antibióticos. Para prevenir la “diarrea de los viajeros” en las personas que viajan a lugares endémicos, se aconseja la administración de 100 mg. diarios de Doxiciclina.

En los cuadros extra intestinales producidos por *Escherichia coli* oportunistas, es importante la selección y administración de un antibiótico eficaz, de acuerdo a la enfermedad que presente.<sup>16</sup>



### 2.3 Medios de Cultivo

Un medio de cultivo es un material alimenticio que se usa en el laboratorio para el desarrollo de los microorganismos. Una vez que ha sido preparado, un medio de cultivo puede ser inoculado (es decir, se le añaden organismos) y a continuación incubado en condiciones que favorezcan el crecimiento microbiano. El crecimiento de los microorganismos es el cultivo. Un cultivo axénico o puro contiene un único tipo de microorganismos.

Los medios de cultivo deben contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y deben estar exentos de cualquier microorganismo contaminante.

Los medios de cultivo contienen como mínimo: carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas. En muchos casos serán necesarias ciertas vitaminas y otras sustancias inductoras del crecimiento. También se añaden colorantes que actúan como indicadores para detectar, por ejemplo, la formación de ácido o como inhibidores del crecimiento de unas bacterias y no de otras.

El agar es el principal agente solidificante utilizado en medios bacteriológicos. Se disuelve completamente a 100°C y se solidifica al enfriarse a 40°C.<sup>19</sup>

De acuerdo a su consistencia, los medios de cultivo pueden clasificarse en:

- Líquidos: se utilizan para el crecimiento de cultivos puros en lote. Se denominan caldos de cultivo y no tienen agar en su formulación.
- Semisólidos: contienen 0.5% de agar en su formulación. Se utilizan para estudiar la movilidad de las bacterias (presencia o ausencia de flagelo).
- Sólidos: contienen de 1.5 a 2% de agar en su formulación. Estos medios inmovilizan a las células, permitiéndoles crecer y formar masas aisladas



visibles llamadas colonias. Las colonias permiten al microbiólogo reconocer la pureza del cultivo; las placas que contengan más de un tipo de colonia no provienen de un cultivo puro. Las placas de agar también se utilizan para la determinación de células viables (recuento en placas).

De acuerdo a su composición, los medios de cultivo pueden clasificarse en:

- Definidos: es el medio de cultivo del cual se conoce su composición exacta. Son muy utilizados en estudios fisiológicos. Los medios mínimos son medios definidos que únicamente le proporcionan al microorganismo los nutrientes necesarios para crecer, pero no para desarrollarse óptimamente.
- Complejos: es aquél del cual no se conoce la composición exacta del medio. A menudo, los medios complejos emplean sangre, leche, extracto de levaduras, extracto de carne u otras sustancias muy nutritivas pero de las cuales se desconoce la composición química exacta. Estos medios son muy utilizados para cultivar bacterias desconocidas o bacterias de requerimientos nutricionales muy complejos.

De acuerdo a su función, los medios de cultivo se clasifican como:

- Medios selectivos: son aquéllos que poseen uno o más componentes añadidos, los cuales inhibirán o prevendrán el crecimiento de ciertos tipos de especies de bacterias y/o promoverán el crecimiento de las especies deseadas.
- Medios diferenciales: permiten al investigador distinguir entre diferentes tipos de especies con base en alguna característica observable en su patrón de crecimiento en el medio, ya sea por producción de algún pigmento o por cambios de color en el medio debido a indicadores de pH, o por halos de degradación de algún componente en el medio de cultivo.



- Medios de enriquecimiento: contienen algún componente que permite el crecimiento de cierto tipo específico de bacteria, pero no contienen sustancias inhibidoras.
- Medios enriquecidos: se emplean para cultivar microorganismos que requieren un gran número de factores de crecimiento. Generalmente contienen extractos biológicos poco usuales como sangre, suero en polvo, extracto de cerebro de res, yema de huevo, etc.<sup>17</sup>

### 2.3.1 Procedimiento

- Limpiar y esterilizar el área de trabajo
- Prender los mecheros, ajustar la flama hasta que se presente un cono azul bien marcado.
- Identificar y organizar el material dentro del área de trabajo.
- Marcar los tubos con iniciales de la cepa a sembrar y fecha

### 2.3.2 Técnicas de siembra

Método de siembra por estría en placa:

Es el método más fácil y el más usado para obtener cultivos axénicos. Con un asa de siembra se toma una muestra de la población mixta y se hacen estrías sobre la superficie de un medio sólido preparado en una placa Petri. Conforme se van haciendo estrías en zigzag con el asa, cada vez se van depositando en la superficie del medio menos microorganismos. A continuación, se flamea el asa, se toca en la región donde se han realizado las últimas estrías y se continúa la siembra con la misma técnica, en la superficie de medio sin sembrar aún. El proceso se repite varias veces y se logra separar células individuales. A continuación, las placas se incuban en un lugar adecuado, permitiendo que las células aisladas experimenten un número suficiente de divisiones para formar colonias visibles.<sup>18</sup>(ver imagen 3)

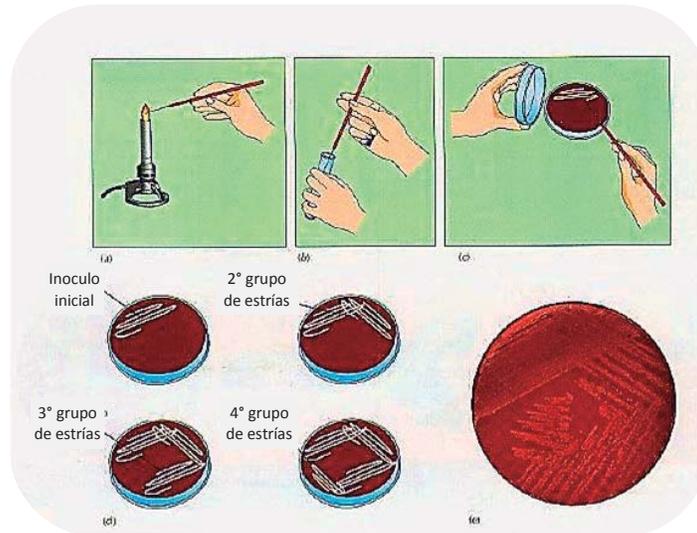


Imagen 3. Método de siembra por estría en placa

#### Siembra en medio líquido:

Transferir asépticamente, con el asa de siembra, una pequeña muestra de los microorganismos, desde el tubo que contiene el material problema al tubo con medio de cultivo estéril. Sumergir el asa en el líquido y agitar para desprender y diluir la muestra. Incubar el tubo recién sembrado en estufa, durante 24-48 horas a la temperatura óptima de crecimiento <sup>19</sup>(ver imagen 4).

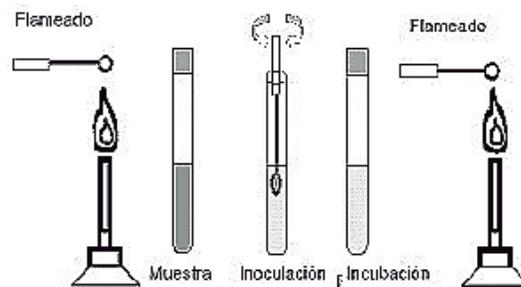


Imagen 4. Siembra en medio líquido



#### Siembra en medio semisólido:

La siembra en este tipo de medio contiene una proporción menor de agar que los medios sólidos y se envasa en tubos, se lleva a cabo con un hilo de siembra esterilizado, con el cual se toma la muestra. El medio queda inoculado al introducir el hilo en profundidad hasta el fondo del tubo, retirándolo posteriormente por la misma trayectoria utilizada al realizar (ver imagen 5).

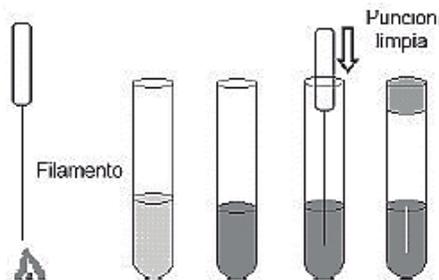


Imagen 5. Siembra en medio semisólido

#### Técnicas de estriado:

a) Estriado simple: Esteriliza el filamento del asa de siembra y toma la parte de la caja de Petri que contiene el medio de cultivo sembrado. Cerca del mechero se espera a que se enfríe el asa y toma una colonia de la placa. La caja se regresa a su tapa, se toma una placa con agar estéril (donde se vaya a sembrar) y con cuidado de no romper el agar, inocula la muestra en un extremo de la placa y con el asa en posición ligeramente horizontal realiza las estrías (muy juntas), oscilando el asa de siembra sobre la superficie de una porción pequeña del agar; mediante un balanceo sucesivo y rápido de la muñeca.



b) Estriado en cuadrantes: la mayor parte del inóculo se descarga en los cuadrantes 1y 2, lo que permite obtener colonias separadas en 3 y 4; Con un asa de siembra, previamente esterilizada, se toma una muestra del cultivo de microorganismos y se extiende sobre un área pequeña de la superficie de la placa con medio, en forma de estrías muy juntas, pero sin hacer presión para no dañar el medio. Se flamea el asa, se enfría y después de rozar la siembra realizada previamente, se extiende de nuevo por otra zona de la placa haciendo nuevas estrías. Este proceso se repite sucesivamente, flameando y enfriando el asa al comienzo de las sucesivas siembras en estría. Se lleva la placa a incubar, a la temperatura adecuada, siempre en posición invertida. Mediante esta técnica se obtienen colonias aisladas a partir de una muestra que contenga un elevado número de bacterias<sup>20</sup>. (ver imagen 6)

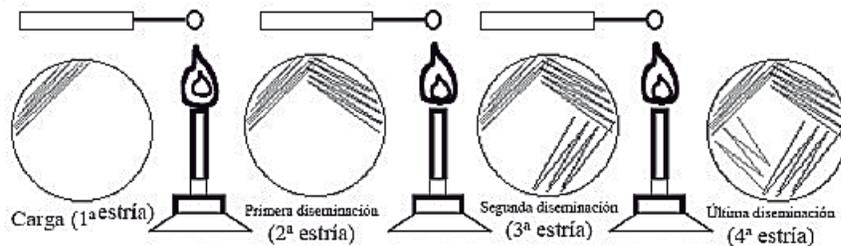


Imagen 6. Estriado en cuadrantes



## 2.4 Estándar de Mc Farland

Los estándares de turbidez de McFarland se usan como referencia en suspensiones bacteriológicas para saber que el número de bacterias por mililitro, o más bien en UFC según una escala que va de 0.5 a 10 (ver tabla 2). Estos estándares son creados al mezclar soluciones de cloruro de bario al 1% con ácido sulfúrico al 1% en volúmenes específicos. Esta turbidez puede interpretarse ópticamente o por métodos espectrofotométricos y cada una de ellas se corresponde a una concentración conocida de bacterias/ml.<sup>21</sup>

El patrón 0.5 de McFarland corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de *Escherichia coli* de  $1,5 \times 10^8$  ufc/ml.<sup>22</sup>

Estándar de McFarland Modificada

TUBO	Cl <sub>2</sub> Ba 1%	SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> 1%	u.f.c/ml
1	0,1	9,9	$3,0 \times 10^8$
2	0,2	9,8	$6,0 \times 10^8$
3	0,3	9,7	$9,0 \times 10^8$
4	0,4	9,6	$1,2 \times 10^9$
5	0,5	9,5	$1,5 \times 10^9$
6	0,6	9,4	$1,8 \times 10^9$
7	0,7	9,3	$2,1 \times 10^9$
8	0,8	9,2	$2,4 \times 10^9$
9	0,9	9,1	$2,7 \times 10^9$
10	1,0	9,0	$3,0 \times 10^9$

Tabla 2. ● Leve, ● Moderado, ● Severo



## **2.5 Medio de cultivo cromogénico**

Un medio de cultivo cromogénico es un medio microbiológico adecuado para la incubación, diferenciación o selección de muchos microorganismos usando un sustrato cromogénico que da como resultado un color. Este color será característico de cada microorganismo siendo más fácil y precisa la diferenciación.<sup>23</sup>

### **2.5.1 Función de un medio cromogénico**

Los medios cromogénicos contienen nutrientes tales como peptonas, aminoácidos, extracto de levadura, minerales y vitaminas, además de inhibidores, gelificantes y sustrato cromogénico o cromógenos.

Se ha comprobado que los sustratos cromogénicos son una herramienta potente en la identificación de microorganismos, debido a la detección de enzimas específicas producidas por los microorganismos en estudio. El principio de los medios cromogénicos son los sustratos cromogénicos como ONPG, X-Gal, o X-Glu junto con una selectividad específica del medio. Los microorganismos de estudio se caracterizan por tener sistemas de enzimas específicas que son responsables de la escisión del sustrato en el interior del cromógeno. Con el fin de separar el sustrato, la unión entre las dos partes del cromógeno se rompe por la enzima. De ese modo, los cromóforos son liberados y pueden ser detectados visualmente mediante la observación de un cambio de color en el medio.

### **2.5.2 Ventajas**

1. Menor tiempo en dar resultado comparado con los métodos tradicionales tanto negativo como presunto positivo. Algunos medios confirman resultado en 24 horas.



2. Con solo medio se puede identificar más de un organismo. Si adquirimos cada medio específico para más de un organismo, el medio cromogénico es más económico.

3. La interpretación del resultado es visual sin la necesidad de habilidades especiales o de instrumentos.

4. Los medios cromogénicos eliminan la necesidad de análisis bioquímicos adicionales para la identificación del agente patógeno.

5. La virulencia de un determinado microorganismo se puede detectar simultáneamente con su diferenciación y selección. Las pruebas de coagulasa y fibrinolisis también se pueden llevar a cabo de forma simultánea en el medio.

6. Los medios cromogénicos se componen de nutrientes y hacen posible la supervivencia de los microorganismos dañados que están a punto de desaparecer.<sup>24</sup>



### 2.5.3 CHROMagar™ O157

Medio cromogénico para el aislamiento e identificación de *E. coli* O157. mediante colores.

*E. coli* O157- malva

Otras bacterias acero-azul, incoloro o inhibido (ver imagen 7).



Imagen 7. CHROMagar™ O157

1. *E. coli* O157 es detectada por un color malva característica sólo después de 18 horas de incubación, mientras que la mayoría de otros *E. coli* son azules.

2. Mayor especificidad de CHROMagar™ O157 *E. coli* en comparación con SMAC:

El medio convencional para la detección de *E. coli* O157 es sorbitol MacConkey (SMAC) Agar, que tiene una especificidad muy pobre, exhibiendo así una gran cantidad de falsos positivos (*Proteus*, *E. hermannii*, etc.) Sorbitol Mac Conkey es también difícil de leer porque no hay un cambio de coloración en el caso de una incubación prolongada alta sensibilidad: *E. coli* O157 → 98%



La *E. coli* serotipo O157: H7 o su falta de movilidad variante O157: H-VTEC es el serotipo más común en relación con la salud pública. Su importancia fue reconocida en el año 1982, después de dos brotes en Estados Unidos. Desde entonces, más de 180 se han notificado brotes en todo el mundo, con un estimado de la OMS cifra de 70.000 infecciones por año.

VTEC Como típico, *E. coli* O157 se encuentran naturalmente en el contenido intestinal del ganado, vacas y ovejas en especial. Su presencia en heces de estos animales les hace una importante fuente de contaminación de los alimentos y el agua.<sup>25</sup>

## 2.6 Medio de Infusión Cerebro Corazón

Es utilizado para el cultivo de un gran número de microorganismos como *estreptococos*, *neumococos*, *meningococos*, etc. Este medio también es conocido como BHI por sus siglas en inglés.<sup>26</sup>

El medio de Infusión Cerebro Corazón es una modificación de las formulaciones desarrolladas por Rosenow y Hayden en las que se adicionó infusión de cerebro de ternera y difosfato de sodio.<sup>27</sup>

El medio de Infusión Cerebro Corazón está especificado en varios procedimientos estándares para la industria alimenticia y el análisis de aguas. También es recomendado por la NCCLS para preparar el inóculo para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

En este medio la infusión de carne de corazón y de cerebro de ternera así como la peptona proveen la fuente de carbono, nitrógeno sulfuro y vitaminas. La dextrosa actúa como fuente de energía. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico del medio. El fosfato disódico actúa como buffer.<sup>28</sup>



#### Fórmula

- Infusión de Cerebro de Ternera 200.0 g.
- Infusión de Corazón de Res 250.0 g.
- Peptona de Gelatina 10.0 g.
- Cloruro de Sodio 5.0 g.
- Fosfato Disódico 2.5 g.
- Dextrosa 2.0 g.
- pH  $7.4 \pm 0.2$

#### Preparación

##### Método:

Suspender 37 g. del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Dispensar en tubos de vidrio, tapar y esterilizar en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  (15 libras de presión) durante 15 minutos.

##### Procedimiento:

Inocular los tubos con una o dos gotas de la muestra con una pipeta estéril. Los hisopos pueden ser insertados dentro de los tubos.

Para cultivar microorganismos anaerobios se deben incubar los tubos en condiciones de anaerobiosis.

La presencia y desarrollo de microorganismos es observado por turbidez en el medio. Los microorganismos desarrollados deberán ser examinados al microscopio y subcultivados en medios específicos.

Almacenamiento:  $2^{\circ}\text{-}30^{\circ}\text{C}$ .

Caducidad: 5 años en frasco cerrado.

Presentación: Frasco con 450 g. (ver imagen 8). Caja con 20 sobres para un litro. Medio preparado en caja con 10 Tubos.



Imagen 8. Medio de cultivo BHI.  
Fuente directa



## 2.7 Tinciones Bacterianas

En general las bacterias y otros microorganismos son transparentes, lo que dificulta su estudio cuando los exámenes se realizan en fresco. Por esto cuando se requiere conocer los detalles morfológicos, es necesario recurrir a tinciones.<sup>29</sup>

### 2.7.1 Tinción de Gram

La tinción propuesta por el médico danés Christian Gram en 1884, es la más empleada en bacteriología, esta técnica permite diferenciar a las bacterias en dos grupos: Gram positivas y Gram negativas. La diferenciación entre los dos grupos se establece debido a las características de su pared celular.

Las bacterias Gram positivas poseen una capa gruesa de peptidoglicano que es capaz de retener al complejo colorante-mordiente (cristal violeta-yodo). Durante la decoloración con alcohol acetona se provoca la deshidratación de esta gruesa pared y se reduce la porosidad, atrapando entonces al complejo dentro de la célula.

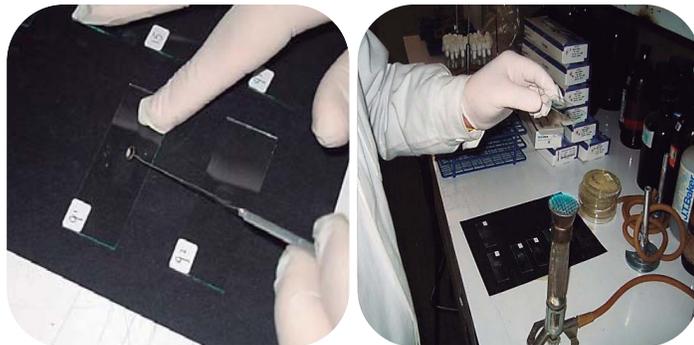
Las bacterias Gram negativas poseen una delgada capa de peptidoglicano, por lo que no puede impedir la salida del complejo colorante-mordiente (cristal violeta-yodo), y es entonces fácilmente teñida por el colorante secundario o de contraste. Las bacterias Gram positivas se observarán de azul por el cristal violeta y no perderán la coloración durante los pasos sucesivos. Las bacterias Gram negativas perderán la coloración inicial con los siguientes pasos y se teñirán de rosa debido a la Safranina.<sup>30</sup>



### Técnica de tinción de Gram.

- Extender la muestra sobre un portaobjetos (ver imagen 9).
- Fijar la muestra con calor
- Agregar cristal violeta durante un minuto
- Lavar con agua
- Añadir lugol durante un minuto
- Lavar con agua
- Agregar alcohol acetona y esperar 10 segundos
- Lavar con agua
- Añadir safranina o fuscina básica durante un minuto
- Lavar con agua
- Dejar secar al aire
- Observar al microscopio óptico

Imagen 9. Técnica de tinción de Gram





Fuente directa.



### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Bajo la premisa que la salud del hombre es fundamental para una vida plena, la salud bucal cobra una importancia fundamental, pues se ha descubierto que puede existir la formación de hasta 700 cepas de distintas bacterias. Algunos de estos microorganismos son también factor de riesgo para la aparición de diversas enfermedades.

También se ha mencionado que la mejor forma de combatir esas enfermedades es la prevención, y en el caso del presente estudio es a través de una buena higiene bucal. Sin embargo, ¿Qué pasa cuando las herramientas de limpieza son el factor de transmisión de esas enfermedades? ¿Cuáles son los agentes patógenos que se transmiten por esta vía?

Uno de los instrumentos utilizados de manera casi general, es el cepillo dental, que en la mayoría de los casos es almacenado dentro de un baño. Un cepillo contaminado podría causar enfermedades o infectar al usuario con agentes patógenos toda vez que la relativa cercanía de los cepillos dentales al sanitario, y el ambiente humedo del baño pueden favorecer esta contaminación.

Dentro de este universo de agentes patógenos que pueden alojarse en el cepillo dental, se encuentre la bacteria *Escherichia coli* que es capaz de crear infecciones intestinales como diarrea, o infecciones extraintestinales como urinarias, biliares, entre otras.



#### 4. JUSTIFICACIÓN

El interés por realizar este estudio radica en analizar la frecuencia con que se da la presencia de microorganismos y la identificación de *Escherichia coli* en los cepillos dentales. Así como determinar la higiene que cada paciente otorga a este artículo personal, ya que el lugar de alojamiento del mismo puede influir en la proliferación de microorganismos patógenos.

Se determinó estudiar esta bacteria por sus características de resistencia y patogenicidad, lo que facilita su alojamiento en diversos objetos y lugares con los que las personas tienen contacto, como pueden ser sanitarios, bolsas de mano, o lugares cerrados.

Una vez analizados los resultados se pretende generar conciencia sobre la importancia que tiene mantener una buena higiene así como generar medidas de prevención en la salud oral.



## 5. OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de microorganismos en los cepillos dentales, en pacientes utilizados por pacientes que acuden a las clínicas de la Facultad de Odontología de la UNAM.

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar clínicamente y microbiológicamente la contaminación de los cepillos dentales mediante un medio de cultivo.

Determinar microbiológicamente la presencia de *Escherichia coli* en cepillos dentales.

Determinar la presencia de microorganismos en cepillos dentales de los pacientes que acuden a la Facultad de Odontología por edad y sexo.

Determinar la presencia de microorganismos en cepillos dentales por lugar de almacenamiento y por tiempo de uso.



## 6. METODOLOGÍA

### Material

- ✓ 32 placas de cultivo de CHROMagar 0157
- ✓ 12 placas de Agar Natural
- ✓ Infusión Cerebro-Corazón
- ✓ Asa Bacteriológica
- ✓ Isopos estériles desechables
- ✓ Guantes estériles
- ✓ Cubreboca
- ✓ Estufa
- ✓ Mechero de Bunsen
- ✓ 7 portaobjetos
- ✓ Microscopio
- ✓ Cristal Violeta
- ✓ Lugol
- ✓ Alcohol cetona
- ✓ Safranina
- ✓ Riel de tinción
- ✓ 21 tubos de ensaye
- ✓ Refrigerador

### 6.1 MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se llevó a cabo en 20 individuos, con un rango de edad entre 18 y 60 años, 15 de género femenino y 5 masculino. Se les solicitó presentar en la consulta su cepillo dental de uso diario y se les entregó uno nuevo. Los cepillos recolectados fueron guardados cada uno en una bolsa estéril y etiquetados. Se indicó a los pacientes que siguieran sus hábitos de



higiene oral por una semana previa a la recolección de los cepillos.(ver imagen 10).



Imagen 10. Cepillos dentales recolectados  
Fuente directa



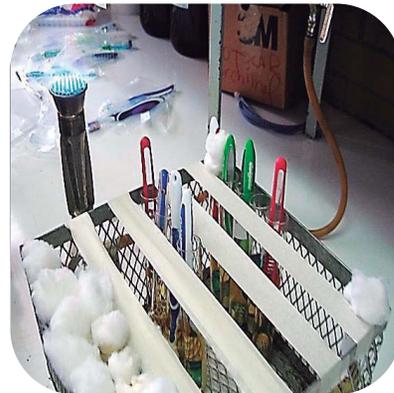
Procedimiento del estudio microbiológico.

Día 1.

Se tomaron los cepillos dentales de las bolsas estériles. Se sumergieron cada uno de los cepillos en un tubo de ensaye con 30 ml. de infusión cerebro-corazón, durante 10 min. cada uno. Después de transcurrido el tiempo se retiraron los cepillos de la infusión y se desecharon en un recipiente de residuos peligroso biológico infecciosos (RPBI). Posteriormente los 20 tubos de ensaye más uno de control que previamente fueron enumerados se incubaron a 37°C durante 24 horas. Después de cumplirse el término fueron revisados los tubos y se compararon con el de control para identificar el nivel de turbidez de cada uno. (ver imagen 11 y 12).



a.



b.



c.



d.

Imagen 11. a) Cultivo de Infusión Cerebro Corazón, b) Colocación de los cepillos en el cultivo, c) Retiro de los cepillips del cultivo d) Desecho de los cepillos en RPBI.



e.



f.

Imagen 12. e) Estufa a 37°C, f) Comparación de los tubos de ensaye con el tubo de control. Fuente directa.



## Día 2

Por otra parte, se dispusieron 20 placas de CHROMagar 0157 y otra más de control, mismas que fueron enumeradas para identificarlas con el correspondiente tubo de ensaye. Paralelamente y con la intención de mantener un ambiente estéril se encendió un mechero de Bunsen, y se procedió a inocular cada una de las placas con una muestra de cada tubo de ensaye mediante el uso de isopos estériles utilizando la técnica de estría simple. Una vez efectuado este procedimiento en cada placa, fueron introducidas en una estufa para incubarse a 37° C durante 24 horas. Es importante señalar que los isopos fueron desechados en el bote de RPBI, los tubos de infusión cerebro-corazón fueron esterilizados y desechados. (ver imagen 13)



a.



b.

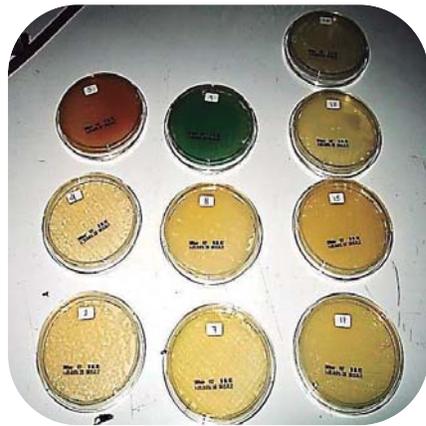
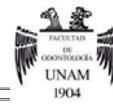


c.

Imagen 13. a) Placas de CHROMagar 0157, b) Toma de la muestra con isopo estéril y c) Inoculación de la muestra por técnica de estría simple. Fuente directa.

Día 3

Transcurrido el tiempo de incubación de 24 horas, cada una de las placas CHROMagar 0157 fueron revisadas para identificar el crecimiento de colonias de microorganismos *Escherichia coli*, de ellas se eligieron 10 que fueron las que presentaron mayor crecimiento de microorganismos con la intención de realizar una resiembra en placas de Agar Natural. Cabe resaltar que una de esas 10 muestras, una destacó por su notable crecimiento de colonias sobre las demás, por lo que de ella se tomaron dos muestras más, para tener un total de 12, con el fin de obtener el cultivo puro de la *Escherichia coli* e identificar plenamente su presencia (ver imagen 14 y 15).



a.



b .



c.

Imagen 14. a-c) Placas de CHROMagar 0157 con crecimiento de *E. coli*. Fuente directa.

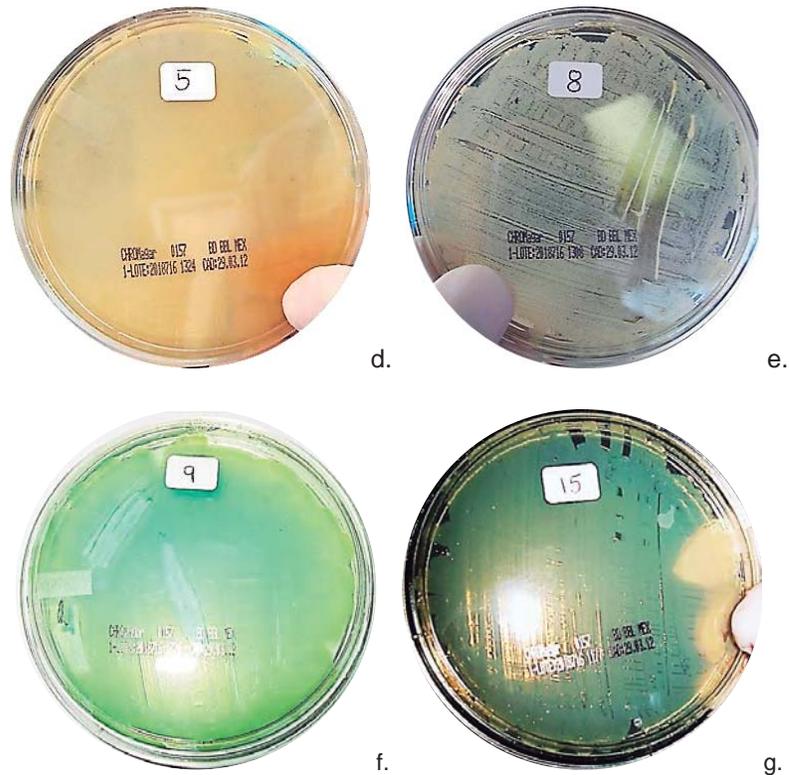


Imagen 15. d-g). Placas de CHROMagar 0157 con crecimiento de *E. coli*  
Fuente directa

Para efectuar esta resiembra fueron enumeradas cada una de las 12 placas de Agar Natural, se encendió el mechero de Bunsen para mantener estéril el lugar de trabajo y esterilizar un asa bacteriológica al rojo vivo en cada una de las veces que sería utilizada. De cada placa de CHROMagar 0157 se tomó una muestra de la colonia para ser resembrada con el asa bacteriológica en cada una de las placas de Agar Natural mediante la técnica de estría simple, y se incubaron en la estufa a una temperatura de 37°C durante 24 horas.



Posteriormente, fué esterilizada el asa bacteriológica y las 20 placas de CHROMagar 0157 fueron puestas en refrigeración. (ver imagen 16).

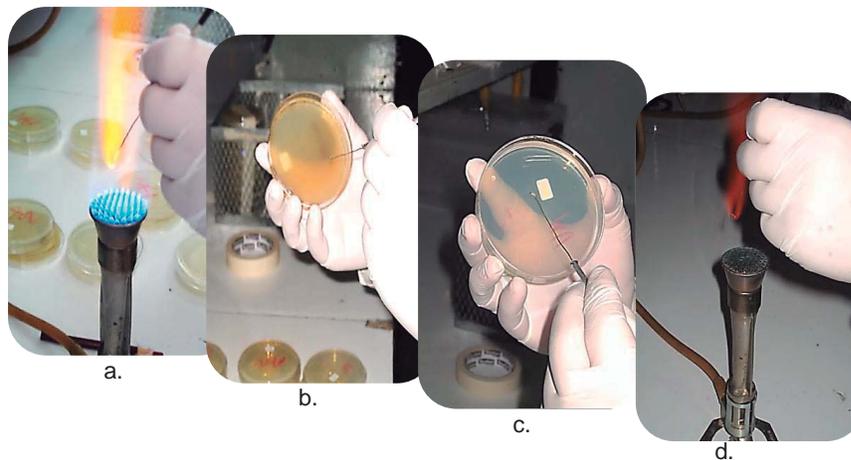
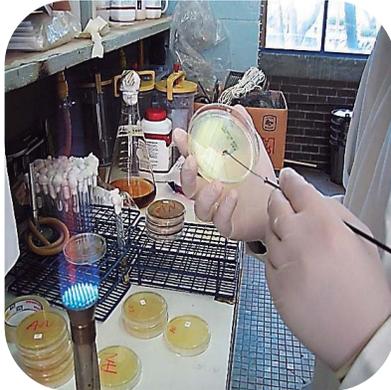


Imagen 16. a y d) Asa bacteriológica esterilizada, b) Toma de muestra de CHROMagar 0157, c) Resiembra en Agar Natural. Fuente directa.

#### Día 4

Una vez concluido el procedimiento anterior se esterilizó el lugar de trabajo y el asa bacteriológica usando el mechero de Bunsen al igual que en el procedimiento anterior. Se tomó una muestra de las colonias de cada una de las 12 placas de Agar Natural para resembrarlas en otras 12 placas de CHROMagar 0157, que previamente fueron etiquetadas, en este procedimiento también fue usada la técnica de estría simple, y las placas se incubaron en la estufa a 37°C por un periodo de 24 horas. Las placas de Agar Natural se guardaron en el refrigerador, para posteriormente realizar la identificación microscópica. (ver imagen 17).



a.



b.

Imagen 17. a,b) Toma de muestra de colonias en placa Agar Natural. Fuente directa.

#### Día 5

Transcurridas las 24 horas se identificó que las 12 placas de CHROMagar 0157, 7 presentaron un incremento considerable de colonias (ver imagen 18), entre ellas las 2 muestras que previamente se habían seleccionado por su notable crecimiento, para tener un total de 7 muestras finales, por lo que se dispuso a identificarlos microscópicamente y realizar la tinción de Gram, se fijaron en 7 portaobjetos una muestra de colonias de cada uno de los medios de CHROMagar 0157 agregando una gota de solución salina y llevando a cabo la técnica de tinción de Gram de 7 portaobjetos en los que se colocó una gota de solución salina. Mientras tanto se volvió a esterilizar el lugar de trabajo y el asa bacteriológica con el mechero de Bunsen. Como parte del procedimiento se calentó el asa y se inoculó una muestra de colonia de los CHROMagar 0157, misma que se diluyó en solución salina de cada portaobjetos que posteriormente fueron pasados repetidamente sobre el fuego para que se fijara la solución.



Imagen 18. Medios de cultivo de pacientes en CHROMagar 0157. Fuente directa.

Se uso un tren de tinción, en donde fueron colocados los portaobjetos que previamente se enumeraron con una etiqueta, siguiendo la técnica antes descrita de Tinción de Gram (ver imagen 19).

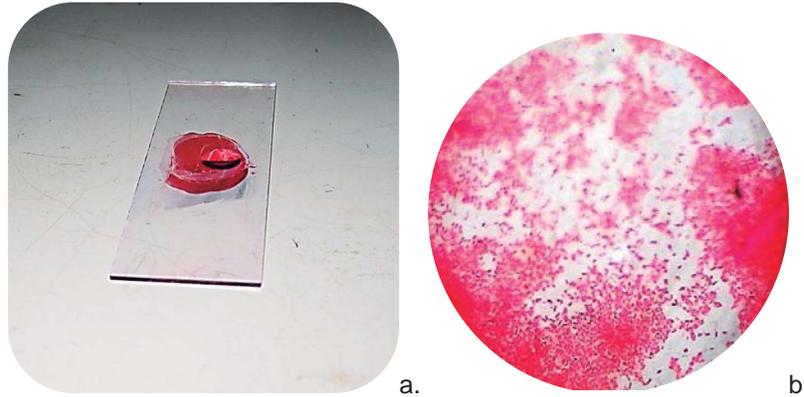


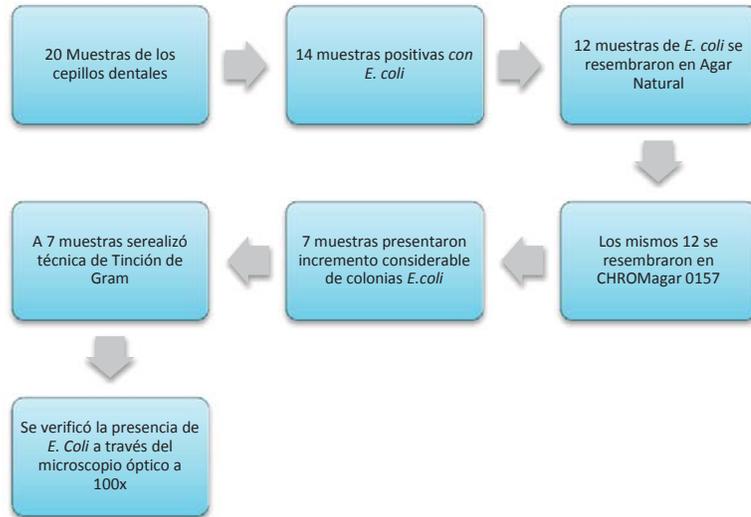
Imagen 19. a) Portaobjetos con muestra de *Escherichia coli*, b) Observación a microscopio óptico de bacilos Gram negativos a un aumento de 100x. Fuente Directa

El procedimiento microbiológico en el laboratorio para este estudio es original y adaptado por la C.D. Martha Concepción Chimal Sánchez, C.D. María Concepción Ramírez Soberón y Biólogo José Daniel Córdoba Cárdenas, con el fin de medir el riesgo biológico de *Escherichia coli* en los cepillos dentales y otros microorganismos.

El procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNAM, una hora después de haber obtenido los cepillos dentales de los pacientes, siendo supervisada y asesorada por los profesores.



### Proceso del estudio de laboratorio





## **6.2 TIPO DE ESTUDIO**

Observacional

## **6.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Pacientes que acuden a las clínicas de la Facultad de Odontología de la UNAM en el campus de Ciudad Universitaria.

### **6.3.1 MUESTRA**

20 personas que entregaron su cepillo dental para el desarrollo de este estudio, que acudieron a las clínicas de la Facultad de Odontología. Estas personas fueron elegidas al azar pero cubriendo los criterios de selección.

### **6.3.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

Se excluyeron cepillos dentales nuevos.

Cepillos dentales que no sólo se guardaran en el baño.

Cepillos dentales que fueran utilizados diariamente.



## 6.4 VARIABLE

Presencia de *E. coli* en cepillos dentales.

Para este estudio se contempló la presencia de *E. coli* en cepillos dentales con uso mayor o igual a un mes y el crecimiento de microorganismos en el cultivo de Infusión Cerebro-Corazón.

## 6.5 RECURSOS

### 6.5.1 Humanos:

- Una tutora de Tesina
- Una asesora de Tesina
- Un Biólogo
- Una tesista pasante de la Carrera Cirujano Dentista. UNAM.

### 6.5.2 Materiales:

- 20 encuestas impresas
- 10 plumas
- Laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología UNAM.
- 20 cepillos dentales
- Material para laboratorio descrito anteriormente

### 6.5.3 Financieros

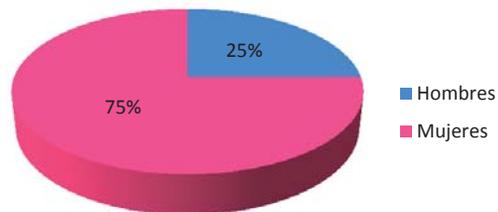
- Corrieron a cargo de la tesista.



## 7. RESULTADOS

En el presente estudio participaron 20 personas que acudieron a la clínica de Preventiva de la Facultad de Odontología de la UNAM en el campus de Ciudad Universitaria, de los cuales 15 fueron mujeres y 5 hombres, considerando que la variable sexo no se contempló como factor determinante de *E.col.* (Gráfica 1).

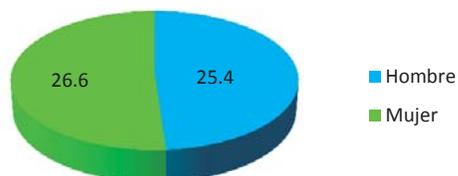
Gráfica 1  
Género de la población de estudio



Fuente directa.

De acuerdo a la edad, el promedio fue de 26.6 años en el sexo femenino, y de 25.4 años masculino. (Gráfica 2)

Gráfica 2  
Edad en años cumplidos

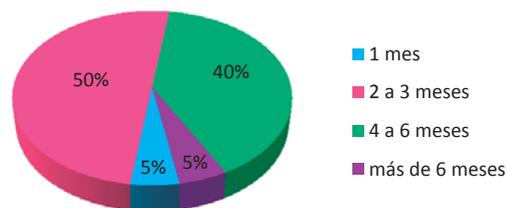


Fuente directa



A las personas participantes se les preguntó acerca de la frecuencia con que reemplazan su cepillo dental, para ello se establecieron cuatro parámetros en donde se determinó 50% lo hace de 2 a 3 meses, 40% de 4 a 6 meses, 5% cada mes, y 5% tarda más de 6 meses. (Gráfica 3)

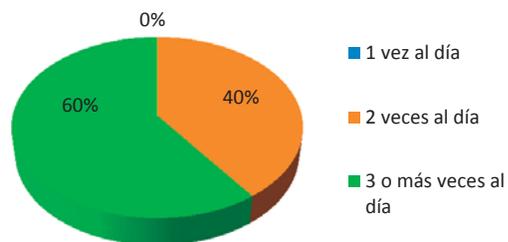
Gráfica 3  
Frecuencia de cambio de cepillo



Fuente directa

Respecto a la frecuencia de cepillado se obtuvo que el 60 % se cepilla los dientes 3 o más veces al día, y el 40% lo hace dos veces por día

Gráfica 4  
Frecuencia de cepillado



Fuente directa



Al preguntar sobre el lugar donde guardan el cepillo dental, 16 personas señalaron que lo hacen en un vaso dentro del baño, 3 en un portacepillo y 1 en otro lugar (mochila) (Gráfica 5).

Gráfica 5  
Lugar de guardado



Fuente directa

Respecto a la frecuencia con que presenta algún tipo de enfermedad de la garganta, 11 se enferman una vez al año y 9 de 2 a 3 veces por año (Gráfica 6).

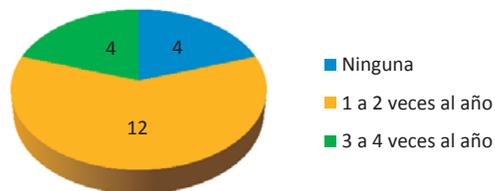
Gráfica 6  
Frecuencia de enfermedad en garganta





Con respecto a enfermedades del tracto digestivo, 12 se enferman 1 o 2 veces por año, 4 de 3 a 4 veces por año y 4 no enferman (Gráfica 7).

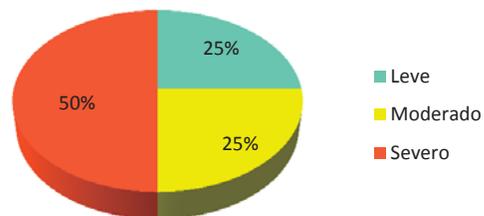
Gráfica 7  
Frecuencia de enfermedad en estómago



Fuente directa

De acuerdo a los estudios realizados en el laboratorio para observar el nivel de turbidez (en infusión Cerebro-Corazón) de los 20 cepillos dentales utilizados por los participantes se descubrió que en el 50% de ellos tenía un nivel severo, el 25% fue moderado, y el 25% leve (Gráfica 8).

Gráfica 8  
Nivel de Turbidez

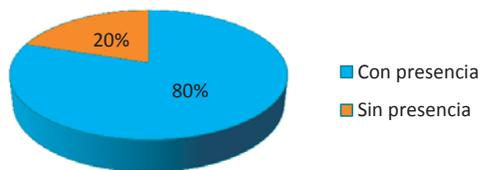


Fuente directa



De las muestras que se cultivaron en CHROMagar 0157 se observó que el 80% presentó crecimiento de colonias de *Escherichia coli*, mientras que el 20% no tuvo. Esto refleja que sólo 4 cepillos no presentaron *E. coli* (Gráfica 9)

Gráfica 9  
*Escherichia coli*



Fuente directa

Finalmente se destacó en el muestreo que el 100% de los participantes (20 personas) dijeron no compartir su cepillo dental.



## 8. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, se observó que uno de los lugares más comunes para almacenar el cepillo dental es el cuarto de baño, y que no existe un cuidado adecuado en su mantenimiento y resguardo. Por lo tanto, tomando en cuenta las características del ambiente y la cercanía del lugar del almacenaje del cepillo dental con el sanitario, se determinó estudiar la presencia de la bacteria *Escherichia coli* de entre todos los microorganismos existentes.

El resultado de las pruebas analizadas mostró la presencia de esta bacteria en el 70% de los casos analizados, y se comprobó la facilidad con que este microorganismo puede alojarse en los utensilios de higiene dental como el cepillo.

Los cepillos dentales facilitan la transmisión de importantes microorganismos patógenos, por lo que deberían ser cambiados con frecuencia o en su defecto deberían desinfectarse regularmente en pacientes que sufran de enfermedades infectocontagiosas

Entre las medidas de prevención para evitar la contaminación de los cepillos dentales se propone lo siguiente: el cambio de este instrumento cada tres meses, cuidar que no tenga contacto con otros cepillos, secarlo después de utilizarlo, no compartirlo con más personas, mantenerlo de preferencia en un lugar aislado dentro del cuarto de baño, así como reemplazarlo después de presentar alguna enfermedad infecciosa para evitar una recidiva de la enfermedad y que los microorganismos sigan presentes en el cepillo y utilizar un desinfectante después de enjuagarlo.



Ante la imposibilidad que un cepillo dental esté libre de microorganismos, debido a su contacto con la cavidad oral que cuenta con una gran cantidad de microorganismos como parte de su flora normal, si se puede reducir el riesgo de que bacterias o microorganismos se aloje en ellos, tal es el caso de la *Escherichia coli*, que es una bacteria propia de la flora del intestino pero fuera de este puede causar otro tipo de infecciones.

Los microorganismos identificados en los cepillos dentales y el CHROMagar 0157 pertenecen a microflora transitoria, los cuales provienen del medio ambiente y estos están relacionados con el cuidado que se da al cepillo dental post higiene oral.

Ante la búsqueda de una salud plena no sólo basta conocer las medidas preventivas, en este caso un aseo correcto de la cavidad bucal, sino que además es necesario que esas medidas se lleven a cabo de manera correcta para evitar que los mismos instrumentos con los que se ejecutan, sean los responsables de propagar más enfermedades.



## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Trigos L.M., Trigos V.M., Efecto antimicrobiano del digluconato de clorhexidina al 0.5%, aplicado por aspersión, en la contaminación bacteriana de los cepillos dentales. *Vis. Dent.* 2011;14(1).
2. Obando A. Gustavo, Torres E. Karla. Efecto del Triclosán sobre el biofilm del cepillo dental. *Rev. Estomatol Herediana* 2007; 17(1).
3. Contreras A., Astudillo M., Daza LH., García LM., Caviria PA., Parra B., et al. Contaminación microbiana de los cepillos dentales en pacientes con enfermedad periodontal. *Rev. Estomatológica* 2010; 10(1).
4. Norman OH. *Odontología Preventiva Primaria*. 2ª ed. México: Editorial El Manual Moderno, 2005. 530 p.
5. JIMÉNEZ M, Cepillos Eléctricos versus Cepillos Manuales; comparación entre los cepillos eléctricos y manuales <http://dentopolis.com>
6. Gaviria PA, Rosales HL. y Contreras A. Contaminación In Vitro de cepillos dentales. *Rev. Estomatológica*. 2001; 9: 14-20.
7. <http://www.saludalia.com/vivir-sano/tecnicas-de-cepillado-dental>
8. <http://bucodental.com/le.com/?trata=cepillado-dental>
9. Appelberg R, Silva NT. *Relación Parásito.Hospedero*. Lisboa: Ediciones Técnicas Lidel, 1998. Pp. 141-205.
10. Oral Biofilms: Emerging Concepts in Microbial Ecology. S. Filoche, L.Wong, Sissons. *JDR* January 2010 vol. 89 no. 1 8-18.
11. Murray PR, Rosenthal KS y Pfaller MA. *Microbiología Médica*. 6ª ed. España: Elsevier, 2009.
12. Maritza Peña Sisto, Milagros Calzado da Silva, Milagros González Peña, Sandra Cordero García y Hernay Azahares Argüello. *Patógenos periodontales y sus relaciones con enfermedades sistémicas*. Universidad de Ciencias Médicas, Facultad de Estomatología, Santiago de Cuba, Cuba. *MEDISAN* 2012; 16(7):1137.



13. Carranza FA, Newman MG y Takei HH. Periodontología Clínica. 6ª ed. México: McGraw-Hill, 2004.
14. Liebana JU. Microbiología Oral. España: McGraw-Hill, 2002. Pp. 677.
15. Freeman Bob A. Microbiología de Burrows. 22ª ed. México: McGraw-Hill; 1985.
16. Pumarola A, Rodríguez Torres A. Microbiología y Parasitología Médica. 2ª ed. Barcelona: Ediciones Científicas y Técnicas; 1987.
17. <http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/evolucionmolecular/images/file/ClaseProcariontes/Alejandra/Pr%C3%A1ctica%204%20%20Medios%20de%20cultivo.pdf>
18. Romero Cabello, R. Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. Editorial Panamericana, México 2001. 2ª ed. Pp. 257-429.
19. LARA, Álvaro R. Producción de proteínas recombinantes en Escherichia coli. Rev. Mex. 2011; 10(2).
20. <http://es.scribd.com/doc/14173131/5-Tecnicas-Basicas-Para-El-Cultivo-de-Microorganismos>.
21. McFarland, J. 1907. The Nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J. Am. Med. Assoc 49:1176-1178.
22. Forbes, B.A., D.F. Sham, A.S. Weissfeld. 1998. Bailey and Scott's diagnostics microbiology, 10ed, Mosby, Inc., St. Louis.
23. Palacios E, Rodríguez-Granjer J, Sampedro A, Martínez-Brocal A y Rosa-Fraile M. Utilidad del medio cromogénico MPO en el procesamiento habitual del urocultivo. Enferm Infecc Microbiol Clin 2002;20(8):388-90
24. Prats G. Microbiología Clínica. Madrid: Médica Panamericana. 2008. 400 p.



25. <http://www.chromagar.com/products-chromagar-o157-focus-on-e-coli-o157-26.html#.UWJtmqJFWAg>
26. Rosenow, E.C. 1919. Studies on elective localization. J.Dent. Research 1:205-249
27. Hayden, R.L. 1923. Elective localization in the eye of bacteria from infected teeth. Arch. Int. Med. 32:828-849.
28. Vanderzant, C., and D.F. Splittstoesser (ed). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington D.C.
29. Spicer WJ. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. Texto y Atlas en color. 2ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
30. Medios de Cultivo y Tinción de Gram. Dep. Legal 2007, No. 16. Granada: Revista digital. Innovación y experiencias educativas, 2009. ISSN 1988-6047.



## 10. ANEXOS

### SEMINARIO DE EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD PÚBLICA

Contesta las siguientes preguntas

Edad: \_\_\_\_\_ 

M	F
---	---

 Sexo:

1. ¿Qué tan frecuente cambias tu cepillo dental? (cada cuanto)

\_\_\_\_\_

2. ¿Cómo sabes cuándo cambiarlo? (como te guías)

\_\_\_\_\_

3. ¿Cómo eliges tu cepillo? \_\_\_\_\_

4. ¿Cuántas veces al día te cepillas los dientes? \_\_\_\_\_

5. ¿Dónde guardas tu cepillo? \_\_\_\_\_

6. ¿Cuándo sales lo llevas contigo? \_\_\_\_\_

7. ¿Cuántas veces en el año te enfermas de la garganta? \_\_\_\_\_

8. ¿Cuántas veces al año te enfermas del estómago? \_\_\_\_\_

9. ¿Compartes tu cepillo dental? \_\_\_\_\_

10. ¿Qué haces cuando terminas de cepillarte?

\_\_\_\_\_