



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EVALUACIÓN IN VITRO ANTIBACTERIANA DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL
6% E HIPOCLORITO DE SODIO AL 1% Y 2% SOBRE CEPILLOS DENTALES
INOCULADOS CON *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Líneas de Investigación: Genética, bioquímica y biotecnología

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Rojas Zubizarreta, Estefany Hilda

ASESOR

Dr. Cayo Rojas, César Félix

JURADO

Dr. Mendoza Lupuche, Román

Dra. Vílchez Reynaga, Luzmila

Mg. Huamán Chipana, Patricia Raquel

Lima – Perú

2019

DEDICATORIA

Dedicado a mis padres por su confianza, comprensión y apoyo constante y desinteresado.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los que desinteresadamente participaron en la elaboración y ejecución de mi investigación: Dr. César Félix Cayo Rojas y Blgo. Nora Benjamina Bravo Cruz.

ÍNDICE

Resumen		
Abstract		
		Página
I.	Introducción	
	1.1 Descripción y formulación del problema	7
	1.2 Antecedentes	8
	1.3 Objetivos	13
	- Objetivo General	
	- Objetivos Específicos	
	1.4 Justificación	14
	1.5 Hipótesis	15
II.	Marco Teórico	
	2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	16
III.	Método	
	3.1 Tipo de investigación	35
	3.2 Ámbito temporal y espacial	35
	3.3 Variables	35
	3.4 Población y muestra	36
	3.5 Instrumentos	37
	3.6 Procedimientos	38
	3.7 Análisis de datos	41
	3.8 Consideraciones éticas	42
IV.	Resultados	43
V.	Discusión de resultados	50
VI.	Conclusiones	52
VII.	Recomendaciones	53
VIII.	Referencias	54
IX.	Anexos	60

Resumen

Objetivo. Se evaluó el efecto antibacteriano in vitro del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Métodos. Se utilizaron 60 cepillos dentales, los cuales fueron divididos en 4 grupos (3 grupos de desinfectantes, un grupo control) de 15 cepillos cada uno, que fueron seleccionados por muestreo aleatorio simple, y luego fueron inoculados con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que se ajustaron al 0.5 del estándar de turbidez de McFarland. Los desinfectantes utilizados fueron peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 6% e hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% y 2%, y agua destilada (grupo control). El método de conteo fue mediante Unidades Formadoras de Colonias por mililitro. Los datos fueron analizados con las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney y Kruskal Wallis, para la decisión de las pruebas estadísticas, se estableció una significancia de $p < 0.05$ y grado de confianza al 95%. Resultados. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres desinfectantes ante el *Streptococcus mutans*. El H₂O₂ al 6% presentó una media de crecimiento de 2 UFC/mL, lo que indica que su efectividad es menor comparada al NaClO al 1% que presentó una media de crecimiento de 0.4 UFC/mL, y esta es menor al NaClO 2% que presentó 0 UFC/mL de *Streptococcus mutans*. Conclusiones. El desinfectante más efectivo para eliminar el *Streptococcus mutans* por completo del cepillo dental es el NaClO al 2%, que es rentable, de fácil acceso y apropiado para uso doméstico.

Palabras clave: Desinfección, peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio, *Streptococcus mutans*. (DeCS).

Abstract

Objective. The antibacterial effect of 6% hydrogen peroxide and 1% and 2% sodium hypochlorite on dental brushes inoculated with *Streptococcus mutans* ATCC 25175 was evaluated. **Methods.** Sixty toothbrushes were used, which were divided into 4 groups (3 groups of disinfectants, a control group) of 15 brushes each, which were selected by simple random sampling, and then inoculated with strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 that were adjusted to 0.5 of the Mc. Farland turbidity standard. The disinfectants used were hydrogen peroxide (H₂O₂) at 6% and sodium hypochlorite (NaOCl) at 1% and 2%, and distilled water (control group). The counting method was through Colony Forming Units per milliliter. The data were analyzed with the non-parametric tests U of Mann-Whitney and Kruskal Wallis, for the decision of the statistical tests, a significance of $p < 0.05$ and 95% confidence level was established. **Results.** There are statistically significant differences between the three disinfectants against *Streptococcus mutans*. The H₂O₂ at 6% presented a mean growth of 2 CFU/mL, which indicates that its effectiveness is lower compared to the 1% NaOCl that presented an average growth of 0.4 CFU/mL, and this is lower than NaOCl 2% who presented 0 CFU/mL of *Streptococcus mutans*. **Conclusions.** The most effective disinfectant for removing *Streptococcus mutans* from the toothbrush is 2% NaOCl, which is cost effective, easily accessible and suitable for domestic use.

Key words: Disinfection, hydrogen peroxide, sodium hypochlorite, *Streptococcus mutans*. (DeCS).

I. Introducción

La prevalencia de caries dental en el Perú es de aproximadamente el 90% en menores de 15 años, según el último reporte; es una estadística alarmante, por lo que se busca enfoques de prevención distintos para aminorar este problema de salud (MINSA, 2005).

La presente investigación, desarrolla el tema “Evaluación in vitro antibacteriana del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175”; debido a que esta bacteria es la principal causante de la caries dental, uno de los problemas de salud más frecuente, no solo en el Perú sino alrededor del mundo, que se presenta en la cavidad bucal y permanece por una buena cantidad de horas en las cerdas de nuestro cepillo dental, después del hábito que todos tenemos en común, que es el cepillado de nuestros dientes; además de muchos otros microorganismos y residuos que se acumulan, por lo que debemos realizar la desinfección de este con el método más adecuado, y hay pocos estudios que se enfocan en determinar cuál es ese método.

Se abordó temas como: Bacterias, bacterias de la cavidad bucal, caries dental, cepillos dentales y los dos desinfectantes que aplicamos en la investigación, como el peróxido de hidrógeno y el hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones, para dar una idea más completa del problema.

Para el desarrollo de esta investigación, se utilizó referencias actualizadas entre libros, artículos indexados y tesis, que permitieron sustentar los procedimientos y obtener resultados que nos posibilitaron alcanzar los objetivos propuestos y de esta manera responder al cuestionamiento que motivó la investigación.

La presente investigación fue de tipo experimental, transversal y prospectivo, con cuyo diseño se logró objetivos concretos.

1.1 Descripción y formulación del problema

Los cepillos de dientes son necesarios para la higiene bucal diaria, pero los residuos que permanecen en sus cerdas pueden precipitar el crecimiento de una gran cantidad de microorganismos. Más de 700 especies de bacterias viven en la cavidad bucal, así como hongos, virus y microorganismos transitorios, que pueden o no causar diversas enfermedades (Mobin *et al.*, 2011; Paster *et al.*, 2001).

Muchas de las bacterias encontradas en los cepillos de dientes después del cepillado, mantienen su viabilidad, desde un día hasta una semana (Efstratiou *et al.*, 2007; Spolidorio, Goto, Negrini & Spolidorio, 2003).

do Nascimento *et al.* (2014) en su estudio donde utilizaron sesenta y cuatro cepillos de dientes y seleccionaron 32 especies bacterianas para la detección dirigida, una muestra de cada cinco controles negativos, mostró señales positivas de colonización, el cual fue indicativo de contaminación.

Peker, Akca, Sarikir, Toraman & Celikpo (2014) utilizaron doscientos ochenta cepillos, que se contaminaron con suspensiones de *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Luego se probaron los siguientes desinfectantes: hipoclorito de sodio al 1% (NaClO), 100% y 50% de vinagre blanco, horno de microondas, desinfectante ultravioleta y enjuague bucal que contiene propóleos. Este estudio mostró que el 100% de vinagre blanco se consideró efectivo para la prueba de microorganismos y del mismo modo, el 1% de NaClO.

El Ministerio de Salud (MINSA, 2005) en el último reporte oficial, muestra como promedio 90% de prevalencia de caries dental en la población escolar. La prevalencia en el área urbana fue 90,6% y en el rural 88,7%. El promedio de piezas cariadas, perdidas y obturadas en la dentición temporal y permanente (índice ceo-d/ CPO-D) a nivel nacional fue de 5.84 y el promedio de piezas cariadas, perdidas y obturadas en la dentición permanente

para la edad de 12 años (CPO-D-12) a nivel nacional fue 3.67 (IC95%: 3,37-3,97). Dichos datos fueron obtenidos de un trabajo realizado con un tamaño de muestra de 7730 escolares de los 24 departamentos del Perú. Los examinadores fueron capacitados y calibrados, según los criterios de la Organización Mundial de la Salud.

Lamentablemente hasta la actualidad el uso diario del cepillo dental y su adecuado mantenimiento ha sido un tema de relativa importancia para la profesión odontológica, ya que existe escasa conciencia pública, y poco afán de capacitación por parte del odontólogo, por ello se considera un recambio frecuente y/o una desinfección óptima del cepillo dental, para evitar la expansión de una cantidad excesiva de microorganismos en la cavidad oral (Yuri y Carvajal, 2014).

Siempre será inevitable la contaminación de las cerdas del cepillo dental, varias investigaciones buscan encontrar un desinfectante efectivo, económico y de fácil alcance. En el mercado, entre las sustancias químicas utilizadas para la desinfección del cepillo dental, tenemos diferentes productos con marcas registradas como: Listerine®, Perio-Aid®, entre otros; alternativa a esto, este trabajo buscó plantear el uso del peróxido de hidrógeno y el hipoclorito de sodio como sustancias químicas de fácil acceso a las personas, para que puedan utilizarlo y así desinfectar sus cepillos dentales, disminuyendo la cantidad de microorganismos, como el *Streptococcus mutans*.

Y por eso en este trabajo se planteó el siguiente problema:

¿Cuál es el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.2 Antecedentes

Basman *et al.* (2016) en São Paulo, publicaron este estudio para comparar la eficacia del uso de lavavajillas o diferentes agentes químicos, incluyendo gluconato de clorhexidina al 0,12%, hipoclorito de sodio al 2% (NaClO), un enjuague bucal con aceites esenciales y

alcohol y 50% de vinagre blanco para la desinfección del cepillo de dientes. Sesenta voluntarios se dividieron en cinco grupos experimentales y un grupo de control (n = 10). Los participantes se cepillaron los dientes con cepillos de dientes con cerdas estándar y desinfectaron los cepillos de dientes de acuerdo con los métodos indicados. La contaminación bacteriana de los cepillos de dientes se comparó entre los grupos experimentales y el grupo de control. Los datos se analizaron mediante las pruebas de rango múltiple de Kruskal-Wallis y Duncan, con intervalos de confianza del 95% para comparaciones múltiples. La contaminación bacteriana de los cepillos de dientes de individuos en los grupos experimentales difirió de aquellos en el grupo control ($p < 0.05$). Se halló que el método más efectivo para eliminar todas las especies bacterianas probadas fue 50% de vinagre blanco, seguido en orden por 2% de NaClO, enjuague bucal que contiene aceites esenciales y alcohol, 0,12% de gluconato de clorhexidina, uso de lavavajillas y agua corriente (control). En conclusión, el método más efectivo para desinfectar cepillos de dientes fue la inmersión en vinagre blanco al 50%, que es rentable, de fácil acceso y apropiado para uso doméstico.

Eralp *et al.* (2016) en Estambul, publicaron un estudio donde se comparó la eficacia antimicrobiana del extracto etanólico de propóleos (EEP) con gluconato de clorhexidina (CHX) en planctónicos de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces israelii*, *Candida albicans*, y sus biopelículas de una sola especie mediante dilución en agar y microdilución en caldo como métodos de prueba. Ambos agentes inhibieron el crecimiento de todas las especies planctónicas. Por otro lado, la CHX exhibió menor cantidad de bacterias que el EEP frente a biopelículas de *A. actinomycetemcomitans*, *S. aureus* y *E. faecalis*, mientras que el EEP produjo un mejor resultado contra *Lactobacilli* y *P. intermedia*. Se encontró que las concentraciones

bactericidas y fungicidas de ambos agentes eran iguales contra el biofilms de *Streptococcus mutans*, *P. gingivalis*, *A. israelii* y *C. albicans*. En conclusión, el propóleo es más eficaz en la inhibición de bacterias Gram-positivas que de bacterias Gram-negativas en su estado planctónico y se sugirió que el EEP podría ser tan efectivo como CHX en microorganismos orales en su estado de biofilm.

Salazar y Zurita (2016) en Quito, presentaron esta investigación donde comprobaron la efectividad del uso del peróxido de hidrógeno (3% y 6%) como desinfectante para la prevención de enfermedades causadas por la contaminación del cepillo dental. El estudio se realizó en el lapso de un mes, a 45 residentes del Seminario Teológico Nazareno Sudamericano, comprendidos entre las edades de 20 a 50 años. Se formaron al azar tres grupos de quince integrantes. El primer grupo no desinfectó su cepillo dental; el segundo grupo lo desinfectó con H₂O₂ al 3% en la última semana del mes, durante las noches, después de su cepillado habitual; el tercer grupo desinfectó con H₂O₂ al 6% siguiendo el mismo procedimiento que el anterior. Se obtuvo que el 46% de los participantes del primer grupo presentaron colonias de microorganismos muy numerosos en su cepillo dental; el segundo grupo evidenció ausencia de crecimiento de microorganismos en el 50% de sus integrantes y el tercer grupo presentó ausencia de crecimiento de microorganismos en un 79% de los participantes. Se concluye que el peróxido de hidrógeno al 6% es efectivo y elimina todo microorganismo del cepillo dental en personas sin enfermedades sistémicas o bucales, ortodoncia, implantes o cualquier tipo de prótesis, a la vez que controla y disminuye la carga bacteriana en individuos comprometidos con lo antes mencionado, sin importar el género o la edad.

Assed *et al.* (2014) Publicaron este estudio donde investigaron la viabilidad de *Streptococcus mutans* (MS) en cerdas de cepillos de dientes y la producción de polisacáridos extracelulares (ECP) relacionados con el tiempo de secado. Veinte niños fueron sometidos a

cepillado sin dentífrico. Los cepillos de dientes se mantuvieron a temperatura ambiente de 0 a 48 horas y luego se sometieron a procesamiento microbiológico. El número de colonias/biopelículas MS se expresó de acuerdo con los puntajes: 0 = no se detectaron colonias; 1 = 1 a 50; 2 = 51 a 100; 3 = más de 100. La cantidad de ECP se evaluó de acuerdo con los puntajes: 0 = ausencia; 1 = ECP recuperándose hasta el 50% de la superficie; 2 = ECP recuperando más del 50% de la superficie. Los datos se analizaron mediante la prueba de Wilcoxon ($\alpha = 5\%$). Se halló que, en los períodos de 0 a 16 horas, los cepillos de dientes tenían una contaminación bacteriana intensa (puntuación 3). A partir de las 18 horas, hubo una disminución estadísticamente significativa en la viabilidad de la EM ($p = 0,0078$), con predominio de la puntuación 1 en períodos de 20 a 44 horas. La cantidad de ECP más detectada fue en el período de 0 y 12 horas ($P < 0.05$) con reducción hasta el período de 32 horas. Se concluyó que los *Streptococcus mutans* permanecieron viables en las cerdas de los cepillos de dientes, in vivo, durante 44 horas.

Peker *et al.* (2014) en Ankara, publicaron un estudio donde se evaluó la efectividad de los métodos alternativos para la desinfección del cepillo de dientes. Fueron incluidos doscientos ochenta cepillos de dientes los cuales se dividieron en 7 grupos y se contaminaron por suspensiones estandarizadas de *Lactobacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*), *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Escherichia coli* (*E. coli*). Se probaron los siguientes desinfectantes: Hipoclorito de sodio al 1% (NaClO), 100% y 50% de vinagre blanco, horno de microondas (MW), desinfectante ultravioleta (UV) y enjuague bucal que contiene propóleos (MCP). Los datos fueron analizados con las pruebas de Kruskal Wallis y Dunn. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre diferentes métodos y grupo control para todas las bacterias probadas. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos de prueba para todos los microorganismos. El horno microondas fue más eficaz para *L. rhamnosus*, el 100% de vinagre blanco fue el método más

efectivo para *S. mutans* y *S. aureus*, y el NaClO fue el más efectivo para *E. coli*. Se concluye que el 100% de vinagre blanco es más efectivo para la prueba de microorganismos. Del mismo modo, el 1% de NaOCl es rentable, de fácil acceso y comparativamente eficaz para la desinfección con cepillo de dientes. Debido a que estos agentes no son tóxicos, rentables y de fácil acceso, pueden ser apropiados para el uso doméstico.

Tomar *et al.* (2014) en Ankara, publicaron este estudio donde se evaluó la eficacia de la solución de gluconato de clorhexidina al 0.2% (CHX) y el desinfectante de cepillo de dientes ultravioleta (UV) para la desinfección del cepillo de dientes. Se distribuyeron cepillos de dientes a quince sujetos del estudio, que se seleccionaron al azar y que cumplieron con los criterios de estudio. A todos los participantes del estudio se les pidió cepillarse los dientes con el cepillo de dientes provisto. No se dieron instrucciones especiales con respecto a las técnicas de cepillado. Cepillos de dientes se recogieron después de 7 días. Todos los cepillos de dientes fueron asignados aleatoriamente a tres grupos. Los cepillos de dientes se sometieron a análisis microbianos y se evaluó el conteo bacteriano total. Los cepillos dentales asignados al Grupo I se remojaron en enjuague bucal CHX al 2% durante 12 h, el Grupo II se mantuvo en un soporte de cepillo de luz UV durante 7 min, y el Grupo III se remojó en solución salina normal durante 12 h. Todos los cepillos de dientes se sometieron a análisis microbianos y se determinó el recuento bacteriano medio. Hubo una diferencia estadísticamente significativa entre la pre-sanitización de conteo unitario formador de colonias promedio y la post-sanitización en todos los grupos, usando gluconato de CHX al 0.2%, rayos UV y solución salina normal ($P < 0.007$). Sin embargo, el conteo bacteriano promedio se redujo drásticamente después del tratamiento con rayos UV ($P = 0.001$). Se concluyó que la CHX, los rayos UV y la solución salina normal son efectivos en la reducción del recuento de bacterias en los cepillos de dientes, pero el tratamiento con rayos UV fue más efectivo, en comparación con CHX y solución salina normal.

Herrera, Caballero, Claro, Torres y Martínez (2012) en Medellín, publicaron este estudio para comparar la actividad antimicrobiana del ácido acético 5% con la del cepillo Colgate 360° antibacterial® como posibles estrategias en la desinfección del cepillo dental. Se utilizaron 48 cabezas de cepillos dentales que fueron inoculadas con *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* separadamente. Las cabezas fueron divididas en tres grupos: Cabezas tratadas con ácido acético 5% (vinagre blanco casero, La Constancia®) por 10 minutos, cabezas 360° con actividad antibacterial y controles tratados con solución salina. Posteriormente se hizo recuento de UFC/ml de los microorganismos remanentes en las cabezas de cepillos después del tratamiento o tiempo de acción. Se halló que frente a *S. aureus*, el cepillo Colgate 360° antibacterial® mostró mejor efecto antimicrobiano que el ácido acético 5% (PI:72,11%). Los dos tratamientos evaluados mostraron capacidad similar para eliminar *S. mutans* de las cabezas de cepillos ($p > 0,05$); mientras que para *C. albicans*, el mejor efecto antimicrobiano lo obtuvo el ácido acético 5% (PI:99,9%). Se concluye que el vinagre blanco de uso casero y el cepillo Colgate 360° antibacterial® eliminan microorganismos que colonizan cabezas de cepillos dentales como *S. aureus*, *S. mutans* y *C. albicans*, convirtiéndose en alternativas en diversas poblaciones para mantener el cepillo dental libre de microorganismos.

1.3 Objetivos

- Objetivo General

Evaluar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

- Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias.

- Determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 1% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias.
- Determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias.
- Comparar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 1% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias.
- Comparar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias.
- Comparar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 1% y el hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias.
- Comparar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el conteo de unidades formadoras de colonias.

1.4 Justificación

1.4.1 Justificación teórica. En vista de que el cepillo dental es uno de los instrumentos principales y necesarios que utilizamos para la limpieza y salud de nuestra cavidad bucal, el cuidado y limpieza de este, es sumamente importante, ya que en él se depositan y reproducen una variedad de microorganismos, sea esto por mantener contacto directo con la saliva, sangre, sarro, residuos alimenticios y restos de pasta dental. Generalmente las personas desconocen esta información y la serie de enfermedades que puede ocasionar si no se le da un

correcto manejo; dentro de las enfermedades infecciosas, la caries dental es la más prevalente y es considerada como el principal padecimiento odontológico.

1.4.2. Justificación práctica. Ante este problema es necesario que las personas conozcan esta información, tomen conciencia y aprendan a desinfectar adecuadamente el cepillo dental antes de ser usado, por ello en esta investigación se propone el uso de agentes químicos como el peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 1% y 2%, en cepillos dentales contaminados con *Streptococcus mutans*, estos agentes químicos tienen múltiples usos en el hogar, resultando accesible, económico y no tóxico a tales concentraciones, para de esta manera disminuir o eliminar dichos microorganismos patógenos que habitan en las cerdas de los cepillos dentales y así prevenir enfermedades bucales, en este caso como la caries dental, en familias en general, sobre todo en poblaciones de escasos recursos.

Este trabajo fue viable porque se dispuso de todos los recursos humanos y materiales para poder ejecutarlo.

1.5. Hipótesis

El peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 2% presentarían mayor eficacia frente al hipoclorito de sodio al 1% en la desinfección de cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

II. Marco Teórico

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

En 1674 Antony van Leewenhoek, considerado el padre de la microbiología, observó en la saliva microorganismos a los que llamó animálculos; por lo que también es considerado el padre de la microbiología oral (Negroni, 2009).

2.1.1. Bacterias.

Las bacterias pertenecen al Reino Procariota por lo que presentan una estructura celular simple y sin membrana nuclear. Integran el Dominio Bacteria. Son de vida libre porque pueden crecer sin el auxilio de un organismo superior. Se reproducen por división simple o fisión binaria; y cada célula es fisiológicamente independiente, es decir, son unicelulares (Negroni, 2009).

La mayoría de las especies bacterianas clínicamente tienen un tamaño que varía de 0.25 a 1µm de ancho y de 1 a 3µm de longitud, por lo se requiere microscopios para su visualización. Las morfologías celulares bacterianas comunes incluyen cocos, cocobacilos y bacilos, además de formas fusiformes, curvas o espiraladas. Pueden aparecer con patrones característicos, ya sea en forma individual, en pares, en tétradas, en racimos o en cadenas (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Las bacterias, como todos los seres vivos, contienen casi el 70% de agua y 30% de sustancias que forman su peso seco, dentro de ellas las de mayor proporción son las proteínas; también hay ácidos nucleicos, DNA y RNA, lipopolisacáridos, fosfolípidos y otros elementos inorgánicos (Negroni, 2009).

Todas las funciones de las bacterias tienen lugar en el citoplasma o la membrana citoplasmática de su célula. La estructura importante presente sólo en las células bacterianas es una pared celular compuesta por péptidoglucano, la cual tiene un impacto

inconmensurable en la práctica de la bacteriología diagnóstica y en el tratamiento de las enfermedades bacterianas (Forbes *et al.*, 2009).

- La pared celular. Es la que separa a las bacterias en dos tipos generales: Grampositivas, que se tiñen de un color azul oscuro, y gramnegativas, que se tiñen de un color rosa a rojo. La diferencia notable entre estas bacterias es que la capa de peptidoglucano de las grampositivas es mucha más gruesa. Estas macromoléculas de peptidoglucano, son las que le otorgan a la célula la forma y la rigidez necesaria para que resista los cambios de las presiones osmóticas ambientales, esta estructura es esencial para su supervivencia, desarrollo y el diseño de diversos agentes antimicrobianos (Forbes *et al.*, 2009).
- Membrana externa. Sólo en bacterias gramnegativas y actúan como la barrera inicial de la célula contra el ambiente, barrera de permeabilidad contra los componentes hidrófilos e hidrófobos, retiene las enzimas esenciales y otras proteínas localizadas en el espacio periplasmático, está compuesta por lipopolisacáridos que otorga a la superficie de la bacteria una carga neta negativa lo cual da en ciertas bacterias la capacidad de causar enfermedades (Forbes *et al.*, 2009).
- Periplasma. Sólo en las bacterias gramnegativas y está limitado por la superficie interna de la membrana externa y la superficie externa de la membrana celular, está constituido por sustancias similares a un gel que ayudan a captar nutrientes del ambiente, también este espacio contiene varias enzimas que degradan moléculas y ejecutan un proceso de neutralización o eliminación de efectos tóxicos sobre solutos del ambiente, incluidos los antibióticos (Forbes *et al.*, 2009).
- Membrana citoplasmática o celular. Está presente tanto en las bacterias grampositivas y gramnegativas, es la capa más profunda de la envoltura celular en cuyo interior se encuentra el citoplasma, esta bicapa lipídica se une de modo firme con varias

proteínas y constituye una barrera osmótica adicional a la membrana citoplasmática (Forbes *et al.*, 2009).

- Apéndices celulares. Componentes además de la envoltura propiamente dicha, como: La cápsula, que protege a las bacterias del ataque de las células del sistema inmunitario humano; las fimbrias o pili, que ayudan a que las bacterias se adhieran a la superficie de las células huésped de origen animal, y sirven como un canal para el pasaje del DNA del donante al receptor durante la conjugación; y los flagelos que se encargan de la movilidad de la célula (Forbes *et al.*, 2009).
- Interior de la célula. Las estructuras y las sustancias limitadas por la membrana citoplasmática componen el interior de la célula e incluyen el citosol, que contiene miles de enzimas y es el sitio de las síntesis de proteínas; el aspecto granular lo dan los polisomas y las inclusiones, que son gránulos de almacenamiento de las reservas, como el glucógeno y el polifosfato; el nucleoide, en el cual el DNA muy enrollado está entremezclado con RNA, poliaminas y diversas proteínas que proporcionan sostén estructural; los plásmidos, son los otros elementos genéticos que existen en forma independiente en el citosol; y las endosporas (Forbes *et al.*, 2009).

2.1.1.1. Bacterias de la cavidad bucal.

Las morfologías bacterianas que prevalecen en la cavidad bucal de las personas sanas consisten en diversos tipos de estreptococos, variados bacilos (especialmente del tipo de los filamentosos) y diplococos. Estas se dividen en bacterias gramnegativas que se encuentran reubicadas en cinco phylum con sus respectivos géneros y especies (*Phylum bacteroidetes*, *Phylum spirochaetes*, *Phylum synergistes*, *Phylum proteobacterias* y *Phylum chlamidia*). Y en bacterias grampositivas que se reagruparon de la misma manera (*Phylum Firmicutes*, *Phylum actinobacteria*, *Phylum fusobacteria*, *Phylum deinococcus-thermus* y *Phylum acidobacteria* (Negroni, 2009).

El *Phylum Firmicutes* es el que predomina en las biopelículas de la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes a él, son de mayor interés en la etiopatogenia de caries dental y enfermedades periodontales. Se dividen en dos clases: Bacilli y Clostridia. La Clase Bacilli (aerobios) que se divide en la Familia Bacillales, donde encontramos al *Filifactor alocis*; es un bacilo, relacionado con periodontitis crónica y con conductos radiculares infectados; al *Staphylococcus aureus* que puede estar asociada a infecciones endodónticas, periodontales, periapicales e infecciones supurativas de las glándulas salivales, debajo de las prótesis y en pacientes inmunocomprometidos y al *Stomatococcus mucilaginosus*. Y la Familia Lactobacillales, donde tenemos a los estreptococos, los cuales constituyen el grupo más numeroso en la cavidad bucal, la mayoría de ellos son estreptococos de los grupos *salivarius*, *mutans*, *anginosus sanguinis* y *mitis* los que son considerados alfa-hemolíticos (Negroni, 2009).

- *Streptococcus mutans*.

Es un coco Gram positivo, en cadena, inmóvil, catalasa negativo, productor de ácido láctico y con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2, en un tiempo de 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Generalmente, no desamina la arginina para producir amoníaco. Comúnmente no producen ni hemólisis ni decoloración y es principalmente alfa o gamma hemolítico, en agar sangre de cordero. Su hábitat natural es la boca humana y las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente e igualmente en las lesiones cariosas (Ojeda, Oviedo & Salas, 2013).

Con base en la composición y los enlaces de los polisacáridos de la pared celular, los estreptococos del grupo mutans se pueden clasificar en 8 serotipos: *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f, k), *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g), *Streptococcus cricetus* (serotipo a), *Streptococcus rattus* (serotipo b), *Streptococcus ferus* (serotipo c), *Streptococcus*

macacae (serotipo c) y *Streptococcus downei* (serotipo h). Se sabe que el serotipo c del *Streptococcus mutans* es el tipo predominante en la cavidad oral humana más que las cepas d, e, f y k (Nakano, Nomura & Nakagawa, 2004).

Los polisacáridos de la pared celular juegan un papel importante en la colonización de sus nichos ecológicos. Las diferencias en la afinidad para la unión de los antígenos de polisacáridos a los tejidos humanos pueden ser la causa de esta distribución tan variada (Shibata, Ozaki, Seki, Tanaka & Nakano, 2003).

Los factores de virulencia del *Streptococcus mutans* y su correlación con la biodiversidad de especies, es la base para comprender, el papel que juega en la colonización por los diferentes genotipos en el mismo individuo y la expresión de las características que puedan o no influir su capacidad de virulencia y su habilidad para sobrevivir sometido a diversas condiciones ambientales (Ojeda, Oviedo & Salas, 2013).

La evidencia indica que una forma importante de transmisión de *Streptococcus mutans* durante los primeros años de vida es la transmisión vertical, que se produce de madre a hijo por contacto directo, mientras que la transmisión horizontal se da con el contacto con otros familiares. Una característica importante es la persistencia de sus genotipos en la cavidad oral de adultos, adolescentes y niños mayores de cinco años. Este fenómeno es conocido como persistencia “intraindividual” y revela la relativa estabilidad que estos alcanzan en un hospedador y la relación con la expresión de características fenotípicas que les pueden dar ventajas para la supervivencia. Se ha observado que los niños albergan de uno a cinco genotipos diferentes de *Streptococcus mutans* en diferentes edades. Su diversidad se da en cuatro sitios de muestreo (saliva, dorso de la lengua, mucosa alveolar y biopelícula dental) que, en niños, parece ser homogénea; sin embargo, la biopelícula dental es un lugar muy importante dado el gran número de genotipos y las cepas aisladas (Berkowitz, 2006; Napimoga, Höfling, Klein, Kamiya & Goncalves, 2005).

Las cepas de *Streptococcus mutans* son fenotípicamente homogéneas. Sin embargo, recientes investigaciones han revelado un gran nivel de la heterogeneidad serológica, genética y bioquímica. La heterogeneidad también se observa a nivel de enzimas producidas por sus diferentes especies tales como las deshidrogenasas, glucosiltransferasas, aldolasas e invertasas (Rupf *et al.*, 2008).

Los *Streptococcus mutans* tienen la capacidad de adherirse a superficies, establecer uniones con otros estreptococos y con bacterias de otras especies. Muchas de sus cepas se aglutinan (adherencia homóloga) por la adición de dextranos de alto peso molecular. También se ha reportado que ciertas cepas forman agregados con *Nocardia*, *Neisseria* al igual que con *Candida albicans* (adherencia heteróloga). Estos procesos son complejos e implican una variedad de componentes bacterianos y de factores externos como la dieta especialmente el consumo de sacarosa que puede influir también en la proporción de las distintas especies bacterianas que constituyen la película, la cual es fermentada por *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*, produciendo un entorno acidogénico favorable para ambos (Martínez y Rodríguez, 2009; Linossier, Vargas, Villegas y Chimenos, 2002).

- Medio de cultivo.

El medio para el aislamiento y cultivo de numerosos microorganismos se da con la adición de sangre; el medio de cultivo agar sangre por lo tanto es útil para estos procesos. También se puede usar como un medio base para preparar el medio agar chocolate. El agar sangre aporta varios factores de enriquecimiento. Observando los halos hemolíticos alrededor de las colonias se determina el tipo de hemólisis que tiene. Alfa, halos verdosos; beta, halos incoloros; gamma, inexistencia de halos (Laboratorios Britania S.A, s.f.).

Las colonias que se observan son pequeñas, esféricas u ovoides, de color gris, aisladas, en parejas o en cadenas (“Prácticas de Microbiología Clínica”, s.f.).

- Método de enumeración.

Existen diversos métodos para enumerar microorganismos en muestras de muy diferente origen. Cada método tiene sus peculiaridades a la hora de transformar los datos obtenidos en una densidad microbiana de la muestra estudiada, bien sea Unidades Formadoras de Colonias, Microorganismos Totales, etc. Un método sencillo para la enumeración de bacterias y hongos se basa en la cuantificación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mililitro (mL.) o gramos (g.) de muestra. Debe tenerse en cuenta que el número de placas sembradas por dilución suele ser 3 ó 5 (Arana, Orruño y Barcina, 2012).

$$\text{UFC/mL} = \text{A colonias enumeradas (media)} / \text{B mL sembrados} * \text{factor de dilución}$$

La utilización de agujas o asas calibradas permite tomar volúmenes pequeños, que son inoculados en la superficie del agar mediante la técnica de siembra masiva. Las colonias son contadas y se multiplican por el factor de dilución del asa empleada. El uso más frecuente de este método es en el urocultivo. Se determinan las UFC/g o mL. de muestra (“Medición del crecimiento microbiano”, s.f.).

$$\text{UFC/mL} = \text{colonias enumeradas (media)} * \text{factor de dilución del asa empleada en mL.}$$

2.1.2. Caries dental.

Negroni (2009) refiere que la etiopatogenia de la caries dental fue propuesta por W. Miller en 1882; el cual refiere que el factor más importante en la patogenia de la enfermedad era la cantidad de bacterias bucales capaces de producir ácidos a partir de los hidratos de carbono de la dieta.

En forma teórica y experimental, la etiopatogenia de la caries obedece a la interacción simultánea de tres elementos o factores principales conocida como la tríada de Keyes: Un factor microorganismo que en presencia de un factor sustrato logra afectar a un factor diente (Negroni, 2009).

Si los factores principales confluyeran sólo durante un periodo muy breve, la enfermedad cariosa no se produciría; es por eso que se ha agregado el tiempo en la interacción de éstos, como también diversas variables e interrelaciones que modifican este proceso llamados factores de riesgo (Negroni, 2009).

En los años sesenta, el modelo de investigación dominante es el representado por Pooper, basado en el empirismo y el positivismo. A partir de este modelo surge la teoría de Fitzgerald y Keyes, quienes, al experimentar con animales, trabajando con una cepa de *Streptococcus mutans*, concluyen que la caries dental es una enfermedad infecciosa de naturaleza multifactorial, ya que cumple con los postulados de Koch-Henle, los cuales se basan en la presencia de un microorganismo específico asociado con la enfermedad (Negroni, 2009).

“S. Falkow propuso una versión molecular de los postulados de Koch-Henle donde sostuvo que era necesaria la presencia de un gen en las bacterias causantes de una enfermedad infecciosa, que no está presente en las avirulentas” (Negroni, 2009, p. 249).

Se asocia al *Streptococcus mutans* y la enfermedad caries dental, con tanto valor, pero se pone en dudas su papel como agente etiológico, ya que, si este microorganismo forma parte del microbiota encontrado, puede estar presente sin que se desarrolle la lesión cariogénica (Negroni, 2009).

La caries dental se define como una enfermedad infecciosa, compleja, transmisible y multifactorial, en la que un gran grupo de factores biológicos, socio-económicos y culturales interactúan, directa o indirectamente en el mantenimiento y desarrollo de los microorganismos cariogénicos de la biopelícula dental. Daña a la estructura dura de las piezas dentarias y se caracteriza por su desintegración molecular, localizada y progresiva que lleva a una lesión irreversible (Negroni, 2009).

Los factores que participan en el proceso salud/enfermedad del hospedador son los socioeconómicos, culturales y el estilo de vida, los cuales no solo condicionan hábitos

dietéticos, de higiene oral y de frecuencia y tipo de atención odontológica, sino que además situaciones de estrés. También participa la cantidad y calidad de la saliva, las cuales se ven alteradas por el consumo de drogas antihipertensivas, anticolinérgicas o sedantes, produciéndose xerostomía o hipofunción de las glándulas salivales (Negroni, 2009).

La interacción entre la dieta y la caries dental constituye un aspecto de importancia trascendental, ya que los alimentos son la fuente de los nutrientes necesarios para el metabolismo de los microorganismos. No hay ninguna evidencia de producción natural de caries sin la presencia de carbohidratos en la dieta. A esto debe agregarse que la placa o biofilm expuesto a azúcares produce un descenso del pH que es necesario para la descalcificación del esmalte (Negroni, 2009).

La sacarosa es el sustrato para el metabolismo bacteriano. Incluye tres etapas fundamentales:

- Producción de ácidos. Gran parte de la sacarosa que ingresa en la cavidad bucal es utilizada como fuente energética por los microorganismos. Dentro de las células la sacarosa es desdoblada por la acción de la enzima invertasa, luego es fosforilada y por último por la vía del ciclo Embden-Meyerhof-Parnas se convierte en lactato y pequeñas cantidades de formiato, acetato y etanol (Negroni, 2009).
- Polisacáridos extracelulares. Antes de que la sacarosa penetre en la célula un porcentaje de ella es transformado por exoenzimas de *Streptococcus mutans* que la rompen y transfieren cada fracción hexosa a una molécula receptora y forman polímeros que se difunden en el medio vecino o permanecen asociados con la célula (Negroni, 2009, p.250).
- Polisacáridos intracelulares. “Una vez que la glucosa o la fructuosa penetran en la célula, su destino es ser catabolizadas por la vía glucolítica” (Negroni, 2009, p.251).

Entre los factores de virulencia del *Streptococcus mutans* destacan: a) Acidogénesis, rápidamente se metabolizan los azúcares por la vía glicolítica, así se alcanza el pH crítico de desmineralización de 4,5-5,5. b) Acidofilia, la acidificación del biofilm, producto de la fermentación de carbohidratos, favorece el crecimiento de *Streptococcus mutans* y al mismo tiempo inhibe el de microorganismos comensales como *S. sanguinis*, *S. gordonii* y *S. oralis*, esta situación es posible gracias a la presencia de la bomba traslocadora de protones que posee el *Streptococcus mutans* en su membrana celular. Sólo él puede producir ácidos, a partir de la fermentación de los azúcares, a pH 4,4, desarrollar pH 4,8 y sobrevivir bajo estas condiciones de estrés al percibir rápidamente los cambios ambientales, lo que le permite modificar su fisiología. c) Síntesis de polisacáridos extracelulares. d) Síntesis de polisacáridos intracelulares. e) Síntesis de proteínas, lectinas, que ligan el glucano. f) Adhesinas. g) Proteína asociada a la pared celular y g) Bacteriocinas (Negroni, 2009).

Para iniciar el proceso carioso la presencia de carbohidratos fermentables en la dieta no es suficiente, sino que además estos deben permanecer durante un tiempo determinado en la cavidad bucal. El tiempo de desmineralización del esmalte por la ingesta de soluciones azucaradas se estima en aproximadamente veinte minutos y corresponde a la recuperación del pH por sobre el nivel crítico de disolución del cristal de apatita (Negroni, 2009).

Los microorganismos acidogénicos comienzan a habitar en la cavidad bucal desde los primeros meses de vida del individuo. Esta colonización tiene un momento clave que se inicia en el decimonoveno mes de vida y que se prolonga hasta los treinta y un meses; llamado, ventana de la infección, por Newbrum, un periodo durante el cual el niño es inoculado por las cepas de *S. mutans* de su madre. La inoculación podría relacionarse con la erupción de los primeros molares temporarios, lo que les dota de superficies oclusales retentivas para la colonización. Otra circunstancia, como un consumo excesivo de azúcares o el contacto frecuente con personas portadoras de microorganismos cariogénicos, establecen

un factor inicial para que el niño adquiriera la biota cariogénica aún antes de los 19 meses de vida (Negroni, 2009).

La formación de la biopelícula dental y su sistema de quórum sensing son elementales en la vida bacteriana del *Streptococcus mutans*. La superficie dental es un hábitat natural esencial y el tropismo por la biopelícula dental se refleja por su adaptación a sintetizar glucanos, fijar compuestos y a adaptar su aciduricidad. La competitividad por este nicho ecológico está en relación con un sistema de regulación de un proceso denominado Respuesta de Tolerancia al Ácido (RTA) dependiente de la densidad celular. Este proceso de RTA forma parte de los sistemas de señalización de quórum sensing desarrollado por algunas bacterias al formar la biopelícula, es por ello que el *Streptococcus mutans* ha evolucionado para que su desarrollo, sobrevivencia y persistencia en la cavidad bucal dependa de su crecimiento en biopelícula y de la densidad celular que alcance en ella (Ojeda *et al.*, 2013).

2.1.3. Cepillos dentales.

La higiene oral se inició en el año 3000 a. C por los sumerios, pero se considera que los chinos crearon el cepillo de dientes, en sus escrituras refieren que las personas masticaban palos hechos de ramas o raíces para la higiene dental (Lindhe, 2009; Ankola & Hebbal, 2009).

El crédito de la investigación del cepillo dental moderno se atribuye a los chinos durante la dinastía Tang (618-907 d. C.), utilizaban cerdas de porcinos parecidos a las de los modelos contemporáneos. Se patentó por primera vez en América en 1857 (Newman *et al.*, 2010).

En 1900 el celuloide empezó a sustituir al mango de hueso y se empezaron a usar cerdas de nylon. En el año 1938 se dio a conocer los filamentos de nylon, por las limitaciones en la importación de cerdas de jabalí durante la Segunda Guerra Mundial (Lindhe, 2009).

En 1780, en Inglaterra, William Addis produjo un tipo de cepillo dental, uso el hueso como elemento para formar el mango y en éste realizó hoyos para instalar las cerdas de

porcino, éstas se las sujetó con alambres; fue considerado el primer cepillo dental (Echevarría, 2008).

Se creó un cepillo dental con dos puntas: una para la limpieza general y la otra para la higiene de las superficies linguales de los dientes, atribuido a Isaac Greenwood y George Washington. En la antigüedad era común limpiarse las superficies dentales con una pluma de ave o limpia dientes de bronce o plata. Los romanos tenían un método más antiguo para la higiene dental, ellos sólo usaban tela. Y en el siglo XVII se usó un cepillo dental muy similar al que usamos hoy en día (Herazo, 2012).

Pérez, Limeres y Fernández (2012) lo consideran un instrumento mecánico utilizado para la limpieza bucal, ayuda en la remoción y la eliminación de placa bacteriana, no ocasiona daños en tejidos blando, ni duros.

Andrade (2008) nos indica que la efectividad del cepillo dental, depende en primer lugar del tiempo de cepillado de cada persona y de las técnicas con las que lo realice.

La Federación Dental Internacional define al cepillo de dientes como una ayuda de la higiene bucal que está conformado por una cabeza con cerdas y un mango para limpiar las superficies del diente. Por lo tanto, el cepillo dental se define como un instrumento mecánico empleado para una correcta limpieza bucal, consta de un mango y una cabeza la cual posee las cerdas, estas permiten movimientos de barrido o de vibración para eliminar restos de alimentos o placa dental tanto de los dientes y de las encías. Tradicionalmente se emplean más cepillos dentales sólo de uso manual, aunque en los últimos años ya se han creado cepillos eléctricos que también son muy útiles (Herazo, 2012).

La Asociación Dental según Carranza establece que la longitud de cepillos dentales es de 25.4 a 31.8mm, 2 a 4 hileras de cerdas y el ancho es de 7.9 a 9.5mm, 12 penachos por hilera (Newman, Takei, Klokkevold y Carranza, 2010).

Las cerdas de los cepillos dentales son filamentos fabricados de poliéster y nylon; como también pueden ser de nylon copolímero, polipropileno, polietileno de alta densidad. Pueden medir alrededor de 10 a 12mm de largo, el extremo libre es redondeado, con un diámetro aproximado de 0.009 pulgadas en los cepillos para adultos (De Rojas y Fuenmayor, 2009; Herazo, 2012).

Cada cepillo dental consta de un mango y de una cabeza con cerdas, al conjunto de cerdas se las designa como penachos. Los cepillos dentales son fabricados en diferentes tamaños: grandes, medianos y pequeños (Villacis, 2016).

La acción de retirar o remover la placa bacteriana, residuos alimentarios, así como también el aseo de la lengua y cuidado de tejidos blandos, se considera o define higiene bucal. Esta también es muy importante para impedir que la caries dental se establezca (Herazo, 2012).

Otra función es que ayuda en la prevención de enfermedades gingivales y periodontales que son las alteraciones más importantes que se pueden dar a nivel de la cavidad bucal (Aguirre, 2013).

Para mantener una correcta higiene bucal se pueden utilizar algunos medios de mecanismo físico como el cepillo dental, y de mecanismo químico como los dentífricos y enjuagues bucales (Castro *et al.*, 2008).

Día a día la higiene bucal se convierte en un factor clave para un individuo. Las enfermedades bucales se controlan minimizando la cantidad de microorganismos en la cavidad bucal y esto se puede lograr mediante el mantenimiento de una higiene bucal adecuada. Los cepillos de dientes por el uso diario pueden estar muy contaminados con microorganismos, que son principalmente dependientes de las condiciones de almacenamiento (Villacis, 2016).

Los cepillos dentales se pueden contaminar de la cavidad bucal. La Asociación Dental Americana (ADA) recomienda cambiar los cepillos de dientes una vez cada 3 meses. Estudios previos han sugerido que los pacientes con enfermedades sistémicas o con trasplante de órganos o que se sometan a quimioterapia, deben cambiar sus cepillos de dientes con más frecuencia. La ADA sugiere remojar los cepillos de dientes usados en los enjuagues bucales antimicrobianos para los pacientes en grupos de alto riesgo (Basman *et al.*, 2016).

De preferencia se debe usar cepillos de mango recto, cabeza pequeña, de filamentos sintéticos con puntas redondeadas y así evitar lesiones gingivales. También es aconsejable usar cepillos de cerdas suaves o medias para tener un mayor acceso a las partes del diente. Un cepillado eficaz se logra cuando el cepillo dental está seco antes del uso, es decir no debe mojarse (Higashida, 2009).

El uso prolongado del cepillo de dientes facilita la contaminación por diferentes microorganismos como *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Lactobacilos*. Estos microorganismos pueden permanecer viables en el cepillo de dientes por períodos que van desde las 24 horas hasta 7 días (Villacis, 2016).

Estudios han demostrado que una gran cantidad de microorganismos pueden crecer en los cepillos de dientes después de su uso; así sea después de enjuagarlos con agua, pueden quedar contaminados con bacterias que pueden ser perjudiciales para la salud bucal, así generando problemas de salud general. La contaminación que se genera en estos instrumentos orales, está causando también porcentaje elevado de caries dental y enfermedad periodontal, lo que afecta la calidad de vida de los individuos (Contreras *et al.*, 2002).

Se le ha dado muy poca importancia a la desinfección de los cepillos dentales ya que tan solo se los considera como un instrumento ya sea para el control de caries así como también para la eliminación de restos de partículas de alimentos y para un control de la placa bacteriana que se forma, si los cepillos están contaminados podrían ser considerados como

fuentes potenciales de microorganismos, los mismos que tendrán el potencial de causar alteraciones en la salud de los usuarios (Ankola & Hebbal, 2009).

Después de cada uso, el cepillo debe ser lavado con agua para poder eliminar restos o pasta de las cerdas, consecuentemente el mango del cepillo será sacudido contra el lavado para eliminar el agua restante. El cepillo deberá ser colocado en forma vertical en un lugar abierto porque se podrá secar con más facilidad y evitar el crecimiento de microorganismos (Aguirre, 2013).

A través de los años, numerosos métodos de desinfección del cepillo de dientes se han propuesto, como la exposición a la luz ultravioleta y microondas, y la inmersión en diferentes soluciones antimicrobianas (Villacis, 2016).

2.1.4. Desinfectantes.

2.1.4.1. Hipoclorito de sodio.

Hacia el año de 1792 se definía al hipoclorito de sodio como compuesto halogenado, también se le conocía con el nombre de Javele. Labarraque fue un químico francés que produjo el hipoclorito de sodio a un porcentaje de 2.5%, el que se usaba exclusivamente como antiséptico de heridas (Rivas, 2011).

Es considerado como un desinfectante universal, actúa contra una gran diversidad de bacterias, hongos, etc. Cumple con una función la cual es ser un gran bactericida, aunque también es inestable sobre todo en presencia de luz y elevadas temperaturas disminuyendo así su eficacia. Es muy usado para el lavado de instrumentales ya que elimina sustancias corporales, no permite que se cumpla la acción patógena de éstas (Sánchez, Furuya, Padilla, Gómez y Gómez, 2009).

La ADA ha determinado al hipoclorito de sodio como un antiséptico muy alcalino que posee un olor muy potente; es una sustancia clara o incluso entre verde y amarillo. Es un gran antimicrobiano, elimina toda sustancia necrótica. Henry Dakin, recomendó al hipoclorito de

sodio como una sustancia para lavar las heridas en los años de la Primera Guerra Mundial. Después de unos años el mismo autor fue creador de esta solución a una concentración del 0.5% especialmente en tratamientos endodónticos, desde ahí esta solución ha sido la más usada (Villacis, 2016).

Tiene la capacidad de dispersarse muy rápido por cualquier superficie con la que está en contacto, así esta sea de una consistencia dura. En este caso el hipoclorito de sodio puede penetrar por todos los espacios del cepillo dental, esta es una propiedad llamada baja tensión superficial. Es un neutralizante muy fuerte e importante, permite eliminar todo elemento o sustancia tóxica o patológica, muy usado en la Odontología como en limpieza de prótesis dentales. Antifúngico, al contener oxígeno y cloro acabará con la gran mayoría de microorganismos, estos elementos son los mejores y algunos de los más fuertes. Puede eliminar bacterias y hongos (Villacis, 2016).

Una de las mejores propiedades que posee es ser una sustancia alcalina, funciona con un pH alcalino y no permite el desarrollo bacteriano (Fruttero, 2003).

Excelente mecanismo de acción antimicrobiano, eliminan toda sustancia tóxica, es muy económico, mecanismo de acción rápida, bajo nivel de efectos secundarios, muy utilizado como desinfectante de cualquier superficie y usado en odontología para la desinfección de prótesis dentales (Villacis, 2016).

A porcentajes de concentraciones más elevados puede ocasionar alteraciones a nivel ocular y esofágico, ocasiona daños a los metales (corrosión), se puede convertir en un tóxico al mezclarlo con ácidos o incluso amoníaco, cambia la coloración de algunos tejidos (Selva, 2012).

En una investigación hecha por Cunningham cuando se somete al hipoclorito de sodio a una temperatura disminuida como 21°C su eficacia disminuye claramente. Este antiséptico puede ser degradado no sólo por altas temperaturas sino también por la luz, metales y algunos

contaminantes orgánicos. Es decir, esta sustancia puede perder su estabilidad (Fruttero, 2003).

Se le denomina NaClO por la unión de dos elementos químicos como son: hidróxido de sodio y ácido hipocloroso que dan como resultado una sal. Para mantener su estabilidad necesita que el pH se mantenga más estable a un pH de 8, aunque también actúa muy bien a un pH neutro, y evitar que se exponga a la luz porque se degrada con más facilidad a una dilución menos concentrada; por tanto se los debe guardar en envases oscuros, que no tengan ninguna sustancia orgánica y a un pH de 8 (Vignoli, 2002).

El personal que manipule la sustancia debe usar guantes, tapabocas y lentes protectores como norma de seguridad y prevención. En caso de irritación se recomienda lavar con abundante agua en el área afectada (Villacis, 2016).

2.1.4.2. Peróxido de hidrógeno.

De las técnicas de hiperoxigenación usada en Estados Unidos, el peróxido de hidrógeno es por el momento una de las más usadas. Es un remedio que ocurre en la naturaleza, interactúa con el ozono en la atmósfera, recoge un átomo añadido y cae a la tierra como lluvia la cual contiene una gran cantidad de H₂O₂. Otras fuentes naturales son los alimentos de origen vegetal fresco como frutas, verduras, pastos nutricionales y especialmente plantas y hierbas silvestres, hígado de mamíferos y pescados y la leche materna, especialmente el calostro. Una fuente natural de gran concentración de peróxido de hidrógeno son las famosas aguas sanadoras de Lourdes, Francia (Pitchford, 2007).

Puede prepararse en el laboratorio tratando el peróxido de bario con una disolución acuosa de ácido sulfúrico. El sulfato de bario insoluble se elimina por filtración y el resultado es una disolución de peróxido de hidrógeno que puede concentrarse al 30% mediante una destilación cuidadosa a presión atmosférica. Una destilación a presión reducida produce el peróxido de hidrógeno al 98% (Daub y Seese, 1996).

El peróxido de hidrógeno puro es un líquido oleoso, azul pálido e inodoro que se descompone con facilidad para formar agua y oxígeno. Uno puede ver el desprendimiento de oxígeno en forma de burbujas cuando se utiliza como antiséptico y se pone en contacto con una herida. Debido a que su descomposición puede acelerarse por medio del calor o de la luz, se vende en las farmacias almacenado en frascos de color ámbar y se mantiene en un lugar relativamente frío. Para prevenir su descomposición, con frecuencia se agrega a la disolución de peróxido de hidrógeno un estabilizante. Otras sustancias catalizan con facilidad su descomposición, por ejemplo, la plata, el carbono, el óxido de manganeso, la saliva, la suciedad y una enzima presente en la sangre (Daub y Seese, 1996).

Tiene un papel vital en el organismo, y es esencial para el metabolismo de proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y otros nutrientes. Los nutrientes necesarios para la salud pueden normalmente obtenerse de alimentos integrales, no procesados, sobre todo durante una crisis de salud los productos concentrados pueden necesitarse (Pitchford, 2007).

Se utilizan principalmente como antisépticos y agentes blanqueadores. Una disolución al 3% se utiliza como antiséptico y las que tienen concentraciones ligeramente mayores (de 6 a 30%) se utilizan como agentes blanqueadores para la ropa, la seda, la paja, la harina y el pelo. Una disolución al 90% se ha empleado como combustible en la propulsión de cohetes. También se ha utilizado una disolución compuesta por una mitad de peróxido de hidrógeno al 3% y otra mitad de agua caliente para hacer gárgaras en caso de inflamación de la garganta (Daub y Seese, 1996).

Max Gerson, encontró en sus pacientes con cáncer avanzado, que ciertos suplementos de vitaminas y minerales deterioraron la condición, posiblemente a causa de la energía requerida para el metabolismo de estas sustancias. A comparación el peróxido de hidrógeno parece promover energía. Esto podría deberse a su característica para destruir microorganismos que absorben la energía debido a infecciones y a bajas temperaturas en el cuerpo; puede ser que

H_2O_2 sea uno de los factores metabólicos deficientes cuando se sufre de enfermedades crónicas. Se debe tener en cuenta que en exceso puede inhibir los sistemas de enzimas y ocasionar una precipitación de radicales libres que afecten la inmunidad y dañen algunas estructuras celulares (Pitchford, 2007).

Concentrado puro es estable. Sin embargo, los preparados comerciales se deben estabilizar; por lo general se agrega un preservador, por ejemplo, acetanilida. Se suelen agregar trazas de ácido mineral, por ejemplo, ácido fosfórico, dado que la estabilidad aumenta en medio ácido. Se vende en soluciones al 3, 6, 30, 70 y 90%. La concentración también se expresa en fuerza de volumen, el volumen de gas de oxígeno liberado de un volumen de solución; volumen 10 es 3% (Gennaro, 2003).

III. Método

3.1 Tipo de investigación

Experimental, Transversal y Prospectivo.

- Experimental: El investigador manipuló intencionalmente las variables independientes para demostrar sus efectos sobre la variable dependiente (Hernández, 2014).
- Transversal: La recolección de datos se dio en un determinado momento (Hernández, 2014).
- Prospectivo: Se registraron los datos a medida que fueron sucediendo los hechos (Hernández, 2014).

3.2 Ámbito temporal y espacial

3.2.1 Ámbito temporal

Se efectuó desde setiembre hasta diciembre del 2018

3.2.2 Ámbito espacial

Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNFV.

3.3 Variables

3.3.1 Dependiente.

Efecto antibacteriano sobre cepillos dentales.

3.3.2. Variables independientes.

- Peróxido de hidrógeno aplicado.
- Hipoclorito de sodio aplicado.

3.3.3 Operacionalización.

VARIABLES	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADORES	ESCALA	VALOR
DEPENDIENTE Efecto antibacteriano sobre cepillos dentales.	Capacidad de eliminar, inactivar e inhibir el crecimiento o proliferación de agentes patógenos.	Sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por ml.	Razón	UFC/mL
INDEPENDIENTES Peróxido de hidrógeno aplicado.	Único germicida biodegradable que disminuye la carga microbiana.		Concentración del Peróxido de hidrógeno Concentración del Hipoclorito de sodio	Nominal	6%
Hipoclorito de sodio aplicado.	Desinfectante universal, actúa contra una gran diversidad de bacterias, hongos, etc.				1% 2%

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

Cepillos dentales inoculados con cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

3.4.2 Muestra

El tamaño de muestra fue determinado por la fórmula de comparación de medias, después de realizar un estudio piloto, donde se utilizó 20 cepillos dentales, 5 por cada grupo (H₂O₂ al 6%, NaClO al 1% y 2% y agua destilada), y se calculó la desviación estándar (S₁=0.3 y S₂=0.0). Por lo tanto, el tamaño de muestra fue de 15 cepillos por cada grupo que fueron seleccionados por muestreo aleatorio simple.

3.4.3 Criterios de selección.

3.4.3.1 Criterios de inclusión.

- Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- Solución de peróxido de hidrógeno al 6%
- Solución de hipoclorito de sodio al 1%
- Solución de hipoclorito de sodio al 2%
- Cepillos dentales estériles.

3.4.3.2 Criterios de exclusión.

- Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que estén contaminadas.
- Cepillos dentales que contengan agentes antibacteriales.

3.5 Instrumentos

- Placas Petri
- Jarra Gaspak
- Tubos de ensayo de vidrio 20 x 150mm
- Mechero
- Gradilla
- Vasos precipitados
- Frascos de vidrio
- Asa de inoculación
- Asas de Digrafsky
- Jeringas
- Micropipeta
- Puntas para micropipeta

3.6 Procedimientos

Los procedimientos fueron supervisados en todo momento por una bióloga con más de 20 años de experiencia y el asesor principal, en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

3.6.1. Activación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La bolsa que mantiene la cepa liofilizada (Microbiologics®) permaneció almacenada a una temperatura de 2° a 8°C. Luego la cepa fue activada por medio de un proceso de hidratación (Arias, 2016).

Pasos para la activación: (Ver Anexo 4).

1. Se dejó la bolsa que contiene la ampolla con la cepa por unos minutos, sin abrir, para que se equilibre a la temperatura ambiente.
2. Al abrir la bolsa se encontró la ampolla que contiene la cepa, se arrancó porción de la lengüeta de la etiqueta que tiene y se adjuntó a la placa que contendrá el cultivo primario. No se abrió la ampolla.
3. Se presionó (sólo una vez) la ampolla en la parte superior (justo debajo del menisco del fluido de la ampolla) encontrando la tapa para liberar el hidratante.
4. Se sostuvo verticalmente la ampolla para facilitar el flujo del fluido a través del eje hasta la parte inferior que contiene el sedimento.
5. Se apretó en la parte inferior de la ampolla varias veces hasta que el sedimento con el líquido, formen una suspensión homogénea.
6. Se abrió la ampolla, se saturó el hisopo con los materiales hidratados y se transfirió a los medios de cultivo con Agar sangre de carnero (Arez E.I.R.L™)
7. Se inoculó las placas de cultivo rodando suavemente el hisopo sobre una tercera parte de cada placa.
8. Con el uso de un asa estéril, se rayó para facilitar el aislamiento de colonias.

9. Mediante la eliminación adecuada de riesgo biológico, se desechó la ampolla.
10. Se colocó, inmediatamente después, las placas de cultivo en la jarra Gaspak y fueron incubadas por 48 horas a 37°C en condiciones anaeróbicas, para ello se utilizó un sobre de Anaerocult C® (Peker *et al.*, 2014).

3.6.2. Estándar de turbidez para la suspensión del inóculo.

Previamente se requirió el patrón de turbidez de 0.5 de McFarland (BD BBL®).

Con la cepa incubada inicialmente y el medio de cultivo Caldo de Tioglicolato (Merck S.ATM), se preparó una suspensión estandarizada, que presentó la misma turbidez que el patrón de turbidez de 0.5 de McFarland, lo cual indicó que la suspensión tuvo aproximadamente 1.5×10^8 UFC/mL de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se llegó a la turbidez deseada, comparando el patrón de turbidez de 0.5 de McFarland y la suspensión preparada, previamente mezclada en un vórtex por 10seg. Esta comparación se dio de manera visual, con luz apropiada y un papel con líneas horizontales blancas y negras.

Luego se dividió la suspensión estandarizada en 15 tubos de ensayo, cada tubo contenía 6mL. de suspensión.

3.6.3. Preparación de los cepillos.

Los cepillos dentales Colgate® (mango recto, cabezal que llega fácilmente a varias partes de la boca y cerdas sintéticas con punta redondeada de textura suave) (ISO 20126) fueron sometidos a esterilización en autoclave a 121°C por 15 minutos, para garantizar la no contaminación de la muestra.

Una vez esterilizados dichos cepillos, fueron distribuidos en cuatro grupos, cada uno conformado por 15 cepillos, de la siguiente manera:

- Grupo A: Peróxido de hidrogeno al 6%
- Grupo B: Hipoclorito de sodio al 1%
- Grupo C: Hipoclorito de sodio al 2%

- Grupo D: Agua destilada (control negativo)

3.6.4. Preparación de las soluciones desinfectantes.

El mismo día que se sometieron los cepillos a la desinfección, las concentraciones de peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% fueron preparadas de la siguiente manera:

3.6.4.1. Peróxido de hidrógeno al 6%.

Para 200mL de esta solución, se utilizó 80mL de agua destilada y 120mL de peróxido de hidrógeno al 10% Alkofarma E.I.R.L.TM (porcentaje de fábrica) (ISO:9001), los cuales fueron medidos con una jeringa estéril descartable y depositados en un vaso precipitado estéril.

3.6.4.2. Hipoclorito de sodio al 1%.

Para 200mL de esta solución, se utilizó 150mL de agua destilada y 50mL de hipoclorito de sodio al 4% Clorox® (porcentaje de fábrica) (ISO:9001), los cuales fueron medidos con una jeringa estéril descartable y depositados en un vaso precipitado estéril.

3.6.4.3. Hipoclorito de sodio al 2%.

Para 200mL de esta solución, se utilizó 100mL de agua destilada y 100mL de hipoclorito de sodio al 4% Clorox® (porcentaje de fábrica) (ISO:9001), los cuales fueron medidos con una jeringa estéril descartable y depositados en un vaso precipitado estéril.

3.6.5. Prueba de actividad antimicrobiana.

Se inoculó a cada cepillo con 6ml de la suspensión estandarizada con *Streptococcus mutans*, de tal manera que cubría totalmente la cabeza del mismo, luego fueron incubados a 37°C durante 48 horas en condiciones anaeróbicas (Peker *et al.*, 2014).

Consecutivamente los cepillos dentales de cada grupo fueron lavados con suero fisiológico, para eliminar el exceso del microorganismo de las cabezas de los cepillos para posteriormente ser depositados en vasos de precipitados estériles y sometidos a tratamiento (Herrera *et al.*, 2012).

Se utilizó peróxido de hidrógeno al 6%, hipoclorito de sodio al 1% y 2%; cada grupo fue sumergido en 200mL de la solución respectiva durante 10 minutos (Peker *et al.*, 2014).

Todos los cepillos después del tiempo de tratamiento, se transfirieron a tubos estériles con 15ml de suero fisiológico y se pasaron por vórtex durante 10 segundos para que los microorganismos presentes en las cerdas del cepillo desciendan a la solución (Herrera *et al.*, 2012).

Posteriormente con una micropipeta de 100µL se tomó muestra de cada solución y fueron sembradas en agar sangre de carnero de acuerdo a los grupos ya establecidos (“Medición del crecimiento microbiano”, s.f.).

Una vez que se realizó la siembra de todas las soluciones de cepillos dentales, se trasladó los cultivos a la jarra de Gaspak para incubarlos por 48 horas a 37°C en condiciones anaeróbicas y así poder observar el crecimiento bacteriano (Peker *et al.*, 2014).

Por último, los resultados obtenidos de cada grupo fueron contados en unidades formadoras de colonias UFC/mL, por un microbiólogo con años de experiencia.

UFC/mL = colonias enumeradas (media) * factor de dilución del asa empleada en mL (“Medición del crecimiento microbiano” s.f.).

3.6.6. Eliminación y manejo de desechos

Una vez terminada la fase experimental, se procedió a la eliminación de los desechos producidos durante el estudio; este procedimiento fue realizado de acuerdo al protocolo de manejo de desechos establecido por el laboratorio.

3.7 Análisis de datos

Los datos que se obtuvieron durante el experimento fueron registrados en una Ficha de recolección de datos y fueron procesados en una laptop HP® Core i5 Windows 10, donde se elaboró una base de datos, utilizando el programa SPSS® versión 25.0. Para la decisión de las pruebas estadísticas, se estableció una significancia de $p < 0.05$ y grado de confianza al

95%; adicionalmente, se realizó los estadísticos descriptivos. Luego se realizó la prueba de Normalidad (*Anexo 1*), para verificar si las poblaciones de la muestra presentan distribución Normal o no, teniendo en cuenta que se trata de una muestra menor a 30 con carácter cuantitativo, dando como resultado que las poblaciones no provenían de una distribución Normal, por ello, seguidamente para las comparaciones entre dos muestras independientes se utilizó la prueba U de Mann-Whitney, y por último para la comparación entre las tres muestras independientes se utilizó la prueba de Kruskal Wallis (Hernández, 2014).

3.8 Consideraciones éticas

La presente investigación no guarda conflicto de interés económico, social o laboral (*Ver Anexo 3*).

IV. Resultados

Tabla 1

Efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% sobre cepillos dentales inoculados con Streptococcus mutans ATCC 25175.

	N	Estadísticos descriptivos			
		Mínimo (UFC/mL)	Máximo (UFC/mL)	Media (UFC/mL)	D.S (UFC/mL)
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 6%	15	,00	12,00	2,0000	3,20713

N: muestra; D.S: desviación estándar; UFC: unidades formadoras de colonias.

Se encontraron 2 UFC/mL como promedio de *Streptococcus mutans* en los cultivos de los cepillos sometidos a la solución desinfectante.

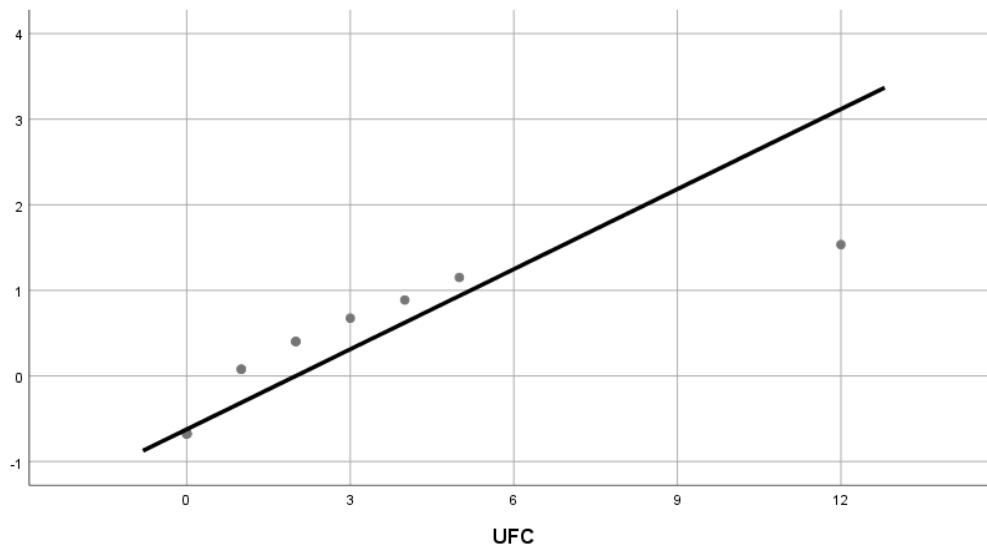


Figura I. Gráfico del efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6%.

Tabla 2

Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 1% sobre cepillos dentales inoculados con Streptococcus mutans ATCC 25175.

	Estadísticos descriptivos				
	N	Mínimo (UFC/mL)	Máximo (UFC/mL)	Media (UFC/mL)	D.S (UFC/mL)
HIPOCLORITO DE SODIO AL 1%	15	,00	2,00	,4000	,63246

N: muestra; D.S: desviación estándar; UFC: unidades formadoras de colonias.

Se encontraron 0.4 UFC/mL como promedio de *Streptococcus mutans* en los cultivos de los cepillos sometidos a la solución desinfectante.

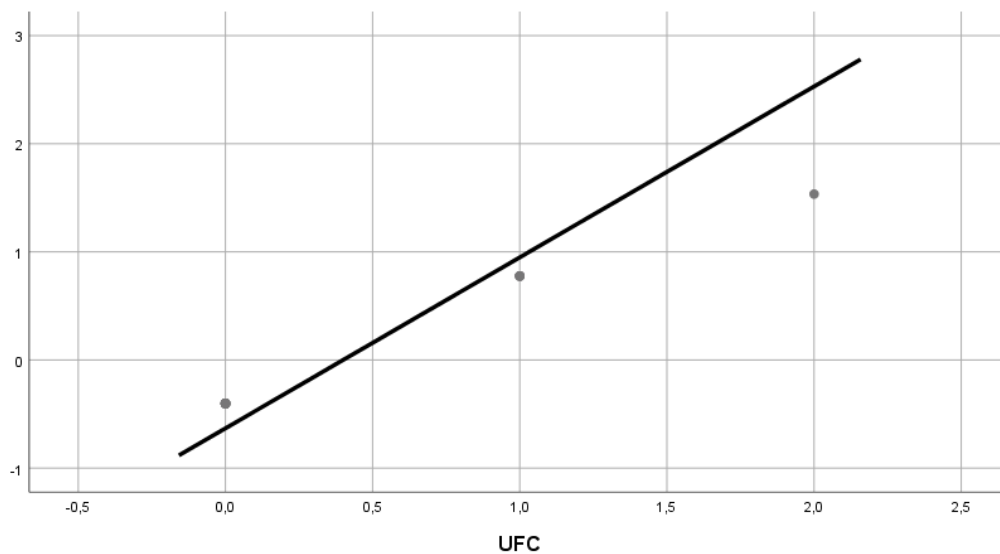


Figura II. Gráfico del efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 1%.

Tabla 3

Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con Streptococcus mutans ATCC 25175.

	Estadísticos descriptivos				
	N	Mínimo (UFC/mL)	Máximo (UFC/mL)	Media (UFC/mL)	D.S (UFC/mL)
HIPOCLORITO DE SODIO AL 2%	15	,00	,00	,0000	,00000

N: muestra; D.S: desviación estándar; UFC: unidades formadoras de colonias.

Se encontraron 0 UFC/mL como promedio de *Streptococcus mutans* en los cultivos de los cepillos sometidos a la solución desinfectante.

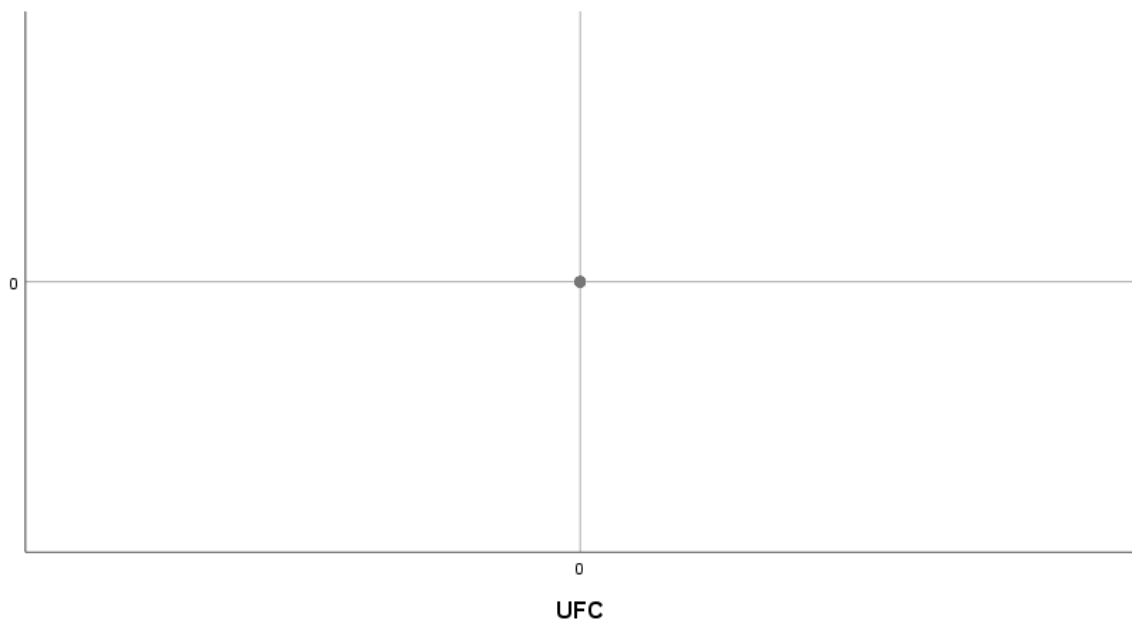


Figura III. Gráfico del efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2%.

Tabla 4

Efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 1% sobre cepillos dentales inoculados con Streptococcus mutans ATCC 25175.

GRUPO	Rangos			p-valor
	N	Media (UFC/mL)	Rango promedio (UFC/mL)	
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 6%	15	2,000	17,87	,102
HIPOCLORITO DE SODIO AL 1%	15	,4000	13,13	
Total	30			

N: muestra; UFC: unidades formadoras de colonias; U de Mann-Whitney: 77.000; $p > 0.05$: No es estadísticamente significativo.

El promedio de *Streptococcus mutans* encontrado en los cepillos sometidos al Peróxido de hidrógeno al 6% (2UFC/mL) es mayor que el promedio encontrado en los cepillos sometidos al Hipoclorito de sodio al 1% (0.4UFC/mL), lo que indica que el efecto antibacteriano del Hipoclorito de sodio al 1% es mayor a comparación del Peróxido de Hidrógeno al 6%. De la prueba U de Mann-Whitney se obtuvo que $p > 0.05$, lo que significa que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano de ambas soluciones.

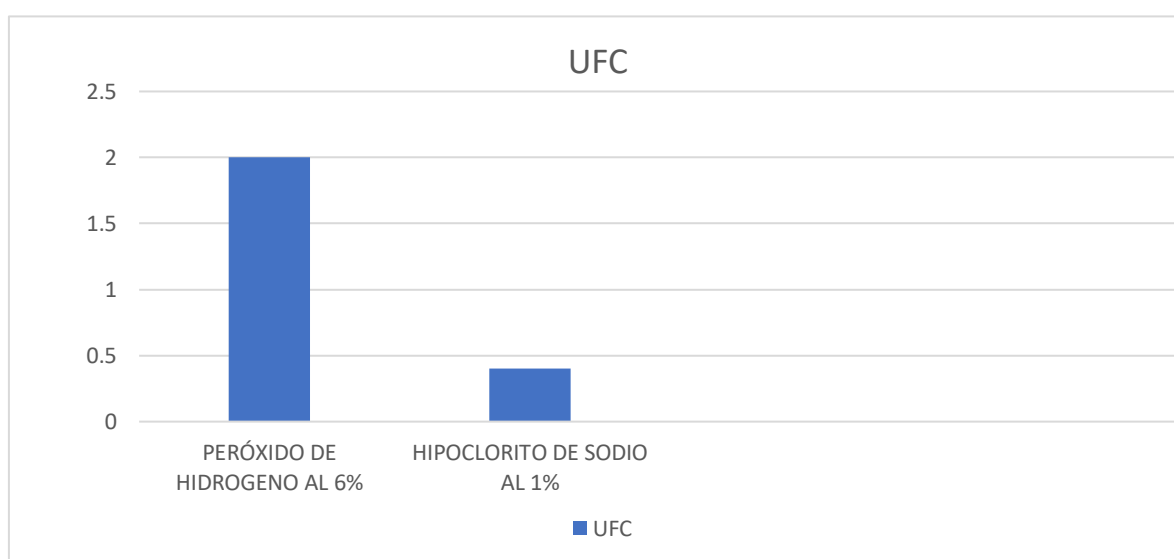


Figura IV. Gráfico en barras del efecto antibacteriano entre ambos desinfectantes.

Tabla 5

Efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con Streptococcus mutans ATCC 25175.

		Rangos			
GRUPO		N	Media (UFC/mL)	Rango promedio (UFC/mL)	p-valor
	PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 6%	15	2,000	19,50	,001
UFC	HIPOCLORITO DE SODIO AL 2%	15	,000	11,50	
Total		30			

N: muestra; UFC: unidades formadoras de colonias; U de Mann-Whitney: 52.500; $p < 0.05$: Es estadísticamente significativo.

El promedio de *Streptococcus mutans* encontrado en los cepillos sometidos al Peróxido de hidrógeno al 6% (2UFC/mL) es mayor que el promedio encontrado en los cepillos sometidos al Hipoclorito de sodio al 1% (0UFC/mL), lo que indica que el efecto antibacteriano del Hipoclorito de sodio al 2% es mayor a comparación del Peróxido de Hidrógeno al 6%. De la prueba U de Mann-Whitney se obtuvo que $p < 0.05$, lo que significa que existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano de ambas soluciones.

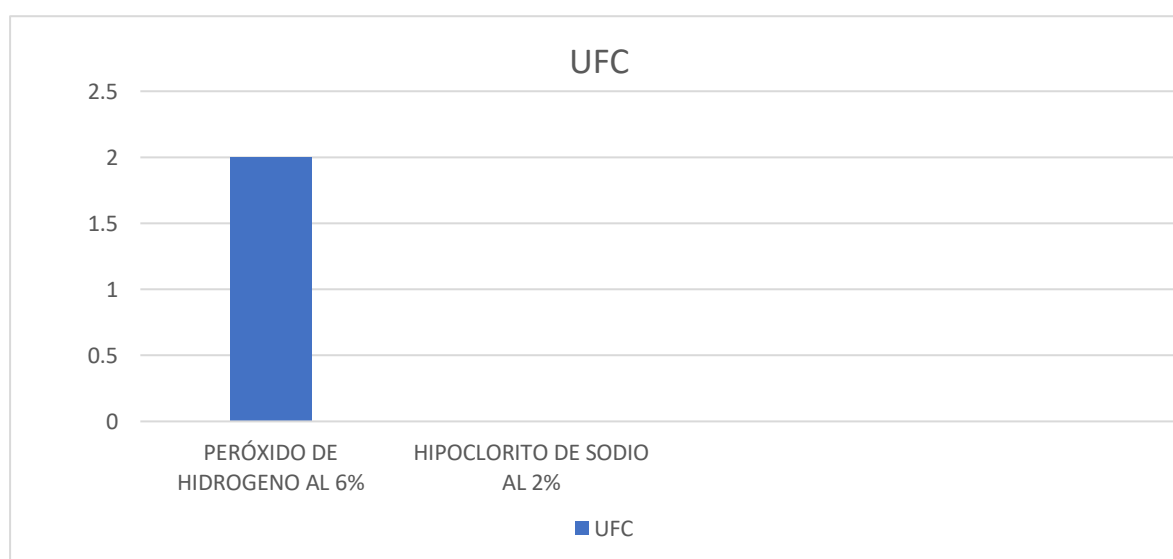


Figura V. Gráfico en barras del efecto antibacteriano entre ambos desinfectantes.

Tabla 6

Efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con Streptococcus mutans ATCC 25175.

		Rangos			
	GRUPO	N	Media (UFC/mL)	Rango promedio (UFC/mL)	p-valor
	HIPOCLORITO DE SODIO AL 1%	15	,400	18,00	,016
UFC	HIPOCLORITO DE SODIO AL 2%	15	,000	13,00	
	Total	30			

N: muestra; UFC: unidades formadoras de colonias; U de Mann-Whitney: 75.500; $p < 0.05$: Es estadísticamente significativo.

El promedio de *Streptococcus mutans* encontrado en los cepillos sometidos al Hipoclorito de sodio al 1% (0.4UFC/mL) es mayor que el promedio encontrado en los cepillos sometidos al Hipoclorito de sodio al 2% (0UFC/mL), lo que indica que el efecto antibacteriano del Hipoclorito de sodio al 2% es mayor a comparación del Hipoclorito de sodio al 1%. De la prueba U de Mann-Whitney se obtuvo que $p < 0.05$, lo que significa que existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano de ambas soluciones.

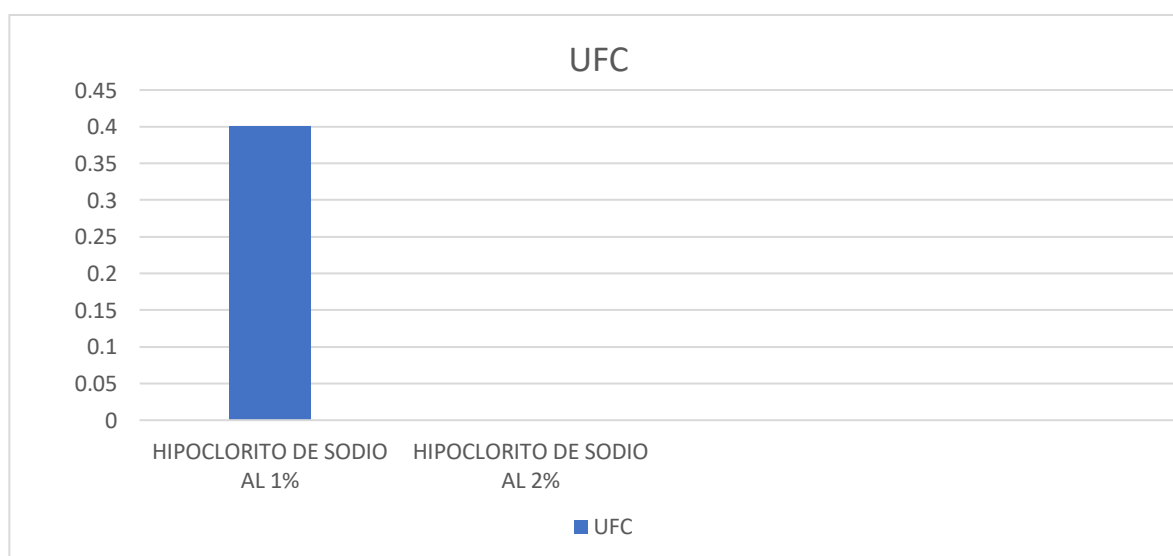


Figura VI. Gráfico en barras del efecto antibacteriano entre ambos desinfectantes.

Tabla 7

Efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con Streptococcus mutans ATCC 25175.

Estadísticos descriptivos				
	N	Media (UFC/mL)	D.S (UFC/mL)	p-valor
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 6%	15	2,0000	3,20713	
HIPOCLORITO DE SODIO AL 1%	15	,4000	,63246	0.004
HIPOCLORITO DE SODIO AL 2%	15	,0000	,00000	

N: muestra; D.S: desviación estándar; UFC: unidades formadoras de colonias; H Kruskal Wallis: 11,285; $p < 0.05$

Se encontró 0 UFC/mL como promedio de *Streptococcus mutans* en los cultivos de los cepillos sometidos a la solución desinfectante Hipoclorito de sodio al 2%, lo que indica que el efecto antibacteriano de dicha solución es totalmente efectivo. De la prueba de Kruskal Wallis se obtuvo que $p < 0.05$, lo que significa que existen diferencias estadísticamente significativas entre algunas de las tres soluciones desinfectantes.

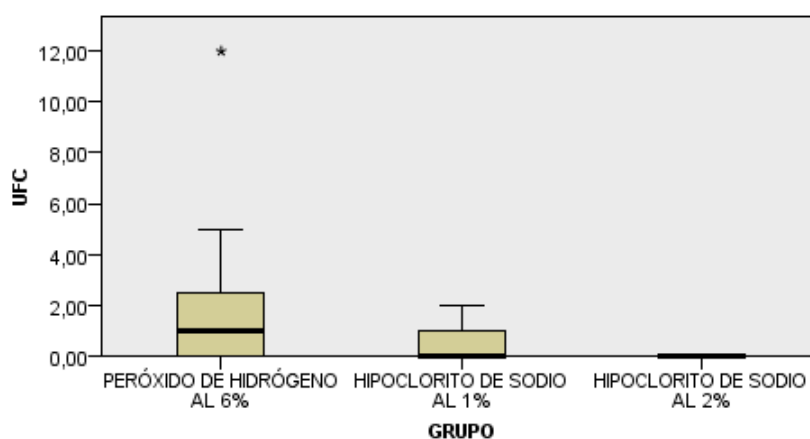


Figura VII. Diagrama de cajas y bigotes para la comparación de los efectos antibacterianos de las tres soluciones desinfectantes.

V. Discusión de resultados

En la presente investigación se evaluó el efecto antibacteriano del Peróxido de hidrógeno al 6% e Hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados demostraron que el Hipoclorito de sodio al 2% desinfectó totalmente los cepillos contaminados con *Streptococcus mutans*, encontrándose diferencias estadísticamente significativas al compararlo con el Peróxido de hidrógeno al 6% y con el Hipoclorito de sodio al 1%.

Debido a la naturaleza del estudio algunos aspectos no se pudieron controlar en su totalidad, tales como el hecho de sembrar una gran cantidad de colonias en un solo momento, mantenerlas activas en un medio anaeróbico y evitar su contaminación. Cada 48 horas debía cambiarse el medio agar de cultivo para mantenerlas activas y la bolsa de reactivo para producir una atmósfera reducida en oxígeno y enriquecida en CO₂ (Anaerocult C®).

La contaminación de los cepillos dentales se da después de cada uso, y los microorganismos permanecen en ellos por varias horas, por lo que es un tema de investigación importante y deberían plantearse estrategias de desinfección (Basman *et al.*, 2016; Eralp *et al.*, 2015; Salazar *et al.*, 2016; Assed *et al.*, 2014; Peker *et al.*, 2014; Tomar *et al.*, 2014; Herrera *et al.*, 2012).

Basman *et al.* (2016) menciona en su estudio que el Hipoclorito de sodio al 2% no elimina todas las especies bacterianas encontradas en los cepillos dentales, mientras que en esta investigación en lo que respecta al *Streptococcus mutans*, se comprobó que dicha solución lo elimina totalmente del cepillo dental.

A comparación de Eralp *et al.* (2015) en el estudio que menciona que el extracto etanólico de propóleos y la clorhexidina inhibieron el crecimiento del *Streptococcus mutans* en su estado planctónico; la solución de Hipoclorito de sodio al 2% no solo inhibe su crecimiento sino que elimina completamente a dicha bacteria en su estado planctónico.

A diferencia de Salazar *et al.* (2016) que menciona que el Peróxido de hidrógeno al 6% es efectivo y elimina todo microorganismo del cepillo dental; en esta investigación se demostró que dicha solución no elimina al *Streptococcus mutans* totalmente.

Según Assed *et al.* (2014) en su estudio, el *Streptococcus mutans* permanece viable en las cerdas de los cepillos de dientes, in vivo, durante 44 horas; mientras que en esta investigación, se mantuvo viable, in vitro, durante 48 horas en condiciones anaeróbicas.

Al igual que en el estudio de Peker *et al.* (2014) en el que menciona que el Hipoclorito de sodio al 1% es comparativamente eficaz para la desinfección de cepillos dentales, se corroboró en esta investigación que efectivamente el efecto antibacteriano de dicha solución elimina en gran cantidad al *Streptococcus mutans*, además de ser rentable, de fácil acceso y no tóxico.

A diferencia de Tomar *et al.* (2014) que menciona que un medio físico, como el tratamiento con Rayos ultravioleta, es más efectivo, a comparación de un medio químico, como la clorhexidina al 0.2%, para reducir las bacterias en el cepillo de dientes; en esta investigación se comprobó que el medio químico para eliminar por completo al *Streptococcus mutans*, es el Hipoclorito de sodio al 2%.

Al igual que Herrera *et al.* (2012) que en su estudio menciona que tanto un medio físico, como el uso de un cepillo antibacterial y un medio químico, como el ácido acético al 5%, eliminan a microorganismos como el *Streptococcus mutans*; en esta investigación se corroboró que medios químicos, como el Peróxido de hidrógeno al 6% y el Hipoclorito de sodio al 1% y 2% eliminan dicho microorganismo.

Se puede inferir que las tres soluciones desinfectantes presentan efectos antibacterianos sobre el *Streptococcus mutans*.

VI. Conclusiones

- El Peróxido de hidrógeno al 6% presentó efectividad antibacteriana sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El Hipoclorito de sodio al 1% presentó efectividad antibacteriana sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- El Hipoclorito de sodio al 2% presentó efectividad antibacteriana sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El Peróxido de hidrógeno al 6% presentó menor efectividad que el Hipoclorito de sodio al 1% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El Peróxido de hidrógeno al 6% presentó menor efectividad que el Hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El Hipoclorito de sodio al 1% presentó menor efectividad que el Hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El Hipoclorito de sodio al 2% presentó mayor efectividad antibacteriana en comparación al Hipoclorito de sodio al 1% y al Peróxido de hidrógeno al 6%, frente a cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

VII. Recomendaciones

- Realizar investigaciones con muestras más grandes.
- Realizar investigaciones comparando otras soluciones.
- Realizar investigaciones comparando otras concentraciones de solución.
- Realizar investigaciones con otros microorganismos.
- Realizar estudios longitudinales comparando una misma solución o diferentes soluciones.
- Utilizar dicha investigación como estrategia para la desinfección de los cepillos dentales, en hogares, colegios y hospitales.

VIII. Referencias

- Medición del crecimiento microbiano (s.f.). *Administrador de Manuales y Documentos de la Facultad de Química UNAM*. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/U4b_MedicionCrecimiento_19837.pdf
- Aguirre, M. (2013). *Estudio comparativo de agentes quimicos utilizados para la desinfección de cepillos dentales* (tesis de pregrado). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.
- Andrade, F. (2008). *Estudio comparativo sobre la eficacia de los cepillos manuales frente a los cepillos eléctricos en adolescentes del colegio Luciano Andrade-Marín de la ciudad de Quito* (tesis de pregrado). Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.
- Ankola, A. y Hebbal, M. (2009). How clean is the toothbrush that cleans your tooth. *Int J Dent Hygiene*, 7(4), 237-240. doi:10.1111/j.1601-5037.2009.00384.x
- Arana, I., Orruño, I. y Barcina, I. (2012). *Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología: Enumeración de microorganismos*. Recuperado de https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema_2._Metodos_basicos_de_enumeracion_de_microorganismos.pdf
- Arias, K. (2016). *Efectividad inhibitoria del erythritol al 1%, 8% y 16% de concentración sobre cepas de Streptococcus mutans; estudio in vitro* (tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Assed, L., Nelson, P., Saravia, M. E., De Rossie, A., Lucisano, M. P. y Assed, R. (2014). Mutans streptococci remained viable on toothbrush bristles, in vivo, for 44 h. *Pubmed*, 24(5), 367-372. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25247225>

- Basman, A., Peker, I., Akca, G., Alkurt, M. T., Sarikir, C. y Celik, I. (2016). Evaluation of toothbrush disinfection via different methods. *Brazilian Oral Research*, 30(1), 1-6. doi:10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0006
- Berkowitz, R. (2006). Mutans streptococci: Acquisition and transmission. *Pediatric dentistry*, 28(2), 106-109. Recuperado de <https://www.ingentaconnect.com/content/aapd/pd/2006/00000028/00000002/art00004>
- Castro, P., Corral, C., García, F., León, P., Martínez, C. y Moreno, F. (2008). Eficacia de cuatro cepillos dentales en la remoción de placa bacteriana mediante la técnica modificada de Bass en estudiantes de Salud Oral de la ciudad de Cali. *Estomatológica*, 16(2), 15-24. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/268817428_Eficacia_de_cuatro_cepillos_dentales_en_la_remocion_de_placa_bacteriana
- Contreras, A., Astudillo, M., Daza, L., García, L., Parra, P. y Jaramillo, A. (2002). Contaminación microbiana de los cepillos dentales en paciente con enfermedad periodontal. *Estomatología*, 10(1), 4-14. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/259453959_Contaminacion_microbiana_de_los_cepillos_dentales_en_pacientes_con_enfermedad_periodontal
- Daub, W. y Seese, W. (Ed.). (1996). *Química*. México: Pearson Educación.
- De Rojas, F. y Fuenmayor, V. (2009). *Manual de Higiene Manual*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- do Nascimento, C., Balero, M., Murillo, S. P., Carrico, F. H., Linares, P., Watanabe, E. y Pedrazzi, V. (2014). Effectiveness of three antimicrobial mouthrinses on the disinfection of toothbrushes stored in closed containers: a randomized clinical investigation by DNA Checkerboard and Culture. *The Gerodontological Society and John Wiley y Sons A/S*, (31), 227-236. doi:10.1111/ger.12035

- Echevarría, J. (Ed.). (2008). *Manual de Odontología*. Barcelona, España: Elsevier Masson.
- Efstratiou, M., Papaioannou, M., Nakou, M., Ktenas, E., Vrotsos, I. A. y Panis, V. (2007). Contamination of a toothbrush with antibacterial properties by oral microorganisms. *Journal of Dentistry*, 35(4), 331-337.
- Eralp, A., Akca, G., Toksoy, F., Macit, E., Pıkdöken, L. y Serif, I. (2016). The comparative evaluation of the antimicrobial effect of propolis with chlorhexidine against oral pathogens: an in vitro study. *BioMed Research International*, 1-8.
doi:10.1155/2016/3627463
- Forbes, B., Sahm, D. y Weissfeld, A. (Ed.). (2009). *Bailey y Scott: Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires, Argentina: Medica Panamericana.
- Fruttero, A. (2003). Revisión actualizada de las soluciones irrigadoras endodónticas. *Electronic Journal of Endodontics Rosario*, 2(2), 1-23. Recuperado de <https://rephip.unr.edu.ar/handle/2133/1388>
- Gennaro, A.(Ed.). (2003). *Remington Farmacia*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Herazo, B. (Ed.). (2012). *Clinica del Sano*. Bogotá, Colombia: Ecoe Ediciones.
- Hernández, R. (Ed.). (2014). *Metodología de la Investigación*. México D.F, México: Mc Graw Hill.
- Herrera, L., Caballero, S., Claro, A., Torres , H. y Matínez, C. (2012). Actividad antimicrobiana del ácido acético y el cepillo colgate 360° antibacterial: un estudio in vitro. *Revista de la Facultad de Odontológica Universidad de Antioquia*, 24(1), 62-75.
- Higashida, B. (2009). *Odontología Preventiva*. México: Mc Graw Hill.
- Laboratorios Britania S.A. (s.f.). Agar Sangre Base. Recuperado de <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/sangreagarbase.htm>

- Lindhe, J. (2009). *Periodoncia Clínica e Implantología Odontológica*. Madrid, España: Médica Panamericana.
- Linossier, A., Vargas, A., Villegas, R. y Chimenos, E. (2002). Relación cuantitativa entre el nivel de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en niños con síndrome de Down. *Medicina Oral*, 7(4), 284-292.
- Martínez, M. y Rodríguez, A. (2009). Estudio de las cepas de *Streptococcus* del grupo *mutans* presentes en binomios madre-hijo. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*, 21(2), 177-185.
- Ministerio de Salud. (2005). *Prevalencia Nacional de caries dental, fluorosis del esmalte y urgencia de tratamiento en escolares de 6 a 8, 10, 12 y 15 años, Perú. 2001 - 2002*. Recuperado de http://www.dge.gob.pe/publicaciones/pub_caries/prevalencia_caries.pdf
- Mobin, M., Borba, C., Filho, C., Tapety, F., Noleto, I. y Teles, J. (2011). Analysis of fungal contamination and disinfection of toothbrushes. *Acta Odontologica Latinoamericana: AOL*, 24(1), 86-91.
- Nakano, K., Nomura, R. y Nakagawa, I. (2004). Demonstration of *Streptococcus mutans* with a Cell Wall Polysaccharide Specific to a New Serotype, k, in the Human Oral Cavity. *Journal Clinical Microbiology*, 42(1), 198-202.
- Napimoga, M., Höfling, J., Klein, M., Kamiya, R. y Goncalves, R. (2005). Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. *Journal of Oral Science*, 47(2), 59-64.
- Negroni, M. (Ed.). (2009). *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Newman, Takei, Klokkevold y Carranza. (Ed.). (2010). *Periodontología clínica*. México: Mc Graw Hill.

- Ojeda, J., Oviedo, E. y Salas, L. (2013). Streptococcus mutans and dental caries. *CES Odontología*, 26(1), 44-56.
- Paster, B. J., Boches, S. K., Galvin, J. L., Ericson, R. E., Lau, C. N., Levanos, V. A., ... Dewhirst, F. E. (2001). Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of Bacteriology*, 183(12), 3770-3783. doi:10.1128/JB.183.12.3770-3783.2001
- Peker, I., Akca, G., Sarikir, C., Toraman, M. y Celik, I. (2014). Effectiveness of Alternative Methods for Toothbrush Disinfection: An In Vitro Study. *The Scientific World Journal*, 1-9. doi:10.1155/2014/726190
- Pérez, M., Limeres, J. y Fernández, J. (2012). *Manual de Higiene Oral para personas con discapacidad*. Santiago de Compostela, España: Idea Gráfica Profesional.
- Pitchford, P. (2007). *Sanando con alimentos integrales: Tradiciones asiáticas y nutrición moderna*. California, Estados Unidos: North Atlantic Books.
- Prácticas de Microbiología Clínica: Curso 2012-2013. (s.f.). Recuperado de <http://asignatura.us.es/mbclinica/docs/practicas/practicas-mbclinica-miercoles-1213.pdf>
- Rivas, R. (2011). Limpieza y conformación del conducto radicular. Recuperado de Notas de Endodoncia: <http://www.iztacala.unam.mx/rrivas/limpieza.html>
- Rupf, S., Hanning, K., Breitung, K., Schellenberg, W., Eschrich, T., Remmerbach, T. y Kneist, S. (2008). Phenotypic Heterogeneity of Sm in Dentin. *J Dent Res*, 87(12), 1172-1176.
- Salazar, S. y Zurita, M. (2016). Presencia de microorganismos en cepillos dentales y su desinfección con H₂O₂. *Científica Dominio de las Ciencias*, 2(1), 155-167.
- Sánchez, F., Furuya, A., Padilla, S., Gómez, A. y Gómez, L. (2009). Comparación de la acción bactericida del hipoclorito de sodio y Microcyn 60. *Odontológica mexicana*, 13(1), 9-16.

- Selva, K. (2012). Puesta al día en desinfección y esterilización en la clínica dental. *Gaceta dental*. Recuperado de <https://gacetadental.com/2012/04/puesta-al-dia-en-desinfeccion-y-esterilizacion-en-la-clinica-dental-i-24643/>
- Shibata, Y., Ozaki, K., Seki, M., Tanaka, H. y Nakano, K. (2003). Analysis of Loci Required for Determination of Serotype Antigenicity in *Streptococcus mutans* and Its Clinical Utilization. *J. Clin. Microbiol.*, 41(9), 4107-4112.
- Spolidorio, D. M., Goto, E., Negrini, T. D. y Spolidorio, L. C. (2003). Viability of *Streptococcus mutans* on transparent and opaque toothbrushes. *Journal of Dental Hygiene: JDH/American Dental Hygienists: Association*, 7(2), 114-117.
- Tomar, P., Hongal, S., Saxena, V., Jain, M., Rana, K. y Ganavadiya, R. (2014). Evaluating sanitization of toothbrushes using ultra violet rays and 0.2% chlorhexidine solution: A comparative clinical study. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 6(1), 12-18. doi: 10.4103/0976-0105.145769
- Vignoli, R. (2002). *Esterilización y Desinfección*. Montevideo, Uruguay: Instituto de higiene de la Universidad de la República. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2027.pdf>
- Villacis, J. (2016). *Identificación de Enterococcus faecalis en cepillos dentales y evaluación invitro de su grado de susceptibilidad frente a hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina* (tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- Yuri, J. y Carvajal, A. (2014). *Contaminación bacteriana en los cepillos de dientes, uso, cuidado y descontaminación* (tesis de pregrado). Universidad Industrial de Santander, Bogotá, Colombia.

VIII. Anexos

Anexo 1. Prueba de Normalidad.

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl.	Sig.	Estadístico	gl.	Sig.
PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 6%	,266	15	,005	,678	15	,000
HIPOCLORITO DE SODIO AL 1%	,403	15	,000	,667	15	,000
HIPOCLORITO DE SODIO AL 2%	.	15	.	.	15	.

a. Corrección de significación de Lilliefors

De la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk, los valores de significación de los grupos experimentales son $p < 0.05$, lo que significa que las muestras No provienen de poblaciones con distribución Normal.

Anexo 2. Ficha de recolección de datos.

				UFC/mL															
Muestra	Bacteria	Concentración	Tiempo de lectura	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Peróxido de hidrógeno	<i>Streptococcus mutans</i>	6%	48H																
Hipoclorito de sodio		1%	48H																
		2%	48H																
Agua destilada			48H																

Elaborado por el autor.

Anexo 3. Declaración Jurada.

Yo Estefany Hilda Rojas Zubizarreta autora del proyecto de investigación titulado “Evaluación in vitro antibacteriana del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio 1% y 2% sobre cepillos inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175”, declaro bajo juramento que no tengo conflictos de interés durante el planteamiento y la elaboración del mismo.

Asumo la responsabilidad total del trabajo presentado y afirmo que los datos consignados en esta declaración jurada son correctos y responden a la realidad.



Pueblo Libre

17 - 01 - 2018

FIRMA

LUGAR


FECHA


Anexo 4. Pasos para la activación

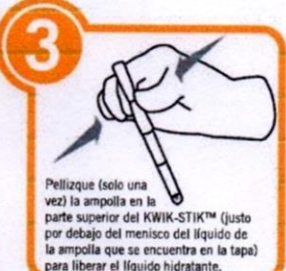
KWIK-STIK™ Y KWIK-STIK™ PLUS


INSTRUCCIONES ILUSTRADAS


Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un pellet liofilizado de una única cepa de microorganismo.


- 


Deje que la bolsa de KWIK-STIK™ sin abrir se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgándola por la muesca y retire la unidad KWIK-STIK™.
- 


Arranque la parte de la lengüeta de la etiqueta y péguela a la placa del cultivo primario o a la ficha de control de calidad. No desmonte el dispositivo durante la hidratación.
- 

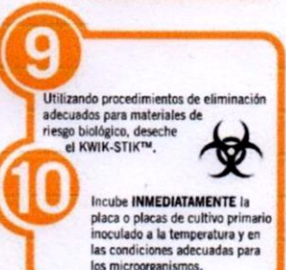
Pelizque (solo una vez) la ampolla en la parte superior del KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco del líquido de la ampolla que se encuentra en la tapa) para liberar el líquido hidratante.
- 


Sujétela verticalmente y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido a través del eje y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del bastoncillo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet.
- 

Pelizando la parte inferior de la unidad, triture el pellet en el líquido hasta que la suspensión del pellet sea homogénea.
- 

Sature a fondo **INMEDIATAMENTE** el bastoncillo con el material hidratado y transfiera al medio de agar.
- 

Inocule la placa o placas de cultivo primario pasando suavemente el bastoncillo al tiempo que lo gira por un tercio de la placa.
- 

Con un lazo estéril, forme estrías longitudinales para facilitar el aislamiento de las colonias.
- 

Utilizando procedimientos de eliminación adecuados para materiales de riesgo biológico, deseché el KWIK-STIK™.
- 

Incube **INMEDIATAMENTE** la placa o placas de cultivo primario inoculado a la temperatura y en las condiciones adecuadas para los microorganismos.

 **Microbiologics®**
A safer, healthier world.

Anexo 5. Matriz de consistencia.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	METODOLOGÍA	INSTRUMENTOS
<p>Problema principal ¿Cuál es el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% en la desinfección de cepillos dentales con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p>	<p>Objetivo General Evaluar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. - Determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 1% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. - Determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. - Comparar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% y del hipoclorito de sodio al 1% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. - Comparar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% y del hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. - Comparar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 1% y del hipoclorito de sodio al 2% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. - Comparar el efecto antibacteriano del peróxido de hidrógeno al 6% e hipoclorito de sodio al 1% y 2% sobre cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. 	<p>Hipótesis General El peróxido de hidrógeno al 6% y el hipoclorito de sodio al 2% presentarían mayor eficacia frente al hipoclorito de sodio al 1% en la desinfección de cepillos dentales inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Variable dependiente Efecto antibacteriano sobre cepillos dentales con <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>Variable independiente Desinfectantes</p>	<p>Método cuantificativo en Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mL.</p> <p>Germicidas</p>	<p>Razón</p> <p>Nominal</p>	<p>Tipo -Transversal -Prospectivo</p> <p>Diseño -Experimental</p> <p>Población -Cepillos dentales inoculados con cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC25175.</p> <p>Muestra -15 cepillos dentales inoculados con cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 para cada grupo.</p> <p>Método -Observación directa</p>	<p>-Observación de campo -Asas calibradas</p>