

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea del CRAI-USTA y el Repositorio Institucional en la página web de la CRAI-USTA, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables”.

Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación, CRAI-USTA
Universidad Santo Tomás, Bucaramanga

**RECuento DE MICROORGANISMO *Streptococcus mutans* Y
Staphylococcus aureus EN CEPILLOS DENTALES DE NIÑOS DE 3 A
5 AÑOS EN DOS JARDINES INFANTILES EN LA CIUDAD DE
BUCARAMANGA**

Jaime Alberto Mantilla Mantilla, María Fernanda Gutiérrez Becerra y
Evelyn Juliana Morales Celis

Trabajo de grado para optar el título de Odontólogo

Director:
Martha Juliana Rodríguez Gómez
Mg. Epidemiología

Universidad Santo Tomás, Bucaramanga
División de Ciencias de la Salud
Facultad de Odontología
2017

Certificado de aprobación

Después de haber leído y analizado el trabajo de grado presentado por Jaime Alberto Mantilla Mantilla, María Fernanda Gutiérrez Becerra y Evelyn Juliana Morales Celis: RECuento DE MICROORGANISMO *Streptococcus mutans* Y *Staphylococcus aureus* EN CEPILLOS DENTALES DE NIÑOS DE 3 A 5 AÑOS EN DOS JARDINES INFANTILES EN LA CIUDAD DE BUCARAMANGA

Certificamos que cumple con las normas y requisitos exigidos por el Comité de Trabajos de Grado de la Facultad de Odontología.

MARTHA JULIANA RODRÍGUEZ G.
Director del Trabajo

LUISA TERESA FLÓREZ OVIEDO
Codirector del Trabajo

Después de haber leído y analizado el trabajo de grado presentado por Jaime Alberto Mantilla Mantilla, María Fernanda Gutiérrez Becerra y Evelyn Juliana Morales Celis: RECuento DE MICROORGANISMO *Streptococcus mutans* Y *Staphylococcus aureus* EN CEPILLOS DENTALES DE NIÑOS DE 3 A 5 AÑOS EN DOS JARDINES INFANTILES EN LA CIUDAD DE BUCARAMANGA

Certifico que cumple con las normas y requisitos exigidos por el Comité de Trabajos de Grado de la Facultad de Odontología.

MARTHA JULIANA RODRÍGUEZ G.
Docente de Seminario de Investigación III

Agradecimientos

A la profesora Martha Juliana Rodríguez Gómez quien con sus conocimientos nos instruyó y guio por el camino del saber.

A los trabajadores del Laboratorio de Ciencias Básicas, porque con su dedicación y disponibilidad, nos dirigieron con paciencia hasta el último momento.

A la profesora Luisa Teresa Flores, quien nos acompañó durante todo el desarrollo de la investigación.

Y a Dios por haber hecho posible culminar una etapa más de nuestras vidas.

Dedicatoria

*Dedicado a nuestros padres,
quienes con su apoyo nos
colaboraron para llevar a cabo
nuestro proyecto de investigación.*

Tabla de contenido

1. Introducción	11
1.1. Planteamiento del problema.....	11
1.2. Justificación	13
2. Marco teórico	13
2.1. Cavidad bucal.....	14
2.2 Microbiota Bucal	14
2.3. Bacterias Streptococcus sp.....	15
2.4. Bacterias Staphylococcus sp.....	16
2.5. Cultivo de Microorganismos.....	16
2.6. Medios de cultivo.....	17
2.6.1. Agar Salivarius Mitis. E.....	17
2.6.2. Agar Baird-Parker.....	17
2.7. Cepillos de dientes	18
3. Objetivos	18
3.1 Objetivo general.....	18
3.2 Objetivos específicos	19
4. Materiales y Métodos.....	19
4.1 Tipo de Estudio	19
4.2 Selección y descripción de participantes	19
4.2.1 Universo.....	19
4.2.2 Muestra y tipo de muestreo.....	19
4.2.3 Criterios de selección.....	19
4.3 Variables (Apéndice A)	20
4.3.1 Variables dependientes	20
4.3.2 Variables independientes	20
4.4 Instrumento	22
4.5 Prueba piloto	22
4.7 Procedimiento	23
4.8 Plan de análisis estadístico.....	30
4.8.1 Análisis univariado.	30
4.8.2 Análisis bivariado.	30
4.9 Consideraciones éticas	31
5. Resultados	31
6. Discusión.....	32
6.1. Conclusiones.....	33
6.2 Recomendaciones	33
7. Referencias bibliográficas.....	35

Apéndices.....	37
A. Cuadro de Operacionalización de Variables.....	37
B. Instrumento.....	39
D. Análisis bivariado	41
E. Consentimiento informado	42
F. Carta autorización de los colegios	45

Lista de tablas

Tabla 1. Muestra de participación de los niños.....	31
Tabla 2. Tabla de Variables	37
Tabla 3. Análisis bivariado	41

Lista de figuras

Figura 1. Recolección y corte de las cabezas de los cepillos dentales.....	24
Figura 2. Procesamiento de muestras.....	25
Figura 3. Cabina flujo laminar	25
Figura 4. Dilución de la muestra.....	26
Figura 5. Frascos con solución salina	26
Figura 6. Transferencia de la solución a los medios	27
Figura 7. Asa de diagralsky y bolsas de anaerobiosis.....	27
Figura 8. Agar Parker con emulsión yema de huevo y telurito	28
Figura 9. Agar salivarius mitis con sacarosa, telurito de potasio y bolsas de anaerobiosis.....	28
Figura 10. Preparación de Agares y medios	29
Figura 11. Medios de cultivos.....	29

RESUMEN

La manera más usual de preservar la higiene bucal se realiza mediante un buen cepillado; la función principal del cepillado dental es eliminar la placa dental, es importante tener en cuenta que el cepillo dental tiene un vínculo con las alteraciones que se muestran en la cavidad oral, debido a que los microorganismos depositados entre las cerdas del cepillo permanecen por un período de tiempo.

Objetivo: evaluar el recuento de Unidades Formadoras de Colonias de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* de los cepillos dentales de preescolares vinculados con dos jardines infantiles de Bucaramanga.

Materiales y métodos: se realizó un estudio observacional, descriptivo de corte transversal con 24 cepillos dentales de niños de 3 a 5 años de edad. Se analizaron variables sociodemográficas, las Unidades Formadoras de Colonias de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, la forma de almacenamiento del cepillo y la frecuencia del cepillado. Para el procesamiento de las muestras se utilizaron las cabezas de los cepillos que se sumergieron en solución salina estéril para lograr el desprendimiento de los microorganismos. Ocho cepillos se procesaron a los cinco días, otros ocho a los diez días y los últimos ocho, a los quince días. Se utilizó Agar Salivarius mitis para aislar *Streptococcus mutans* y Agar Baird Parker para aislar *Staphylococcus aureus* que se incubaron durante 48 horas. Se calcularon frecuencias y proporciones para las variables cualitativas y medidas de tendencia central para las cuantitativas. Se utilizó el test Chi² o Exacto de Fisher según fuera apropiado. Un valor de $p < 0,05$ fue estadísticamente representativo. Se obtuvo el consentimiento informado de los dos hogares infantiles.

Resultados: el promedio de edad fue 3,3 años y 16 (66,7%) eran niñas, la mitad de los preescolares pertenecían al estrato socioeconómico 2 y la mitad 4. El recuento de Unidades Formadoras de Colonias de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* fue negativo en todas las muestras.

Conclusiones: es posible que *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* puedan estar en boca de preescolares pero no en la cantidad suficiente para realizar un recuento de Unidades Formadoras de Colonias.

Palabras claves: Preescolar, Recuento de colonia microbiana, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The most usual way to preserve oral hygiene is by means of a good brushing; The main function of tooth brushing is to eliminate dental plaque, it is important to bear in mind that the toothbrush has a link with the alterations that occur in the oral cavity, because the microorganisms deposited between the brush bristles remain for a period of time.

Objective: to assess the Colony-forming Units counts of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* of toothbrushes of preschool children associated with two children's gardens in Bucaramanga.

Methods: an observational, descriptive cross-sectional study was carried out with 24 toothbrushes of children from 3 to 5 years of age. We analyzed sociodemographic variables, the Colony Forming Units counts of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*, the type of toothbrush storage and the frequency of dental brushing. For the processing of the samples we used the brush heads that were submerged in sterile saline solution to achieve the detachment of the microorganisms. Six brushes were processed after five days, another six after ten days and the last six, after fifteen days. Agar Salivarius mitis was used to isolate *Streptococcus mutans* and Baird Parker Agar to isolate *Staphylococcus aureus* that were incubated for 48 hours. Frequencies and proportions were calculated for the qualitative variables and measures of central tendency for the quantitative ones. The Chi² or Fisher's Exact test were used as appropriate. A value of $p < 0.05$ was statistically significant. The informed consent of the two children's homes was obtained.

Results: the average age was 3.3 years and 16 (66.7%) were girls, one half of the preschoolers belonged to the socioeconomic condition 2 and the other half belonged to 4. The Colony-forming Units counts of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* was negative in all samples.

Conclusions: It is possible that *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* may be in the mouths of preschool children but not in the sufficient quantity to perform a Colony Forming Units counts.

Key words: Preschool, Microbial colony count, *Streptococcus mutans*.

1. Introducción

La manera más habitual de preservar la higiene bucal se realiza mediante un buen cepillado; la función principal del cepillado es eliminar la placa dental que es la responsable del desencadenamiento de enfermedades bucales tales como: caries, periodontitis y halitosis (1).

Sin embargo, es importante tener en cuenta que el cepillo dental tiene un vínculo con las alteraciones que se muestran en la cavidad oral, debido a que los microorganismos depositados entre las cerdas del cepillo permanecen por un período que puede oscilar entre uno y siete días, y no solo se alojan, también se multiplican generando la incubación, el desarrollo y la producción de patologías (2,3).

Con respecto al medio de almacenamiento de los cepillos dentales después de su uso, hay mayor reducción en el número de microorganismo que se mantienen en condiciones de aire libre, en comparación a los que se mantienen en contenedores cerrados. Esto se debe a la forma como son elaborados los cepillos (sus delgadas fibras y su disposición de forma muy apretado) lo que proporciona la conservación de humedad y de restos del cepillo. Por lo que la multiplicación de microorganismos se incrementa si el cepillo se conserva tapado y no se seca al aire (1).

Para el desarrollo de este trabajo de investigación se estudió la presencia de dos clases de microorganismos en los cepillos dentales usados por niños de 3 a 5 años de edad, de dos jardines del área metropolitana de Bucaramanga.

Los microorganismos estudiados fueron: el *Streptococcus mutans* y el *Staphylococcus aureus*.

El *Streptococcus mutans* es reconocido como microbiota de la cavidad bucal y vías respiratorias, autores como Berkowitz, Khler, Col. y Van Houte nombran al *Streptococcus mutans* como una de los primordiales orígenes etiológicos de la caries dental (2).

El *Staphylococcus aureus* es una bacteria anaerobia facultativa Gran + que forma parte de la microbiota de las fosas nasales pero que como patógeno puede ocasionar enfermedades en piel, en mucosas, en tracto gastrointestinal y en forma sistémica (3).

1.1. Planteamiento del problema

La Organización Mundial de la Salud (OMS), se refiere a salud bucal como un mecanismo para el bienestar general de las personas, que participa de manera importante en la calidad de vida de los individuos. La Asociación Dental Canadiense, describe a la salud bucal como un estado de los tejidos y estructuras de la cavidad bucal encargadas del bienestar físico, mental y social, permitiendo al individuo hablar, comer y expresarse con libertad (4).

Se debe apreciar que las enfermedades que modifican la salud bucal de los colombianos son elevadas y diversas; no solo por su reiteración sino por su impacto en la salud universal, estando la caries dental como la alteración bucal más común, así como la enfermedad periodontal. El IV Estudio Nacional de Salud Bucal (ENSAB IV) afirma que el 91,58 % de los individuos entre 12 y 79 años han manifestado en cierto período de su vida caries dental, y el 33,27 % de los niños de 1, 3 y 5 años, a su reducida edad de igual forma han manifestado antecedentes de esta enfermedad, esto puede incidir en la salud, en diversos ciclos y períodos de la vida de las personas, exactamente durante la gestación, el crecimiento y desarrollo (3,4).

Se han obtenido resultados de estudios donde se puede evidenciar el vínculo que presenta el cepillo dental con alteraciones bucales, a causa de que las bacterias al momento de adherirse en medio de las cerdas de los cepillos se incuban, reproducen y provocan infecciones reiterativas en las personas. Los microorganismos promotores de estas alteraciones presentes en la cavidad bucal, requieren de un huésped donde puedan instalarse e inducir la enfermedad puesto que estos no se presentan de forma libre en el medio ambiente (5).

Dado a esto es indispensable el uso de cepillo de dientes, Hingst, aconseja que a los cepillos dentales hay que realizarles un recambio cada tres meses o cuando se presenten inflamaciones e infecciones virales de la cavidad bucal y en ningún caso se tendría que utilizar más de seis meses (6).

Microorganismos tales como bacterias, hongos y virus pueden estar presente en los cepillos dentales a causa de la contaminación provocada por microorganismos del entorno, las manos de las personas, el aerosol procedente del sanitario, espacios húmedos del baño, el uso extendido de los cepillos incrementa la cifra de microorganismos en sus penachos, la re-contaminación con otros cepillos depositados en el mismo lugar y el plástico que utilizan para cubrir el cepillo dental puede generar el desarrollo de microorganismos oportunistas (1).

Se ha comprobado científicamente que cuando aumenta el número de microorganismos en la saliva se ocasionan padecimientos como estomatitis aftosa recurrente, glositis migratoria, glosopirosis, caries dental y enfermedad periodontal. Estas alteraciones se podrían evadir al tener rutinas de recambio adecuado del cepillo dental y un almacenamiento y mantenimiento del mismo responsable (1).

Igualmente otros estudios han demostrado la contaminación de especies cariogénicas y periodontopatógenas por el uso inadecuado de utensilios dentales empleados en la higiene bucal como el hilo dental y los enjuagues bucales, ocasionando estos la transmisión de especies en un mismo individuo o entre varios individuos (7).

Por esta razón, resulta beneficioso debatir que los cepillos dentales contaminados favorece la aparición y desarrollo de las enfermedades bucales, ya que estos consiguen retener desde el inicio de la contaminación y durante varios días, significativos recuentos de microorganismos bucales, lo que facilita la propagación y traspaso de infecciones, por lo tanto, se recomienda el cambio frecuente del cepillo dental, mantener en buen estado el lugar de almacenamiento o de lo contrario, deberían ser desinfectados habitualmente los cepillos con sustancias efectivas en el control de tales microorganismos, como por ejemplo Digluconato de clorhexidina al 0,2 % que cuenta con

un 100 % de efectividad, Hipoclorito de sodio al 1 % que cuenta con una efectividad del 98 %, vinagre, perborato de sodio, entre otros, con niveles menores de efectividad, mejorando así al agua corriente (5,8).

De acuerdo a lo anterior, se plantea la siguiente pregunta: ¿Cómo varía el recuento de microorganismo *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* en los cepillos dentales de niños de 3 a 5 años, de acuerdo con las variables sociodemográficas, forma de almacenamiento, sitio de almacenamiento, número de veces que se cepillan, número de días de cepillado, fecha de inicio del cepillado y fecha en que termina el cepillado en dos jardines infantiles del área metropolitana de Bucaramanga?

1.2. Justificación

El cepillo dental, es considerado una herramienta elemental dentro de la higiene bucal. Sin embargo, este instrumento en especial las cerdas puede contaminarse de forma vertiginosa por microorganismos orales al igual que por enteras bacterias presentes en el ambiente sanitario. Los microorganismos de la cavidad oral pueden provocar alteraciones a nivel estomatológico por lo tanto es importante que cada profesional de la salud tenga en cuenta la cantidad y el tipo de bacterias presentes en los cepillos dentales colaborando a la prevención del desarrollo de tales microorganismos (9).

Es indispensable que las personas se enteren acerca de las consecuencias de un almacenamiento, mantenimiento y recambio inadecuado del cepillo dental ya que representa una significativa fuente de contaminación de toda la cavidad bucal y puerta de entrada de microorganismos asociados a infecciones sistémicas. El alto índice de enfermedades bucales debe motivar al odontólogo a enfatizar en la prevención de estas patologías educando a sus pacientes, con el fin de educarlos para promover en ellos los adecuados hábitos de higiene oral, utilizando las técnicas correctas e instrumentos necesarios en sus hogares (1).

Con el presente estudio las Clínicas de Odontología de la Universidad Santo Tomás podrán optimizar los procesos educativos en los estudiantes y así brindar una atención integral y de calidad a los pacientes, que acuden a los servicios que se prestan en cada una de las especialidades mejorando los contextos de salud oral de la población.

Para los futuros profesionales de la salud bucal, es indispensable educarse, conocer e investigar la etiología microbiana de las enfermedades infecciosas de la cavidad bucal, reconociendo la importancia de las alteraciones que pueden provocar las bacterias en los pacientes menores, ya que generalmente en los hogares infantiles no tienen en cuenta la buena atención odontológica.

2. Marco teórico

Las alteraciones de los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal continúan siendo una problemática de salud pública a nivel general. Los factores socioeconómicos, culturales y del estilo

de vida no sólo determinan hábitos dietéticos, de higiene bucodental y de atención odontológica, sino que se relacionan con el buen uso del cepillo dental (10).

Los trabajos sobre contaminación de los cepillos de dientes revelan que estos tienen altos porcentajes de microorganismos patógenos y oportunistas. La contaminación del cepillo dental ocurre no solo por los microorganismos de la boca, sino también por los del ambiente, especialmente de los sitios en donde son colocados los cepillos después de su uso (11).

La microbiología como ciencia analiza los seres vivos muy diminutos que no pueden ser percividos por el ojo humano. Nace de tres vocablos griegos, mikros: pequeño, bios: vida y logos: ciencia (12).

Los microorganismos ingresan al cepillo dental desde la cavidad bucal o del exterior, por gases contaminados, aerosoles y microorganismos que se encuentran en ambientes húmedos dentro del baño (1).

El aire presente en cualquier ambiente posee una gran carga microbiana aportada por las personas que se encuentran en estos sitios, las personas pueden transportar microorganismos ya sean en las diminutas fibras de la ropa o en la saliva eliminadas al estornudar o hablar, en el aire se encuentran microorganismos de formas esporulados (13).

2.1. Cavidad bucal

La cavidad bucal está conformada por un grupo de tejidos y de diversos microorganismos asociados a ellos, estableciendo así un gran ecosistema. La presencia de armonía entre la microbiota y los tejidos que conforman el ecosistema se emplea el término de eubiosis y cuando este se fragmenta se hace referencia a disbiosis que corresponderá a la boca enferma (14).

Cientos de diferentes microorganismos pueden vivir en la cavidad bucal organizados en distintas proporciones, según la zona evaluada. Los ecosistemas primarios bucales son: la mucosa, que recubre los labios, el paladar, las mejillas y la encía, formada por un epitelio escamoso estratificado. El dorso de la lengua, órgano musculoso y queratinizado. Las superficies dentales, constituidas por la corona, a nivel supra-gingival y el cemento radicular de localización sub-gingival. El surco gingival, espacio delimitado por la corona y cemento, el epitelio sulcular bucal y el epitelio de unión (14).

La saliva concentra los microorganismos que por desprendimiento provienen de otras áreas bucales especialmente del dorso de la lengua. Es importante la capacidad protectora para el hospedero, debido a que pacientes con presencia de xerostomía, el síndrome de Sjögren, o los sometidos a radioterapia, presentan disminución o atrofia de las glándulas salivales, provocando en estos pacientes una proliferación de la microbiota bacteriana acidógena (*Streptococcus mutans* y *Lactobacillus ssp.*)

2.2 Microbiota Bucal

La microbiota bucal, representa uno de los primeros hábitats microbianos en ser reconocidos y su descripción empieza desde el año 1863, cuando Anton Van Leeuwenhoek, presta atención de manera inicial en el microscopio a estos microorganismos en placas dentales (15).

La extensa variedad microbiana hace significativo percibir cómo se encuentran compuestos estos grupos de microorganismos en medio de la cavidad bucal, cómo interactúan y conservan su homeóstasis en el ser humano, considerando importante que la cavidad bucal es la entrada de probables infecciones al sistema gastrointestinal y respiratorio (16).

Existen numerosas colonias en el interior de la cavidad bucal, dentro de los múltiples microorganismos presentes en la cavidad oral, se han aislado Cocos G⁺ Facultativos, *Estreptococos*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus sanguinis* (*Streptococcus sanguis*), *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus constellatus* y *Streptococcus gordonii*, de todas estas especies el *Streptococcus mutans* ha sido la más estudiada (17,18).

Teniendo en cuenta lo anterior, este estudio se profundizó en dos microorganismos: *Streptococcus mutans* que es el agente primordial asociado a la caries dental y a las enfermedades infecciosas que afligen a los seres humanos factiblemente la más prevalente (18). El *Staphylococcus aureus*, es causante de infecciones cutáneas, neumonía, endocarditis y osteomielitis, es habitual relacionarlo con la aparición de abscesos (19).

2.3. Bacterias *Streptococcus* sp

Streptococcus mutans es el agente más importante vinculado a la caries dental, que es de las patologías infecciosas que afectan al ser humano posiblemente la más prevalente, por medio de cultivo y del producto patológico se muestran morfológicamente como cocos Gram positivos que se agrupan en pares y en pequeñas o extensas cadenas. Son anaerobios facultativos, no poseen catalasa y su tolerancia al oxígeno es a causa de las peroxidasa flavínicas y pseudocatalasas; no obstante, la carencia de ellas en ciertos casos y la fabricación en otros de peróxido de hidrógeno presumen unas condiciones perjudiciales que in vitro pueden evadirse con la implementación de sangre en los cultivos cuya catalasa descompondría el agua oxigenada. Por otro lado, su desarrollo en el aire se observa beneficiado por una atmósfera del 5-10 % de CO₂ (19,20).

Exhiben un metabolismo fermentativo y originan primordialmente ácido láctico. En los caldos, su progreso es muy versátil, empezando por su turbidez homogénea a granular atravesando por formas en cometa y depósitos en el fondo o las paredes. Su temperatura extremada de desarrollo es de 36 ± 1 °C y en proporción con las circunstancias de cultivo son muy diversas, desde los más rigurosos, hasta los que incluso se amplían en ambientes hostiles (20).

Los principales componentes de patogenicidad presentes en *Streptococcus mutans*, se evidencian los siguientes: el poder acidógeno, acidófilo y acidúrico, la síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles, y fructanos, la síntesis de polisacáridos intracelulares, la

capacidad adhesiva por las proteínas salivales, que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia y la producción de bacteriocinas con actividad sobre otros microorganismos (17).

Se ha comprobado que el *Streptococcus mutans* está asociado en el inicio de la lesión de caries, mediante estudios realizados quedó demostrada la presencia de elevados porcentajes de *Streptococcus mutans* en humanos, en las muestras de placa dental sobre lesiones de caries originarias de mancha blanca. Por otro lado, van Houte, en 1994, demostró que el *Streptococcus mutans* compone una elevada proporción de la flora cultivable antes y durante el inicio de la lesión de caries. Por otra parte, Becker y col, en 2002, por medio de técnicas moleculares de identificación bacteriana, indicando la aparición de *Streptococcus mutans* en todas las lesiones de caries profundas examinadas, demostrando una amplia relación entre esta especie con lesiones avanzadas de caries (17).

2.4. Bacterias *Staphylococcus* sp

El *Staphylococcus aureus* se enfatiza como un significativo patógeno humano, origina infecciones en la sociedad, así como en ambiente hospitalario. Las infecciones por *S. aureus* en la población son continuamente agudas, piogénicas y superficiales, pero también logra producir infecciones complejas como endocarditis aguda, neumonía y osteomielitis. A nivel nosocomial *S. aureus* es un trascendente patógeno de contaminaciones de heridas quirúrgicas y abscesos. Por otro lado *S. aureus* es origen de una cadena de infecciones derivadas por toxinas tal como el síndrome de piel escaldada, la intoxicación alimentaria y el síndrome del shock tóxico (19,21).

Los microorganismos en medios de cultivo crecen después de 18-24 horas de incubarse, creando colonias de 0.5-1.5 mm de diámetro. Las colonias de *S. aureus* se aprecian lisas, elevadas, brillantes y con bordes regulares, muestran consistencia cremosa y coloración de amarillo a dorado a causa de la elaboración de carotenoides, la totalidad de las cepas ocasionan β -hemólisis o hemólisis total en torno de las colonias después de cultivadas en agar sangre. *S. aureus* se distingue de los otros géneros por generar coagulasa que se caracteriza por su capacidad para coagular el plasma, no es débil al calor, ni la desecación y consigue progresar en medios con grandes cantidades de NaCl (7.5 %). *S. aureus* crece de manera correcta en medios de cultivos no selectivos, como el agar sangre, agar chocolate, y medios líquidos para hemocultivo donde se recupera sencillamente (22).

2.5. Cultivo de Microorganismos

La función de los medios de cultivo de microorganismos es suministrar condiciones nutritivas, físicas y químicas adecuadas para lograr que los microorganismos se multipliquen de manera controlada. Se logra diferenciar cultivos líquidos y sólidos en función de las particularidades del medio y cultivos discontinuos y continuos en función de la presencia de nutrientes en el medio (21).

Los medios de cultivo se clasifican en complejos puesto que se componen por mezclas de extractos de materiales complejos (extracto de levadura, extracto de carne, etc.), y definidos cuando su composición química se aprecia totalmente. De igual forma, los medios de cultivo son líquidos o sólidos si se agrega un agente solidificante que los microorganismos no sean capaces de debilitar (normalmente agar). Los medios de cultivos pueden ser: selectivos cuando propician el desarrollo de algunos microorganismos mientras destruyen el de otros, diferenciales cuando uno de sus componentes logra identificar colonias de un solo tipo de microorganismos, selectivo-diferencial cuando presentan las dos particularidades anteriores y medios enriquecidos que facilitan aislar un tipo explícito de microorganismo por medio de una mezcla (21).

El sistema más significativo para el reconocimiento de microorganismos es apreciar en sustancias alimenticias artificiales elaboradas en el laboratorio su crecimiento. El material en el que crecen los microorganismos es el Medio de Cultivo y el desarrollo de los microorganismos es el Cultivo. Para lograr un crecimiento adecuado de microorganismos en un medio de cultivo artificiales necesario presentar las siguientes condiciones: temperatura, grado de humedad, presión de oxígeno adecuadas y un grado adecuado de acidez o alcalinidad. Un medio de cultivo debe presentar los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar libre de todo microorganismo contaminante (21).

2.6. Medios de cultivo

Un microorganismo requiere para su adecuado crecimiento, nutrientes que le contribuyan energía y componentes químicos para la síntesis de sus componentes celulares. Según la fuente de carbono que empleen, los microorganismos se clasifican en autótrofos si es el CO₂ atmosférico (microorganismos que fotosintetizan) y heterótrofos si emplean carbono orgánico (22).

Existen una serie de Medios de cultivos, a continuación, se explicarán: Agar Baird-Parker el cual inhibe el desarrollo de géneros diferentes al del *Staphylococcus aureus* y Agar Salivarius Mitis el cual inhibe el desarrollo de géneros diferentes al de *Streptococcus mutans* son medios de cultivos selectivos y diferenciales que permiten específicamente el crecimiento de estos microorganismos cada uno correspondiente, pero además permite reconocer el desarrollo característico del microorganismo buscado. Seleccionados para el recuento de los microorganismos *Streptococcus mutans*, y *Staphylococcus aureus*.

2.6.1. Agar Salivarius Mitis. Es un medio sólido implementado para su uso en estudios cualitativos para el aislamiento selectivo de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus salivarius*.

Uno de los componentes más importantes es La telurita de potasio que ayuda a que el medio sea selectivo para los estreptococos. Ocasionalmente, cepas de *Streptococcus mutans*, puede inhibirse en la base de agar de Mitis Salivarius debido a la alta concentración de azul tripán en el medio (23).

2.6.2. Agar Baird-Parker. Es un medio selectivo - diferencial para el aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus* en muestras ambientales, alimentos y clínicas.

Es un medio parcialmente selectivo que emplea la capacidad de los estafilococos de disminuir el telurito a telurio y descubrir la lecitinasa a partir de la lecitina del huevo.

El Agar Baird-Parker posee fuentes de nitrógeno y carbono requeridas para el crecimiento de microorganismos. El cloruro de litio, la glicina y el telurito potásico funcionan a manera de agentes selectivos. La yema de huevo compone el sustrato para fijar la actividad de la lipasa y la producción de lecitinasa. Los estafilococos originan colonias de coloración de gris oscuro a negro debido a la reducción del telurito; los estafilococos que originan lecitinasa producen zonas transparentes junto a las colonias correspondientes. Descomponen la yema de huevo y Es probable que se forme una zona de precipitación debido a la actividad de lipasa. El medio no debe utilizarse para el aislamiento de estafilococos diferentes de *S. aureus* (22).

2.7. Cepillos de dientes

El cepillo dental se constituye de dos porciones: mango y cabezal. Dependiendo la dureza de las cerdas se cataloga en: ultra suave, suave, normal o duro. El uso promedio de un cepillo dental es de tres meses. Es necesario realizar un cambio del cepillo en el momento que las cerdas se doblen hacia los lados, esto puede ocasionar lesiones en las encías, en el momento que ocurre esto el cepillo ya no cumple su función de limpieza.

En la actualidad se presentan diversos tipos de cepillos y se debe implementar el más adecuado a las necesidades requeridas:

- Cepillo convencional: con tres o cuatro tiras de cerdas, es el de mayor preferencia y uso por las personas.
- Cepillo periodontal: llamado sulcular o crevicular, posee dos tiras de cerdas. Se maneja en casos de inflamación gingival y surcos periodontales profundos. Es aconsejable utilizar en niños con ortodoncia fija.
- Cepillo eléctrico: posee tres tipos de inclinación horizontal, alternado, vertical arqueado o vibratorio. Son funcionales en personas con disminuciones físicas o mentales, a causa del sencillo manejo por parte del paciente o de quien le colabora con su cepillado.
- Cepillos interproximales: Son requeridos para la limpieza entre las piezas dentales espaciadas, o cuando hay presencia de un puente en porcelana o dientes ferulizados (unidos, soldados). También se usan con el mismo fin, para limpiar los implantes, al ras o entre el surco de la encía, por debajo de la estructura que sostiene los dientes de porcelana (23).

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar el conteo diferencial de microorganismos, *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* en los cepillos dentales de niños de 3 a 5 años de dos jardines infantiles de Bucaramanga.

3.2 Objetivos específicos

- Describir la población de estudio.
- Determinar el número de microorganismos *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* de acuerdo con las características sociodemográficas de la población.
- Determinar el número de microorganismos *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* de acuerdo con la frecuencia de cepillado y tipo de almacenamiento del cepillo.

4. Materiales y Métodos

4.1 Tipo de Estudio

Se realizó un estudio observacional analítico de corte transversal, ya que se midió el recuento de los microorganismos presentes en los cepillos de dientes de los niños en relación con algunas variables independientes de interés. Es un estudio observacional analítico de corte transversal porque la muestra se tomó en un momento determinado y hubo un grupo de comparación (24) (25).

4.2 Selección y descripción de participantes

4.2.1 Universo. Para la investigación se tomó como universo de estudio 24 cepillos de niños cuyas edades oscilaban entre los 3 y 5 años, vinculados a dos jardines infantiles del área metropolitana de Bucaramanga.

4.2.2 Muestra y tipo de muestreo. No se realizó un cálculo de tamaño de muestra debido a que se tomaron los niños que estaban vinculados con dos grupos de clase en el jardín Logos y La Gata Golosa. El tipo de muestreo fue por conveniencia, y estuvo comprendida por los 24 cepillos entregados a los 24 niños seleccionados los cuales oscilaban entre los 3 a los 5 años. El entorno de inclusión que se tuvo en cuenta para el estudio, son los niños que utilizan sus cepillos en el sitio. La técnica utilizada para determinar el tipo de muestreo fue probabilístico aleatorio simple por medio de un programa llamado nsetup.org, el número de muestra se limitó al número de cultivos disponibles dentro de la Universidad Santo Tomás, seccional Floridablanca, se tomaron los cepillos de niños de 3 a 5 años debido a que el cepillado de los niños es controlado en esas edades en los dos jardines.

4.2.3 Criterios de selección

4.2.3.1 Criterios de inclusión. Cepillos dentales de niños de 3 a 5 años de los dos jardines escogidos en la ciudad de Bucaramanga que fueran utilizados dentro del jardín durante el tiempo de investigación.

4.2.3.2 Criterios de exclusión. Cepillos que fueran sacados del jardín infantil.

4.3 Variables (Apéndice A)

4.3.1 Variables dependientes

- Recuento de *Streptococcus mutans*

Definición conceptual: es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo que se hallan normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa dental o biofilm dental. Son asociados al inicio y desarrollo de la caries dental.

Definición operacional: es el recuento de colonias que se observan en el cultivo luego de revisar en el contador de colonias digital.

Naturaleza: cuantitativa.

Escala de medición: razón.

Valor que asume: Conteo reportado.

Objetivos: 1 y 2.

- Recuento de *Staphylococcus aureus*

Definición conceptual: Son un coco Gram positivos anaerobios facultativos, productor de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada, que se localiza distribuida por todo el mundo, estimándose que unas de cada tres personas se hallan colonizadas, sin embargo no infectadas, por esta bacteria.

Definición conceptual: es el recuento de colonias que se observan en el cultivo.

Naturaleza: cuantitativa.

Escala de medición: razón

Valor que asume: Conteo reportado.

Objetivos: 1 y 2

4.3.2 Variables independientes

- Edad

Definición conceptual: tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.

Definición operacional: Años cumplidos en el instante de la entrega del cepillo.

Naturaleza: cuantitativa

Escala de medición: razón

Valor que asume: Edad reportada por la coordinadora del colegio.

Objetivos: 1

- Estrato socioeconómico

Definición conceptual: Nivel de clasificación de la población con particularidades similares en cuanto al nivel de riqueza y calidad de vida, determinado de manera directa mediante las condiciones físicas de las viviendas y su localización.

Definición operacional: número de estrato referido por la institución.

Naturaleza: cualitativo.

Escala de medición ordinal.

Valor que asume: estrato reportado por la coordinadora del colegio.

Objetivos: 1

- *Sexo*

Definición conceptual: Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.

Definición operacional: Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras en cada uno de los participantes.

Naturaleza: cualitativo.

Escala de medición: nominal.

Valor que asume: masculino (0), femenino (1)

Objetivos: 1

- *Forma de almacenamiento*

Definición conceptual: forma que rodea a un cuerpo o circula a su alrededor.

Definición operacional: forma como almacena su cepillo de dientes de acuerdo a lo referido por la institución.

Naturaleza: cualitativo.

Escala de medición nominal.

Valor que asume: abierto (0), cerrado (1)

Objetivos: 2

- *Sitio de almacenamiento*

Definición conceptual: Que rodea a un cuerpo o circula a su alrededor.

Definición operacional: sitio de almacenamiento del cepillo de dientes de acuerdo con lo referido por la institución.

Naturaleza: cualitativo.

Escala de medición nominal.

Valor que asume: salón (0), baño (1)

Objetivos: 2

- *Frecuencia de cepillado al día*

Definición conceptual: Acción de cepillar, quitar la suciedad o alisar una superficie.

Definición operacional: Número de veces que se cepilla referido por el docente supervisor.

Naturaleza: cualitativa.

Escala de medición ordinal.

Valor que asume: datos reportados por la docente supervisora del cepillado.

Objetivos: 2. (Ver apéndice A).

- *Números de días de cepillado*

Definición conceptual: Acción de cepillar, quitar la suciedad o alisar una superficie.

Definición operacional: Número de días que se cepilla referido por el docente supervisor.

Naturaleza: cuantitativa.

Escala de medición razón

Valor que asume: días reportados por la docente supervisora del cepillado.

Objetivos: 2. (Ver apéndice A).

- *Fecha de inicio de cepillado*

Definición conceptual: día de iniciar el cepillado dental.

Definición operacional: día de inicio referido por el docente supervisor.

Naturaleza: cuantitativa.

Escala de medición nominal

Valor que asume: Fecha exacta de inicio del cepillado reportado por la docente supervisora del cepillado.

Objetivos: 2.

- *Fecha de terminación de cepillado*

Definición conceptual: día que termina el cepillado dental.

Definición operacional: día que termina el cepillado referido por los investigadores.

Naturaleza: cuantitativa.

Escala de medición nominal

Valor que asume: Fecha exacta de terminación del cepillado reportado por los investigadores.

Objetivos: 2.

4.4 Instrumento

Se realizó una encuesta dirigida a los colegios donde se estipularon preguntas puntuales, cerradas y abiertas con únicas respuestas con relación a nombre del colegio, estrato social del niño, la edad del niño al momento de la entrega del cepillo, el sexo, las formas en que almacenan cada uno los cepillos de dientes, si lo almacenan en un ambiente cerrado o abierto, el número de veces que se cepillan dentro del colegio. Al final del instrumento, se situó en dos cuadros el conteo de microorganismos que resulto de los dos cultivos realizados a cada cepillo de cada niño (Apéndice B).

4.5 Prueba piloto

Se realizó durante el curso de microbiología realizado por los estudiantes participantes en la investigación María Fernanda Gutiérrez Becerra, Evelyn Juliana Morales Celis y Jaime Alberto Mantilla Mantilla la prueba piloto, en el proceso observamos que se debe trabajar con toda la bioseguridad requerida para el ingreso al laboratorio para evitar la contaminación de las muestras, todo el material requerido debe ser estéril y marcado para evitar confusiones, la cabeza de los cepillos recolectados se debe introducir en un frasco con 10 ml de solución salina, en la prueba piloto encontramos que entre menor cantidad de solución salina sea utilizada mayor es la concentración de los microorganismos disueltos, los tiempos de incubación de los medios debe ser el dicho por la literatura, en la prueba se tomaron 3 cepillos detalles que fueron utilizados por un

periodo de 15 días, los microorganismos se incubaron por un tiempo de 16 horas y el crecimiento observado fue menor del requerido para realizar el recuento de UFC.

En la prueba piloto observamos que es necesario el acompañamiento de un profesional en el área de microbiología para el desarrollo de la investigación dentro del laboratorio.

4.7 Procedimiento

Los estudiantes investigadores realizaron previamente al desarrollo del trabajo de campo el curso de técnicas básicas en microbiología con una intensidad horaria de 36 horas, el curso fue realizado en la universidad santo tomas seccional Floridablanca.

Para el estudio se contó con la participación de 24 niños de 3 a 5 años de edad, 12 niños del jardín infantil la gata golosa vinculado al instituto colombiano de bienestar familiar y 12 niños del colegio logos institución privada, ambos sitios situados en la ciudad de Bucaramanga.

Se realizó una carta a los directivos del jardín infantil “La Gata Golosa” vinculado al Instituto Colombiano de Bienestar Familiar y al colegio “Logos” institución privada del área metropolitana de Bucaramanga, donde se solicitó autorización de los investigadores participantes para el acceso a las instituciones educativas con el fin de realizar la investigación y firmando un consentimiento informado institucional, las directivas de los colegios accedieron la participación y suministraron las listas de los estudiantes cuyas edades estaban entre 3 y 5 años de edad, a cada niño se le asignó como identificación un número, por medio de un programa virtual llamado nosetup.org se realizó una selección aleatoria simple de los niños a participar en el estudio, así se realizó la selección de los primeros cuatro cepillos de cada institución que fueron recolectados y de igual forma los siguientes 8 cepillos, se recolectaban 8 cepillos de ambas instituciones semanalmente durante 3 semanas, para lograr el diligenciamiento del instrumento y recolectar los datos de los niños, se contó con la colaboración de las directivas de las dos instituciones, dejando como constancia la firma del consentimiento informado institucional suministrado por la universidad santo tomas seccional Floridablanca.

Los docentes a cargo de cuidar y vigilar a los niños, se encargaron de que cada niño le diera uso único a su cepillo, también de que se cepillaran después del desayuno y del almuerzo, dejando su cepillo individual en el sitio correspondiente en cada cepillero; un cepillero ubicado dentro del aula de clases que es el del colegio Logos y otro cepillero dentro de los baños que es el cepillero del jardín *La Gata Golosa* esto se realizó durante un tiempo de 23 días, esto con el fin de tener en cuenta la variable días de cepillado entre los niños.

La entrega de los cepillos se realizó en el jardín la gata golosa y en el colegio Logos, al haber transcurrido un tiempo determinado se realizó la recolección de cepillos de la siguiente manera: a los primeros 15 días se realizó la recolección de 4 cepillos seleccionados aleatoriamente de cada colegio, a los 21 días después de la entrega se realiza la recolección de otros 4 cepillos seleccionados aleatoriamente y por último a los 27 días después de la entrega se realiza la recolección de los últimos 4 cepillos.

En el tiempo en el que se encontraron en uso los cepillos, los estudiantes participantes en la investigación María Fernanda Gutiérrez Becerra, Evelyn Juliana Morales Celis y Jaime Alberto Mantilla Mantilla realizaron la parte de bioseguridad del laboratorio, lavado y esterilización de materiales a utilizar en el laboratorio, elaboración de los medios de cultivos a utilizar.

Cumplidos los 15 días de uso diario de los cepillos, se acudió al hogar infantil a realizar la recolección de los cepillos dentales, el estudiantes participante en la investigación Jaime Alberto Mantilla Mantilla, acudió con toda la bioseguridad y material necesario, tomo cada cepillo seleccionado se les corto la cabeza y se introdujo dentro de frascos con tapa que contenían 10 ml de solución salina estéril cada uno, el corte de las cabezas de los cepillos se realizó con un cortafríos debidamente lavado y flameado entre corte y corte para la eliminación de los microorganismos que se pudieran adherir a este, los frascos con las cabezas de los cepillos se trasportaron al laboratorio de microbiología de la Universidad Santo Tomás seccional Floridablanca en una caja desinfectada con hielo.



Figura 1. Recolección y corte de las cabezas de los cepillos dentales

En el transcurso de ese tiempo las participantes en la investigación María Fernanda Gutiérrez Becerra y Evelyn Juliana Morales Celis adecuaban el sitio de trabajo dentro del laboratorio, para la llegada de las cabezas de los cepillos y la realización de las siembras.

Una vez las cabezas de los cepillos se encontraban en el laboratorio de la Universidad Santo Tomas se procedió con la bioseguridad correspondiente a llevar cada frasco al vortex para homogeneizar la muestra y facilitar que los microorganismos adheridos a la cerdas de las cabezas se desprendieran.



Figura 2. Procesamiento de muestras



Figura 3. Cabina flujo laminar

Posteriormente se iniciaron las diluciones de la muestra en la cabina de la siguiente manera:

Primero se marcaron los tubos con solución salina, posteriormente se realizó las diluciones decimales hasta 10^{-3} . Previamente de haber preparado una serie de tubos que contenían cada uno 4.5ml de solución salina estéril; de la muestra homogeneizada se transfiere 0.5 microlitos con una

pipeta automática al tubo #1 que contiene una solución salina estéril con 4.5ml agitándolo homogéneamente en el vortex y tomando de este 0.5ml y transfiriéndolo al tubo #2, realizando el mismo procedimiento y así consecutivamente hasta el tubo #3, obteniendo diluciones tubo 1 10^{-1} , tubo 2 10^{-2} , tubo 3 10^{-3} .



Figura 4. Dilución de la muestra



Figura 5. Frascos con solución salina

Una vez terminadas las diluciones se inició la siembra en placas sobre superficie.

De cada dilución se transfirió 0.1 ml de la de menor concentración a la de mayor a los medios de cultivo para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*, se realizó la siembra utilizando el asa de digralsky para distribuir en cada uno de los medios a utilizar, se debía realizar dos siembras por cada dilución en cada medio.



Figura 6. Transferencia de la solución a los medios



Figura 7. Asa de diagralsky y bolsas de anaerobiosis

Una vez concluida la siembra, las cajas Agar Baird-Parker para el aislamiento del *Staphylococcus aureus* se ubican en la incubadora en aerobiosis a una temperatura de 37°C durante 24 horas, estas cajas se empacaran en papel cristaflex de a 5 cajas, las cajas Agar Salivarius Mitis para el aislamiento de *Streptococcus mutans* se depositarán en bolsas de anaerobiosis y se llevarán a incubar en una temperatura de 37°C durante 48 horas.

Una vez obtenido el crecimiento se elige la caja que tenga entre 30 y 300 UFC, se realizará el conteo de colonias en cada una de las cajas ayudado por el equipo contador de colonias. A cada una de las colonias aisladas se le realizará una coloración de Gran para la observación de la morfología, ordenamiento y la tinción y se hace la observación macroscópica de las colonias. De acuerdo con el recuento de colonias de cada una de las soluciones, se llevan los datos obtenidos a la base de datos.

Protocolo preparación del medio de cultivo agar Salivarius Mitis

1. Pesar 135 gr de Agar Salivarius Mitis en una balanza, luego disolverlos en 1.500 ml de agua destilada y estéril en un Erlenmeyer.
2. Agregar 225 gr de sacarosa hasta que la solución sea homogénea, luego se calienta la mezcla en la estufa y se lleva al autoclave a una temperatura de 121° C a 15 libras de presión durante 15 minutos.
3. Luego se deja enfriar hasta 45° C, se adiciona 1.5 ml de telurito potásico al 1 % medido con una pipeta automática y se incorpora 1.5 ml de bacitracina a concentración de 200 u/ml.
4. Después, se vacía la solución en cajas de Petri hasta esperar la gelificación deseada. Luego se almacena bajo refrigeración hasta su utilización. Se lleva un plato de agar a la incubadora como control para comprobar su esterilidad. Estos medios de cultivo sólo se pueden almacenar durante una semana debido al tiempo útil de la bacitracina.
5. Se debe incubar en atmósfera de anaerobiosis durante 48 horas a 37°C.



Figura 8. Agar Parker con emulsión yema de huevo y telurito



Figura 9. Agar salivarius mitis con sacarosa, telurito de potasio y bolsas de anaerobiosis

Protocolo preparación del medio de cultivo agar baird parker:

1. Pesar 94.5 gr de Agar Baird Parker en una balanza, luego disolverlos en 1.500 ml de agua destilada y estéril en un Erlenmeyer;

2. se calienta la mezcla en la estufa y se lleva al autoclave a una temperatura de 121° C a 15 libras de presión durante 15 minutos.
3. Luego se deja enfriar hasta 45° C, se adiciona °C y añadir 75 ml de emulsión estéril yema de huevo-telurito, Mezclar uniformemente y preparar placas de Petri.
4. Después, se vacía la solución en cajas de Petri hasta esperar la gelificación deseada. Luego se almacena bajo refrigeración hasta su utilización. Se lleva un plato de agar a la incubadora como control para comprobar su esterilidad.



Figura 10. Preparación de Agares y medios



Figura 11. Medios de cultivos

Pasos Para el procesamiento de las muestras

1. Antes de ingresar al laboratorio, el personal deberá contar con la indumentaria exigida según las normas de bioseguridad (bata antifluidos, gorro, tapabocas, careta y por ultimo guantes). Además de proteger al personal que manipula las muestras de cualquier agente patógeno, las barreras de bioseguridad también evitan la contaminación y alteración de la muestra.
2. Las cabezas de los cepillos serán cortadas y depositadas en 15 ml de solución salina.
3. Una vez recolectadas las muestras deben ser almacenadas en un medio para su adecuada refrigeración (4 - 8°C), esto con el fin de evitar alteraciones en su naturaleza.
4. Las muestras obtenidas deben ser homogenizadas en vortex por 20 segundos
5. Se requiere diluir las muestras (1:100, 1:10.000) en tubos con solución salina a temperatura ambiente; 500 microlitros medidos con una micropipeta.
6. Cada dilución de la muestra debe ser sembrada en cajas de Petri en donde previamente es preparado el Agar Mitis Salivarius con bacitracina y sacarosa, preparado bajo las indicaciones del

fabricante, iniciando con la dilución de mayor concentración a la de menor concentración y así con el agar Baird parker.

Pasos Para llevar a cabo la siembra microbiológica

1. La siembra microbiológica se debe realizar con asas de vidrio con movimientos circulares girando sobre el mismo eje para obtener un sembrado más uniforme.
2. Cada muestra se debe rotular con los siguientes datos:
 - Fecha en la que la muestra fue tomada
 - Número de identificaron de cada cepillo.
3. Las cajas de Agar Mitis Salivarius deben ser llevadas a la incubadora, en atmósfera de anaerobiosis con Indicador a 37° C durante 48 horas, y las cajas de Agar Baird parker se llevan a la incubadora a una temperatura de 37° C durante 24 horas
4. Posterior al tiempo de incubación se realizara el recuento de UFC sospechosas de Streptococcus mutans y Staphylococcus aureus para cada muestra según las recomendaciones estándar.
5. Se interpretan los cultivos primero sosteniendo la caja en una mano bajo luz brillante directamente de una manera oblicua, se debe girar para observar todos los cuadrantes para evaluar las siguientes características: forma, color, tamaño, elevación, margen, densidad y superficie.
6. Posteriormente se identificarán los microorganismos por medio de la tinción de Gram

4.8 Plan de análisis estadístico

4.8.1 Análisis univariado. Para las variables cuantitativas como edad y los conteos de los diferentes microorganismos se reportarán la media y la mediana con su respectiva desviación estándar o rango intercuartílico dependiendo la distribución obtenida por la prueba de Shapiro Wilk. Para las variables cualitativas como estrato socio económico sexo, tipo de almacenamiento Colegio, frecuencia en cepillado se reportará frecuencias absolutas y porcentajes (Ver apéndice C).

4.8.2 Análisis bivariado. Se evaluará la diferencia en el conteo de microorganismos de acuerdo con las variables independientes de interés. Para evaluar las diferencias en el caso de estrato socioeconómico y frecuencia de cepillado se utilizara la prueba Anova/Kruskall Wallis dependiendo la distribución de los conteos. Además para evaluar la diferencia por sexo, tipo de almacenamiento y colegio se utilizara la prueba T Student/u Man Whitney de acuerdo a la distribución de los conteos dada por la prueba Shapiro Wilk y para evaluar la relación con la edad se utilizara la correlación de Pearson / Spearman (Ver apéndice D).

4.9 Consideraciones éticas

La investigación según el artículo 11 de la resolución 8430 de 1993 se clasifica en una investigación sin riesgo debido a que no se realizara ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos que colaboran en el estudio, la clasificación de los microorganismos que se manipularan se encuentran dentro del grupo de riesgo I, Microorganismos que representan escaso riesgo para el sujeto, el investigador y para la comunidad. Para el progreso de este estudio se contará con las instalaciones y el equipo de laboratorio de acuerdo con las normas técnicas que garanticen el manejo seguro de tales gérmenes, se respetaran los cuatro principios éticos, los participantes se tratarán con igualdad, todos tendrán las mismas condiciones, las instituciones accedieron mediante una carta de ingreso de los participantes de la investigación a las instituciones y firmaron el consentimiento informado institucional, las directivas de cada institución fueron las que suministraron los datos de los participantes.

5. Resultados

En el estudio participaron 24 niños con un promedio de edad de 3,3 años, 12 niños pertenecían a una institución educativa del Bienestar familiar "La Gata Golosa", presentaban las siguientes características; estrato socioeconómico 2 y los cepillos asignados fueron almacenados en un sitio cerrado y dentro del baño. Los otros 12 niños pertenecían a la institución educativa "Logos", los cuales presentaban las siguientes características; estrato socioeconómico 4 y los cepillos asignados fueron almacenados en un cepillero abierto y dentro de los salones al aire libre.

Tabla 1. *Muestra de participación de los niños*

Variables	n (%)
Sexo	
Femenino	16 (66,7)
Masculino	8 (33,3)
Colegio	
Logos	12 (50,0)
Gata Golosa	12 (50,0)
Estrato	
Estrato 2	12 (50,0)
Estrato 4	12 (50,0)
Forma almacenamiento	
Abierto	12 (50,0)
Cerrado	12 (50,0)
Sitio almacenamiento	

Baño	12 (50,0)
Salón	12 (50,0)
Días de cepillado	
14 días	8 (33,3)
19 días	8 (33,3)
24 días	8 (33,3)

6. Discusión

Se observó que no hubo crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* en los medios específicos para ellos en los diferentes periodos de evaluación (7, 14 y 21 días). Este hallazgo coincide con estudios publicados (26). No obstante, es necesario mencionar que se observó un crecimiento mínimo de microorganismos *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, menor a 30 UFC, por lo cual el resultado del recuento fue negativo para realizar el conteo.

Este trabajo mostró que el uso y almacenamiento adecuado del cepillo dental es esencial en la prevención de la contaminación de este por agentes invasores como los microorganismos *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.

Estudios demuestran que el hábitat primario de *Staphylococcus aureus* es la mucosa y la piel de seres humanos. Este microorganismo puede existir de modo permanente o transitorio (27). Es una especie sensible a la acción de la temperatura y de los desinfectantes entre estos, podría ubicarse a la crema dental la cual pudo afectar el crecimiento del microorganismo en los cepillos

Se ha sugerido que *Streptococcus mutans* es causa necesaria pero no suficiente para el desarrollo de lesiones de caries dental (28). Los niños participantes en este trabajo no fueron examinados clínicamente, pero las docentes supervisoras quienes cepillaban a los menores reportaron que no tenían lesiones cariosas cavitacionales. Este dato coincide con el trabajo de Chaustre y colaboradores quienes encontraron una prevalencia de lesiones cariosas cavitacionales de 34 % en niños de 3 a 5 años matriculados con los hogares infantiles del Instituto Colombiano Bienestar Familiar (29).

Raiyani y colaboradores, encontraron que los cepillos evaluados estaban muy contaminados con múltiples microorganismos luego de 30 días de uso (30). Es posible que si en este estudio se hubieran evaluado otro tipo de microorganismos, el resultado habría sido diferente dado que se observó el crecimiento de bacterias gram negativas en el agar Mitis Salivarius. Es importante resaltar que los menores solo utilizaban los cepillos dentales dentro de los jardines.

Estudios donde se hallaron múltiples microorganismos utilizaron medios de cultivo enriquecido y no selectivo de tal forma que permiten una mayor diversidad de crecimiento bacteriano cuando en la muestra existen bacterias viables, lo que hace que al recuento se observen altos porcentajes de microorganismo. Por el contrario, el uso de medios de cultivos selectivos y diferenciales limita el

crecimiento de diferentes microorganismos, lo cual al momento de hacer el recuento únicamente se va a observar el microorganismo deseado, y si este no está presente en la muestra no se podrá realizar un conteo significativo. (31).

Pesevska y colaboradores, resaltaron que en el estudio hubo un método adecuado del cepillo dental y los participantes estaban libres de caries, por lo tanto la ausencia del *S. mutans*, El tiempo es un factor influyente para el crecimiento de los microorganismos, el uso de los cepillos dentales durante un periodo de tiempo prolongado promueve la supervivencia bacteriana. Además, mostraron un alto nivel de contaminación bacteriana después de transcurrido el primer mes de uso del cepillo dental (32).

Naik y colaboradores, evidenciaron la ausencia de microorganismos en cepillos dentales en dos de tres grupos estudiados, resaltando el tiempo, higiene bucal y cuidado del cepillo dental como causa (26).

Una posible limitación de este trabajo fue la cantidad de bacitracina incluida en el medio puesto que no se conoció la concentración de este producto. Cabe señalar que el tiempo y el número de participantes fueron reducidos.

Sin embargo, entre las fortalezas se cuenta la capacitación de los investigadores realizada en el Laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Santo Tomás y el aprendizaje obtenido en este espacio. Otro aspecto importante es que se incluyó una población de bajos recursos a los que se les impartieron charlas sobre higiene bucal.

6.1. Conclusiones

Al realizar este estudio se encontraron microorganismos *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* en una cantidad menor a la requerida para realizar un recuento de unidades formadoras de colonias tanto en los cepillos utilizados por la población estrato 2 como en la población estrato 4, en los cepillos almacenados en el salón como en el baño, el estudio dio como resultado un recuento negativo para *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.

El resultado de esta investigación estuvo influenciado por la buena higiene oral de la población y el estado de salud de los mismos ya que fueron seleccionados niños sin compromisos sistémicos ni patologías.

6.2 Recomendaciones

estudios realizados que demuestran gran cantidad de contaminación microbiana en cepillos dentales fueron realizados en tiempos no menores a 1 mes, se recomienda en estudios futuros estudiar cepillos dentales con uso mayor a 20 días.

Es importante analizar la poblacion de estudio y ver si los microorganismos seleccionados para el estudio suelen estar presentes, microorganismos patogenos suelen estar con mayor relevancia en poblacion con enfermedades y no sanas.

Se recomienda en estudios de microorganismos presentes en cepillos dentales, realizar un examen oral a la poblacion y cuestionar si es viable el estudio de los microorganismos en dicha poblacion, ya que puede que no sean huespedes vulnerables para que los microorganismos puedan estar presentes.

7. Referencias bibliográficas

- (1) Arias L, Hernández V, Aránzazu G, Martínez C. Hábitos de higiene y mantenimiento de cepillo dental antes y después de la aplicación de un material educativo. *Revista Ustasalud*. 2009; 8: 37-43.
- (2) Ryan KJ, Ray CG. *Sherris medical microbiology: an introduction to infectious diseases*. 4 ed; McGraw-Hill; 2004.
- (3) Contreras A, Arce RM, Botero JE, Jaramillo A. Contaminación bacteriana de cepillos dentales en niños y sus padres: una cuestión de educación. *Rev Estomato*. 2002; 10(2): 4-12.
- (4) Ojeda JC, Oviedo E, Salas LA. *Streptococcus mutans* y caries dental. *CES Odont*. [Internet]. 2013; 26(1): 44-56. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005&lng=en
- (5) Cervantes E, García R, Salazar PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2014; 61(1): 28-40.
- (6) Organización Mundial de la Salud. Salud bucodental [Internet]. 2012. Recuperado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>
- (7) Negroni, M. *Microbiología Estomatológica*. 2 ed. Panamericana. Buenos Aires; 2014
- (8) Cadena E, Delgado J, Peña D, Sánchez P, Gutiérrez S, Contreras A, et al. Contaminación de cepillos dentales denominados antibacteriales. Estudio in vitro. *Rev. Estomatol*. 2014; 22(1): 9-14.
- (9) Muñoz U, Uribe JA, Guacará HM, Del Río L, Güiza B, Barrera JP. Efectividad de cepillos dentales antimicrobianos después de tres meses de seguimiento. *Revista Colombiana de Investigación en Odontología*. 2013; 4(10): 19-32.
- (10) Herrera LV, Caballero SG, Claro A, Torres H, Martínez CA. Actividad antimicrobiana del ácido acético 5% y el cepillo Colgate 360° antibacterial®: un estudio in vitro. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*. 2012; 24(1): 62-75
- (11) Balarezo MG. Tipos de microorganismos encontrados en cepillos dentales utilizados por niños de 6-8 años de la Institución Educativa Miguel de Hierro, Quito [Trabajo de grado]. Quito: Universidad de las Américas; 2017.
- (12) González AM, González BA, González E. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. *Nutr. Hosp* [Internet]. 2013; 28(4): 64-71. Recuperado de: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000008&lng=e
- (13) Gaviria PA, Rosales HL, Contreras A. Contaminación in vitro de cepillos dentales. *Rev. Estomatol*. 2001; 9(2): 14-20.
- (14) Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Introducción a la microbiología*. Ed. Médica Panamericana; 2007.
- (15) Jaime MI, Vera LL, Gutiérrez PD. Aislamiento de microorganismos presentes en el aire de los baños del bloque A de la Universidad el Bosque. *Nova – Publicación científica en ciencias biomédicas*. 2008; 6(10): 156-161.

- (16) Liébana J. Microbiología Oral. Interamericana McGraw-Hill. Barcelona; 2002.
- (17) Serrano HA, Sánchez MS, Cardona N. Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. CES Odont 2015; 28(2): 112-118.
- (18) Cerrón E. Infecciones de origen odontogénico [Trabajo de grado]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2017.
- (19) Torres M. Interacciones huésped-parásito. Flora normal. Temas de bacteriología y virología médica. Recuperado de: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Floranormal.pdf>
- (20) Ojeda JC, Oviedo E, Sala LA. Streptococcus mutans and dental caries. CES Odont. 2013; 26(1): 44-56.
- (21) Bush LM, Schmidt CE, Pérez MT. Infecciones por estafilococos. Manual MSD. Recuperado de: <http://www.msdmanuals.com/es-co/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-estafilococos>
- (22) Marcelino M, Barranca A. Manual de Técnicas de Higiene Oral. Universidad Veracruzana Región Veracruz Salud Bucal. 2011. Recuperado de: <https://www.uv.mx/personal/abarranca/files/2011/06/Manual-de-tecnicas-de-Higiene-Oral.pdf>
- (23) Núñez DP, García L. Bioquímica de la caries dental. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2010; 9(2): 156-166.
- (24) Dulcey E, Flórez E, Hurtado C, Rodríguez C, Rodríguez M. Prevalencia de caries dental asociada a placa dentobacteriana y recuento de unidades formadoras de colonias sospechosas de Streptococcus Mutans/Ml en escolares entre los 6 y 11 años de Floridablanca [Trabajo de grado]. Bucaramanga: Universidad Santo Tomás; 2010, 38:48.
- (25) Manterola, C. & Otzen, T. Estudios observacionales. los diseños utilizados con mayor frecuencia en investigación clínica. Int. J. Morphol. 2014; 32(2):634-645.
- (26) Naik R, Ahmed Mujib BR, Telagi N, Anil BS, Spoorthi BR. Contaminated tooth brushes-potential threat to oral and general health. Journal of family medicine and primary care. 2015; 4(3): 444-448.
- (27) Graciela B Jordá, Raúl S Marucci, Adriana M Guida, Patricia S Pires, Eduardo A Manfredi. Portación y caracterización de Staphylococcus aureus en manipuladores de alimentos Carriage and characterization of Staphylococcus aureus in food handlers. Revista Argentina de Microbiología 2012; 44(2): 101-104.
- (28) Figueroa Gordon M, Acevedo AM, Alonso G. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de Caries dental. Acta Odontológica Venezolana 2009; 47(1): 227-240.
- (29) Chaustre LK, Calderon LS, Saucedo VM, Rodriguez MJ, Mejia LP. Calidad de vida relacionada con la salud oral en preescolares vinculados con el instituto colombiano de bienestar familiar de Bucaramanga según la versión peruana del *Early Childhood Oral Health Impact scale* [Trabajo de Grado]. Bucaramanga: Universidad Santo Tomás; 2016.
- (30) Raiyani CM, Arora R, Bhayya DP, Dogra S, Katageri AA, Singh V. Assessment of microbial contamination on twice a day used toothbrush head after 1-month and 3 months: An in vitro study. J Nat Sci Biol Med. 2015; 6(Suppl 1): S44-8.
- (31) Jaramillo A, Aragón N, García LM. Identificación de bacterias periodontopáticas en cepillos dentales con y sin agente antibacterial/Identification of periodontopathic bacteria on toothbrushes with and without antibacterial agent. CES Odontología 2015; 28(1): 21.
- (32) Pesevska S, Ivanovski K, Mindova S, Kaftandzieva A, Ristoska S, Stefanovska E, et al. Bacterial Contamination of the Toothbrushes. J Int Dent Med Res. 2016; 9(1): 6.

Apéndices

A. Cuadro de Operacionalización de Variables

Tabla 2. *Tabla de Variables*

ITEM	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICIÓN	VALORES QUE ASUME	OBJETIVO
<i>Streptococcus mutans</i>	Es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa dental o biofilm dental. Se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental.	Recuento de colonias que se observan en el cultivo	Cuantitativa	Discreta	Conteo reportado	1 y 2
<i>Staphylococcus aureus</i>	es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella	Recuento de colonias que se observan en el cultivo	Cuantitativa	Discreta	Conteo reportado	1 y 2
Edad	tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Años cumplidos a la realización de la encuesta	Cuantitativa	Continua	Edad reportada	1

Estrato socio económico	Nivel de clasificación de la población con características similares en cuanto a grado de riqueza y calidad de vida, determinado de manera directa mediante las condiciones físicas de las viviendas y su localización	número de estrato reportado por los padres	Cualitativo	Ordinal	Estrato1 (0) Estrato 2 (1) Estrato 3 (2) Estrato 4 (3) Estrato 5 (4) Estrato 6 (5)	1
Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.	Sexo de acuerdo a lo referido por el paciente	Cualitativo	Nominal	Femenino (1) Masculino (0)	1
Forma de almacenamiento	Que rodea a un cuerpo o circula a su alrededor	Forma como almacena su cepillo de dientes de acuerdo a lo referido por el niño	Cualitativo	Nominal	Abierto (0) Cerrado (1)	2
Frecuencia en cepillado	Acción de cepillar, quitar la suciedad o alisar una superficie	Número de veces que se cepilla referido por el niño	Cualitativa	Ordinal	una vez (1) dos veces (2) tres veces (3) cuatro veces (4)	2

B. Instrumento

ID

NOMBRE: _____

DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS

1. (edad) Edad: _____ años cumplidos.
2. (cole) Colegio al que asiste: () Logos (0) () Gata golosa (1)
3. (estra) Estrato socioeconómico: _____
4. (sexo) Sexo: () Masculino (0) () Femenino (1)

DATOS HIGIENE BUCAL

- (fora) Forma de almacenamiento del cepillo: () Abierto (0) () Cerrado (1)
- (sitio) Sitio de almacenamiento: () Salón (0) () Baño (1)
- (nume) Número de veces que se cepilla los dientes en el colegio al día: _____ veces.
- (días) Días que se cepilla los dientes: _____ días.
- (fechi) Fecha en la que inicia el cepillado: _____ / _____ / _____

día
mes
año
- (fete) Fecha en la que termina el cepillado: _____ / _____ / _____

día
mes
año

Fecha procesamiento: ____ / ____ / ____ Hora: ____ ID

Fecha de lectura: ____ / ____ / ____ Hora: ____

	Muestra 1	Muestra 2	Promedio
10 exponencial 3			
10 exponencial 2			
10 exponencial 1			
Sin diluir			
VALOR A REPORTAR			

Firma recuento: _____
Observaciones: _____

Fecha de lectura: / / Hora:

día mes año

	Muestra 1	Muestra 2	Promedio
10 exponencial 3			
10 exponencial 2			
10 exponencial 1			
Sin diluir			
VALOR A REPORTAR			

Firma recuento: _____
Observaciones: _____

Edad Conteo de <i>Staphylococcus aureus</i> Conteo de <i>Streptococcus mutans</i>	Cuantitativa	Medida de tendencia central (media – mediana) medidas de dispersión (desviación estándar o rango intercuartílico) dependiendo la distribución prueba de Shapiro Wilk
Estrato socio económico Sexo Tipo de almacenamiento Colegio Sitio de almacenamiento	Cualitativa	Frecuencia absoluta – porcentaje

D. Análisis bivariado

Tabla 3. Análisis bivariado

VARIABLE DEPENDIENTE	VARIABLE INDEPENDIENTE	NATURALEZA Y CATEGORÍAS	PRUEBA ESTADÍSTICA
Conteo de microorganismos	Edad	Cuantitativa / cuantitativa	Shapiro Wilk (Determinar distribución) Correlación de Pearson/Spearman
Conteo de microorganismos	Estrato socio económico	Cuantitativa / cualitativa (6 categorías)	Shapiro Wilk Anova/Kruskall Wallis
Conteo de microorganismos	sexo	Cuantitativa / cualitativa (2 categorías)	Shapiro Wilk T Student/U Mann Whitney
	Forma de almacenamiento		
	Colegio		
Conteo de microorganismos	Frecuencia de cepillado	Cuantitativa / cualitativa (4 categorías)	Shapiro Wilk Anova/Kruskall Wallis

E. Consentimiento informado

Universidad Santo Tomás

Consentimiento informado

Decreto 008430 de 1993

Título de la investigación:

CONTEO DE MICROORGANISMO *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* EN CEPILLOS DENTALES DE NIÑOS DE 3 A 5 AÑOS DE DOS JARDINES INFANTILES DEL AREA METROPOLITANA DE BUCARAMANGA.**Investigadores principales:**

María Fernanda Gutierrez Becerra, Jaime Alberto Mantilla Mantilla y Evelyn Juliana Morales Celis, estudiantes de pregrado de la facultad de odontología de la universidad santo tomás.

Ciudad:

Fecha: del 2017.

Yo....., persona mayor de edad, identificada con la cédula de ciudadanía De.....

La intención de esta indagación es ayudarlo a tomar la decisión de participar o no, en una investigación odontológica. Tome el tiempo que requiera para decidirse, lea cuidadosamente este documento y comente las preguntas que desee al investigador.

El objetivo de esta investigación será evaluar el conteo diferencial de microorganismos, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en los cepillos dentales de niños de 3 a 5 años de dos jardines infantiles del área metropolitana de Bucaramanga.

Esta investigación será regida por el decreto 008430 de 1993 siendo una investigación de riesgo mínimo ya que tomara registro de los datos del paciente a evaluar donde se realizara una encuesta al participante de la investigación. Y se tomara una muestra no invasiva (mediante el cepillo dental utilizado) manteniendo principios de justicia, beneficencia, no maleficencia y autonomía en cualquier momento de la investigación. No presenta ningún riesgo para el paciente que comprometa la calidad de vida o riesgos a largo plazo.

Procedimiento de la investigación.

Para llevar a cabo el objetivo planteado anteriormente, los estudiantes de pregrado María Fernanda Gutierrez Becerra, Jaime Alberto Mantilla Mantilla y Evelyn Juliana Morales Celis de la facultad de odontología de la Universidad Santo Tomás, tomaran los cepillos dentales utilizados por los

niños del jardín infantil para realizar un conteo de microorganismos *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* con el fin de realizar un recuento de estos microorganismos.

Beneficios.

Usted no se beneficiará por participar en esta investigación odontológica.

Riesgos.

Esta investigación odontológica no tiene riesgos para usted.

Costos.

Usted no recibirá ninguna clase de incentivos por participar en esta investigación.

Compensaciones.

Usted al ser parte de esta investigación no tendrá ninguna compensación.

Preguntas.

Si durante la investigación desea hacer preguntas sobre el tema, puede contactarse con cualquiera de los investigadores principales de este estudio.

Tras la participación en la encuesta manifiesto que tuve la oportunidad de realizar las preguntas que consideré pertinentes y que estas fueron respondidas satisfactoriamente.

Confidencialidad de la información.

La información obtenida por medio de la encuesta se mantendrá en forma confidencial. Es posible que los resultados que se obtengan puedan ser usados en revistas y/o conferencias odontológicas, pero teniendo en cuenta que su nombre no será conocido.

Voluntariedad.

Su participación es completamente voluntaria en esta investigación. Usted tiene el derecho de elegir firmar el consentimiento informado y de retirarse de esta investigación cuando lo desee.

Declaración de consentimiento.

- Se me explico la intención de esta investigación odontológica, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.
- Firmo este documento libremente, sin ser obligado a hacerlo.
- No estoy desistiendo a ningún derecho que me asista.

- Se me informará de toda nueva información relacionada con el estudio que nazca durante el estudio.
- Se me comunico que poseo el derecho a reevaluar mi participación en esta investigación odontológica según mi juicio y en cualquier momento que lo desee.
- Conozco que se resguardarán mis datos personales y no serán divulgados, según la ley estatutaria 1581 de 2012 (**octubre 17**) [reglamentada parcialmente por el decreto nacional 1377 de 2013](#). **En la cual se dictan disposiciones generales para la protección de datos personales.**

Nombre del acudiente

Firma del acudiente

Nombre del investigador

Firma de investigador

Nombre completo, firma e identificación del investigador

Testigo 1 _____

Testigo 2 _____

Fecha _____

F. Carta autorización de los colegios



Bucaramanga, febrero 15 de 2018

Instituto
HOGAR INFANTIL LA GATA GOLOSA
Rectora
MARIA OLIVIA GARCIA

Cordial saludo

La presente es para solicitar respetuosamente la autorización del hogar infantil la gata golosa el ingreso de los estudiantes los estudiantes de odontología, **MARÍA FERNANDA GUTIÉRREZ BECERRA, EVELYN JULIANA MORALES CELIS, y JAIME ALBERTO MANTILLA MANTILLA** de la universidad santo tomas, para la entrega y recolección de los cepillos dentales de 15 estudiantes con edades entre 3 a 5 años de edad, para el trabajo de grado de los estudiantes

El objetivo es realizar un recuento de Unidades Formadoras de Colonias de microorganismos *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* presentes en los cepillos de dientes.

Atentamente

JAIME ALBERTO MANTILLA MANTILLA
Estudiante de odontología, USTA

MARIA FERNANDA GUTIERREZ BECERRA
Estudiante de odontología, USTA

EVELYN JULIANA MORALES CELIS
Estudiante de odontología, USTA



Bucaramanga, febrero 15 de 2018

Instituto
COLEGIO LOGOS
Rectora
LILIANA SUARES

Cordial saludo

La presente es para solicitar de manera muy respetuosa la autorización del hogar infantil la gata golosa el ingreso de los estudiantes los estudiantes de odontología, **MARÍA FERNANDA GUTIÉRREZ BECERRA, EVELYN JULIANA MORALES CELIS, y JAIME ALBERTO MANTILLA MANTILLA** de la universidad santo tomas, para la entrega y recolección de los cepillos dentales de 15 estudiantes con edades entre 3 a 5 años de edad, para el trabajo de grado de los estudiantes

El objetivo es realizar un recuento de Unidades Formadoras de Colonias de microorganismos *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* presentes en los cepillos de dientes.

Atentamente

JAIME ALBERTO MANTILLA MANTILLA
Estudiante de odontología, USTA

MARIA FERNANDA GUTIERREZ BECERRA
Estudiante de odontología, USTA

EVELYN JULIANA MORALES CELIS
Estudiante de odontología, USTA