

Identificación de bacterias periodontopáticas en cepillos dentales con y sin agente antibacterial

Identification of periodontopathic bacteria on toothbrushes with and without antibacterial agent

Adriana Jaramillo¹, Natalia Aragón², Lina María García³

¹ DDS, MSc Profesora, Escuela de Odontología, Grupo de Investigación Medicina Periodontal, Universidad del Valle, Cali, Colombia. E-mail: adriana.jaramillo@correounivalle.edu.co,

² DDS, MSc Escuela de Odontología, Universidad del Valle. Grupo de Investigación Pacífico Siglo XXI. Cali, Colombia. E-mail: natalia.aragon@correounivalle.edu.co,

³ DDS, MSc Profesora, Escuela de Odontología, Universidad del Valle. Grupo de Investigación Pacífico Siglo XXI. Cali, Colombia. E-mail: lina.garcia.z@correounivalle.edu.co

Recibido: abril de 2015. Aprobado: junio de 2015

Resumen

Introducción y objetivo:

Los cepillos dentales pueden servir como reservorio para la translocación de bacterias periodontopáticas. El objetivo fue determinar la contaminación por bacterias periodontopatógenas en dos tipos de cepillos dentales, con y sin antibacterial.

Materiales y métodos:

Participaron 20 pacientes con periodontitis, que cepillaron 2 cuadrantes al azar con un cepillo antibacterial y los 2 cuadrantes contralaterales con cepillo normal, con la técnica de Bass modificado. Los cepillos se lavaron con agua por 10 segundos y se almacenaron individualmente en bolsas estériles a temperatura ambiente. A las 0, 4 y 24 h se cortaron 4 cerdas de cada cepillo y se suspendieron en el medio de dilución VMGA I, se sembraron en 3 medios de cultivo en anaerobiosis y CO₂, se identificaron de acuerdo a la morfología de las colonias y pruebas adicionales con el sistema de identificación RAPID ANA II. Se evaluó la normalidad de las variables cuantitativas, se comparó el número de UFC/ml en los medios de cultivo a los diferentes tiempos de siembra, mediante la prueba U de Mann Whitney, con un alfa de 0,05.

Resultados:

Hubo diferencias significativas en el número de UFC/ml en agar sangre a las 24 horas de cultivo ($p=0,011$). Se identificaron a partir de los cultivos en los 3 tiempos bacterias como *Porphyromonas gingivalis*,

Forma de citar: Jaramillo A, Aragón N, García LM. Identificación de bacterias periodontopáticas en cepillos dentales con y sin agente antibacterial. Rev. CES Odont 2015; 28(1): 21-27.

Prevotella intermedia/nigrescens, *Fusobacterium spp* y *Eikenella corrodens*, mientras que *Tannerella forsythia*, *Eubacterium spp* y bacilos entéricos se recuperaron solo en la siembra inmediata.

Conclusión:

Ambos tipos de cepillos tuvieron contaminación bacteriana en los distintos medios de cultivo.

Palabras clave:

Cepillos dentales, contaminación bacteriana, cepillos antibacteriales, bacterias periodontopatógenas.

Abstract

Introduction and objective:

Dental toothbrushes can serve as reservoir to translocation of periodontopathic bacteria. The aim was to determine periodontal bacterial contamination in both types of toothbrushes, with and without antibacterial bristles.

Materials and methods:

We included 20 patients with periodontitis, which brushed two randomly selected quadrants with antibacterial brush and the 2 contralateral quadrants with normal toothbrush with modified Bass technique, and thereafter, the brushes were washed with water for 10 seconds and stored in sterile bags at room temperature. At 0, 4 and 24 h bristles were cut from each brush 4 and suspended in the dilution medium VMGA I. These were plated on 3 culture media in anaerobiosis and CO₂ and identified according to the colony morphology and further tests such as UV fluorescence, catalase and identification system RAPID ANA II. Normality of the quantitative variables was assessed and compared the number of CFU/ml in the culture media to different culturing times, by the nonparametric Mann Whitney U test with a significance level of $p < 0.05$.

Results:

There were significant differences in the number of CFU / ml in blood agar at 24 hours of culture ($p = 0.011$). Were identified from cultures at 3 times bacteria like *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Fusobacterium spp* and *Eikenella corrodens*, while *Tannerella forsythia*, *Eubacterium spp* and enteric bacilli were recovered only in the immediate culturing.

Conclusion:

Both types of brushes had bacterial contamination in the different culture media tested.

Keywords:

Toothbrushes, bacterial contamination, antibacterial toothbrushes, periodontopathic bacteria.

Introducción

La promoción y prevención en salud oral hacen parte del nivel de atención primaria y su instauración obedece a las políticas establecidas en la educación en salud oral, esta última encaminada hacia la predisposición, establecimiento y refuerzo del comportamiento voluntario de un individuo con base en experiencias de aprendizaje que controlen los factores de riesgo de enfermedades, como la caries dental y las enfermedades periodontales asociadas a biopelícula dental (1). Adicionalmente, el control de esta biopelícula es una medida de prevención secundaria, por actuar como tratamiento precoz de las gingivitis y por su influencia en el control de la progresión de las caries incipientes y de las enfermedades periodontales, y de igual forma, hace parte de la prevención terciaria ya que en aquellos pacientes diagnosticados de gingivitis o periodontitis es parte del tratamiento necesario para mantener los resultados y evitar la recurrencia de la enfermedad (2). La biopelícula dental es una asociación funcional de una o varias especies microbianas asociadas en forma de una comunidad que ocupa diferentes nichos ecológicos de tal manera que puede colonizar las superficies dentales y los tejidos periodontales (3). En la biopelícula subgingival de pacientes con gingivitis y periodontitis se pueden encontrar especies de bacterias facultativas y anaerobias reconocidas como patógenos periodontales, tales como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, y *Treponema denticola*, donde actúan en conjunto o independientemente para iniciar el proceso inflamatorio en los tejidos periodontales (4).

La contaminación del cepillo dental resulta inevitable toda vez que se constituye en un elemento cuya función es entrar en contacto con biopelícula

dental para removerla mecánicamente. Se conoce que los cepillos dentales pueden ser contaminados por microorganismos, tanto propios de la cavidad oral como ambientales, y se postula que estos pueden ser fuente de enfermedades orales por re-infección (5). Gaviria *et al.* realizaron un estudio en el cual inocularon *in Vitro* en cepillos dentales diferentes microorganismos concluyendo que los cepillos dentales pueden actuar como reservorio y facilitar la transmisión de patógenos orales entre individuos (6). Otras investigaciones en Colombia han concluido que los cepillos son contaminados por microorganismos periodontopáticos en pacientes con periodontitis, (7) y que la contaminación de los cepillos entre familias puede representar un factor de riesgo en la transmisión de microorganismos super-infectantes y periodontopáticos implicados en procesos infecciosos que se inician en la cavidad oral (8).

Para controlar la contaminación de los cepillos dentales se han empleado diferentes métodos de descontaminación como lavar el cepillo con soluciones bactericidas (alcohol, cloruro de cetil piridinio, polivinil pirrolidona y clorhexidina entre otros), lavado del cepillo en agua corriente posterior a su uso, aplicación de luz ultravioleta y microondas, y aplicación de agentes bactericidas en las cerdas (9, 10). Estas medidas son poco usadas a nivel de las comunidades, por lo cual las casas comerciales han introducido al mercado recientemente los cepillos con sustancias antibacteriales en sus cerdas, con el fin de controlar este fenómeno de la contaminación. Por su reciente uso, son pocos los estudios que se han publicado sobre la eficacia de los cepillos dentales con agentes anti-microbianos. Entre ellos, sobresale el reporte de Efstratiou *et al.* (11), quienes realizaron un estudio para evaluar la contaminación y la tasa de supervivencia de microorganismos periodontopáticos y cariogénicos en un cepillo con propiedades antibacteriales cuyas cerdas están revestidas con Triclosán, versus un cepillo normal después de un solo uso en diez pacientes

con enfermedad periodontal crónica, concluyendo que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos cepillos respecto a la reducción de la contaminación bacteriana. De igual forma, Sammons *et al.* (12) realizaron un estudio en el que analizaron la biopelícula que se forma en los cepillos dentales y la supervivencia bacteriana en 15 pacientes sanos, y concluyeron que no existen diferencias significativas entre los cepillos convencionales y los que tienen antimicrobiano (triclosán) en sus cerdas, y que los cepillos son una fuente importante de contaminación cruzada.

El propósito del presente estudio fue determinar el nivel de contaminación por bacterias periodontopáticas en dos tipos de cepillos dentales, convencionales y con agente antibacterial en sus cerdas.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio experimental controlado aleatorizado *in vitro*, se incluyeron 20 pacientes con diagnóstico de periodontitis, que asistieron a una clínica docente asistencial de la Escuela de Odontología de la Universidad del Valle. Los criterios de selección de los sujetos del estudio fueron: Pacientes adultos, que accedieron a su participación voluntaria mediante la firma del consentimiento informado, que tuvieran al menos 5 dientes por cuadrante de los cuales al menos uno fuera multirradicular, con al menos 4 sitios en la boca con profundidad de bolsa \geq 4 mm con sangrado al sondaje, sin abscesos periodontales y que no hubieran usado antimicrobianos o enjuagues bucales 4 meses previos al estudio.

En la cita odontológica previa al inicio de la terapia periodontal, en cada paciente se asignaron 2 cuadrantes escogidos al azar para que fueran cepillados por el operador con la técnica de Bass modificada con un cepillo con agente antibacterial, y en los otros 2 cuadrantes contralaterales se realizó

el cepillado de manera semejante con el cepillo sin antibacterial. Posteriormente, los cepillos se lavaron con agua por 10 segundos y se almacenó cada cepillo en una bolsa estéril a temperatura ambiente, y se llevaron inmediatamente al Laboratorio de Microbiología Oral y Periodontal de la Universidad del Valle. A los tiempos 0, 4 y 24 h se cortaron 4 cerdas de cada cepillo y se suspendieron y homogenizaron en el medio de dilución VMGA I, se sembraron 100 μ l de cada muestra en agar sangre Brucella suplementado con hemina y menadiona, en agar Mac Conkey y en agar TSBV se cultivaron en anaerobiosis y CO₂ por 14 días, 24 horas y 48 horas respectivamente, se hicieron los conteos de UFC/ml, se identificaron de acuerdo a la morfología de las colonias por estereomicroscopía y con pruebas adicionales como fluorescencia en luz ultravioleta, prueba de catalasa y el sistema de identificación RAPID ANA II. Como control de calidad de la esterilidad de los cepillos, se examinaron 4 cepillos nuevos a los cuales se les hizo el mismo procedimiento de laboratorio.

Se realizó un análisis exploratorio de datos para evaluar la normalidad de las variables cuantitativas. Se comparó el número de UFC/ml en los medios de cultivo a los diferentes tiempos de siembra, mediante la prueba no paramétrica U de Mann Whitney, con un nivel de significancia de 0,05.

Resultados

Los pacientes tuvieron una edad promedio de $48 \pm 13,9$ años. Hubo predominio de mujeres (70%), y los pacientes tuvieron más frecuencia de periodontitis crónica (90%) que agresiva (10%).

Se encontraron diferencias significativas en el número de UFC/ml en agar sangre a las 24 horas de cultivo, con un mayor número de colonias el cepillo con antibacterial a las 24 horas ($p=0,01$) (Tabla 1).

Se identificaron a partir de los cultivos en los 3 tiempos bacterias como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Fusobacterium spp* y *Eikenella corrodens*, mientras que *Tannerella forsythia*, *Eubacterium spp* y bacilos entéricos se recuperaron solo en la siembra inmediata (Tabla 2).

Tabla 1. Distribución del número de unidades formadoras de colonias en los medios de cultivo, en cepillos dentales con y sin antibacterial a las 0, 4 y 24 horas. Los datos se presentan en número de UFC/ml (mediana, mínimo-máximo,[Q1-Q3]).

| Tiempo | AGAR SANGRE | | | AGAR MAC CONKEY | | | AGAR TSBV | | |
|--------|---------------------------------|------------------------------|------|---------------------------|---------------------------|------|---------------------------|---------------------------|------|
| | Cepillo con antibacterial | Cepillo sin antibacterial | p | Cepillo con antibacterial | Cepillo sin antibacterial | p | Cepillo con antibacterial | Cepillo sin antibacterial | p |
| 0 h | 2000, 130-18000 [940-8500] | 2200, 40-42000 [210-4100] | 0,06 | 0, 0-100 [0-0] | 0, 0-3000 [0-0] | 0,08 | 42, 0-2000 [1-96] | 23, 0-300 [0-67] | 0,12 |
| 4 h | 1250, 120-60000 [312,5-6000] | 2000, 6-38000 [205-6500] | 0,34 | 0, 0-20000 [0-0] | 0, 0-500 [0-0] | 0,59 | 11, 0-1200 [0-64] | 14, 0-500 [0-28] | 0,88 |
| 24 h | 950, 3-36000 [200-5800] | 171, 0-12000 [70-1000] | 0,01 | 0, 0-10000 [0-0] | 0, 0-0 [0-0] | 0,32 | 0, 0-130 [0-2,5] | 0, 0-200 [0-0] | 0,18 |

Tabla 2. Frecuencia de aislamiento de los patógenos periodontales según el tipo de cepillo, tiempo y tipo de microorganismo.

| Tipo de microorganismo | Con antibacterial n (%) | | | Sin Antibacterial n (%) | | |
|--|-------------------------|---------|----------|-------------------------|---------|----------|
| | 0 horas | 4 horas | 24 horas | 0 horas | 4 horas | 24 horas |
| <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 2 (10) | 1 (5) | 1 (5) | 1 (5) | 1 (5) | 0 |
| <i>Prevotella intermedia/nigrescens</i> | 4 (20) | 2 (10) | 0 | 2 (10) | 0 | 0 |
| <i>Fusobacterium spp</i> | 11 (55) | 8 (40) | 7 (35) | 7 (35) | 10 (50) | 6 (30) |
| <i>Eikenella corrodens</i> | 9 (45) | 6 (30) | 2 (10) | 5 (25) | 4 (20) | 2 (10) |
| <i>Tannerella forsythia</i> | 1 (5) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Eubacterium</i> | 1 (5) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Entericos</i> | 1 (5) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Discusión

Pocos estudios se han referido a la contaminación de cepillos con bacterias periodontopáticas, por lo cual esta investigación midió la presencia de este tipo de microorganismos en cepillos

con y sin antibacterial, pues este podría ser un reservorio que sirve para facilitar la reinfección o translocación en el mismo paciente. De manera complementaria Quirynen et al en 2001 plantearon que la translocación disminuye en los cepillos dentales al tener agentes antibacteriales en las

cerdas tal como se encuentra en este estudio (13). Sin embargo, el presente estudio no logró mostrar que los cepillos con cerdas que contienen agentes antibacteriales pudieran detener la contaminación de estos con bacterias periodontopatógenas, por lo que se sigue considerando importante indicar a los pacientes que se encuentran en tratamiento periodontal que desinfecten sus cepillos dentales o los cambien durante el curso del tratamiento.

Dos estudios previos realizados por Efstratiou *et al* (11) y Sammons *et al* (12) concluyeron que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los cepillos con y sin agente antibacterial. Sin embargo en esta investigación se encontró que en el medio de cultivo Agar sangre hubo diferencias significativas en el número de UFC/ml, favoreciendo el crecimiento a partir de los cepillos con antibacterial a las 24 horas, hallazgo que puede explicarse porque este medio de cultivo es enriquecido y no selectivo de tal manera que permite un mayor crecimiento bacteriano cuando en la muestra existen bacterias viables. Si se extrapola este resultado a lo que ocurre *in vivo*, donde las bacterias encuentran en el medio ambiente oral nutrientes adecuados para su supervivencia, cabría esperar que estas bacterias que crecen en los nichos intraorales pueden ser trasladadas al cepillo dental durante la higiene oral

del paciente, lo que puede mantener un reservorio de bacterias viables que puedan translocarse o reinfectar sitios ya tratados periodontalmente.

Con respecto a la presencia de bacterias periodontopáticas en los cepillos dentales en pacientes con periodontitis, un estudio previo de Warren *et al* (14), no encontró diferencia en la contaminación por *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *P. intermedia* con el uso de crema dental convencional y con triclosán. En contraste, el presente estudio no encontró *A. actinomycetemcomitans* en los cepillos dentales a ninguno de los tres tiempos evaluados, y no hubo diferencias en la presencia de las bacterias periodontopáticas cultivadas a partir de los dos tipos de cepillos en los tiempos de evaluación. Se sugiere para futuros estudios utilizar una muestra mayor, así como realizar un seguimiento a mayor tiempo después del uso de los cepillos, para tener una mayor evidencia del efecto antibacterial de los cepillos dentales.

Conclusión

Tanto los cepillos con antibacterial como los sin antibacterial tuvieron contaminación bacteriana hasta 24 horas después de su uso en los diferentes medios de cultivo probados.

Referencias

1. González MC, Valbuena LF, Zarta OL, Martignon S, Arenas M, Leño M. Caries dental. Guías de práctica clínica basadas en la evidencia. Instituto Seguros Sociales I.S.S. y Asociación Colombiana de Facultades de Odontología A.C.F.O. Gráficas JES. Manizales: 1998; p. 45-56.
2. Legido B, Casa A. Educación y motivación para el control mecánico de la placa. En: Sanz M (editor), Primer Workshop Ibérico, control de placa e higiene bucodental. 2002; p. 271-02.
3. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002;28: 12-55.

4. Sbordone L, Bortolaia C. Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clin Oral Invest.* 2003;7: 181-88.
5. Ansari F, Kroeger T, Sziegoleit A. Microbial contamination of toothbrushes with different principles of filament anchoring. *J Am Dent Assoc.* 2005;136(6):758-65.
6. Gaviria PA, Rosales HL, Contreras A. Contaminación in Vitro de cepillos dentales. *Rev. Estomatol.* 2001;9(2):14-20.
7. Contreras A, Astudillo M, Daza LH, García LM, Gaviria PA, Parra B, Rosales HL, Jaramillo A. Contaminación microbiana de los cepillos dentales en pacientes con enfermedad periodontal. *Rev. Estomatol.* 2002;10(1):5-14.
8. Contreras A, Arce RM, Botero JE, Jaramillo A. Contaminación bacteriana de cepillos dentales en niños y sus padres: una cuestión de educación. *Rev. Estomatol.* 2002;10(2):4-12.
9. Sato S, Ito IY, Lara EH, Panzer H, Albuquerque RF, Pedrazzi V. Bacterial survival rate on toothbrushes and their decontamination with antimicrobial solutions. *J Appl Oral Sci.* 2004;12(2):99-103.
10. Nelson-Filho P, Faria G, da Silva RA, Rossi MA, Ito IY. Evaluation of the contamination and disinfection methods of toothbrushes used by 24- to 48-month-old children. *J Dent Child (Chic).* 2006;73(3):152-8.
11. Efstratiou M, Papaioannou W, Nakou M, Ktenas E, Vrotsos IA, Panis V. Contamination of a toothbrush with antibacterial properties by oral microorganisms. *J Dent* 2007; 35(4):331- 7.
12. Sammons RL, Kaur D and Neal P. Bacterial survival and biofilm formation on conventional and antibacterial tooth brushes. *Biofilms* 2004;1(2):123-30.
13. Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D. The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 2001;28(6):499-07.
14. Warren DP, Goldschmidt MC, Thompson MB, Adler-Storthz K, Keene HJ. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *J Am Dent Assoc.* 2001;132(9):1241-5.



UNIVERSIDAD CES

Un compromiso con la excelencia
Resolución del Ministerio de Educación Nacional No. 1371 del 22 de marzo de 2007