



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**PRESENCIA DE MICROORGANISMOS
EN CEPILLOS DENTALES NUEVOS.**

T E S I S I N A

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA
P R E S E N T A
MARÍA JULIETA NAVARRO CASTILLO**

DIRECTOR: Q.F.B. FERNANDO FRANCO MARTÍNEZ.

MÉXICO, D.F. CIUDAD UNIVERSITARIA 1999



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1

274024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres gracias por darme la vida y el derecho de nacer, por el amor y apoyo que siempre me han brindado. Los amo y los respeto.

A la memoria de mi sobrino Jorge Luis a mi gran amigo Alejandro Rojas y al C.D. Salomón Evelson Guterman. Los extraño

A todos y cada uno de mis hermanos, cuñados y sobrinos, gracias por compartir conmigo todo y ser como eslabones de una cadena irrompible.

Al Lic. Otilio Adame Gallegos, por su apoyo moral y estímulo brindado con infinito amor y confianza, por infundir en mí el camino de seguir siempre adelante.

A la C.P. Luz María Vargas Pérez, por su apoyo y que jamás existirá una forma de agradecerle la confianza y estímulo que depositó en mí.

A Paola y Octavio con cuyo apoyo invariable he contado en todo momento, gracias por el tiempo y dedicación para la realización del presente trabajo.

Indice

AGRADECIMIENTOS.....	2
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES.....	6
CEPILLOS DENTALES	6
IMPORTANCIA DEL CEPILLADO Y MEDIDAS AUXILIARES.....	9
DISEÑO DE LOS CEPILLOS DENTALES.	12
CONTAMINACIÓN DE CEPILLOS DENTALES.	15
NORMAS OFICIALES MEXICANAS (SECOFI).....	19
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	23
HIPÓTESIS.....	24
HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.....	24
HIPÓTESIS NULA.	24
OBJETIVOS.....	24
OBJETIVO GENERAL	24
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
MATERIAL Y MÉTODO.....	26
MATERIAL.....	26
MÉTODO.....	28
TIPO DE ESTUDIO.....	32
POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRA.....	32
CRITERIOS DE INCLUSIÓN, DE EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN.	33
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.	33
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.	33
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.	33
RESULTADOS.....	34
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFÍA	44

INTRODUCCIÓN

Los cepillos dentales son utilizados para la higiene bucal y usados diariamente a nivel mundial.¹

Este trabajo de investigación analiza las condiciones microbiológicas que presentan algunos cepillos dentales del mercado destinados a niños y adultos.

Las cerdas de los cepillos dentales son un medio idóneo para el acumulamiento de microorganismos bucales y ambientales dentro de los cuales pueden encontrarse bacterias y/u hongos asociados a enfermedades, provenientes del medio ambiente, portadores o enfermos.^{2,3.}

El cepillo dental debe fabricarse bajo normas oficiales que garanticen que los cepillos no sean propiciadores de contaminación alguna, infecciones causadas o alguna otra enfermedad.^{2,4-6}

La flora microbiana del aire es transitoria y variable. El aire no es un medio donde pueden vivir los microorganismos, pero es un transportador de partículas, polvo y gotas que pueden estar cargadas de microorganismos.

Algunos microorganismos provienen del suelo, materia orgánica, animales y el ser humano.

El destino final de los microorganismos transportados por el aire está gobernado por un complejo conjunto de circunstancias que incluyen las condiciones atmosféricas, humedad, luz solar y temperatura; el tamaño de las partículas y la susceptibilidad de los microorganismos a las condiciones físicas de la atmósfera.⁷

En el ámbito odontológico, el cepillo dental se encuentra potencialmente expuesto a ser objeto de contaminación, debido a su contacto directo con saliva, sangre, células epiteliales, placa dentobacteriana; lo anterior, puede haberse modificado por las costumbres del paciente, condiciones de vida, hábitos de higiene, etc. Sin embargo el cepillo, está expuesto a ser contaminado incluso antes de su uso, ya sea en los procedimientos de ensamblaje, manipulación al empaquetamiento o por las condiciones de quién lo expide y comercializa al público.

ANTECEDENTES

Cepillos dentales

Los cepillos dentales tienen gran importancia para la prevención de caries dental y el control de placa.

Los cepillos dentales posiblemente existían muchos siglos antes de Cristo y el hábito de refrescarse la boca masticando palitos olorosos para que diera un olor agradable a la boca, ha sido usado aún en tiempos de Hipócrates.⁸

Posiblemente el primer cepillo apareció en China en 1600 a C, y su introducción a la civilización occidental cerca del siglo XVIII.⁸

Fue hasta 1900 cuando los cepillos de dientes se hicieron accesibles al público. Los primeros cepillos fueron producidos con nylon en 1938, eran relativamente rígidos de textura firme, sus cerdas tenían puntas filosas, eran incómodos y podían causar daño a los tejidos suaves.⁸

Entre los instrumentos de higiene bucal, los cepillos dentales son el implemento ideal para la remoción mecánica de la placa, así como de residuos alimenticios de las superficies lisas de los dientes. Se desconoce el origen exacto de éste instrumento mecánico para limpieza dental, ya que en la antigüedad la gente masticaba ramas de plantas con altas propiedades aromáticas, que no sólo refrescaba el aliento, sino que los extremos de las fibras eran utilizadas para asear los dientes y las encías. Un estudio demostró que en África masticaban ramas que contenían aceites y ácidos antibacterianos que ayudaban a remover la placa dentobacteriana. Posteriormente, en otras culturas, convirtieron las ramas en fibras o cerdas para limpiar los dientes. Los chinos dieron la pauta para la construcción del cepillo moderno durante la dinastía Tang, ellos colocaron cerdas de porcino

similares a los modelos contemporáneos. En 1780, Willian E. Addis, elaboró el primer cepillo eficaz con mango de hueso y orificios en un extremo donde se ubicaban las cerdas de porcino sujetadas en alambre. Issac Greenwood, en 1789, desarrolló un cepillo con doble cabeza, una grande para limpieza general y una pequeña para las superficies linguales. En 1857 un cepillo similar al de Addis, se fabricó en estados unidos por la compañía H.N. Wadsworth. A principios de 1900 se reemplazaron los mangos de hueso por de plástico, y salió al mercado del Word War II que tenía cerdas de nylon; éstas sustituyeron a las naturales que eran tan duras como aquellas, pero no tan burdas y no absorbían agua.^{2, 8}

Posteriormente conforme se fue desarrollando, se redondearon las puntas y se hizo una correcta selección de las cerdas tanto en largo, como en el ancho.

Los cepillos de dientes evolucionaron en gran medida y variedad, cantidad de formas y tamaños y la mayoría de ellos hoy en día son efectivos para la higiene bucal.⁸

Además del cepillo dental y sus características actualmente numerosos estudios hacen énfasis en la implementación de programas institucionales sobre las técnicas de cepillado, de éstas se menciona que los cepillos dentales pueden ser contaminados con saliva y sangre y son potencialmente transmisores de infecciones por lo cual se hacen consideraciones importantes del uso higiene de los cepillos dentales.^{12,13}

Actualmente se han realizado numerosos estudios que evalúan la funcionalidad de los cepillos de acuerdo a sus características ergonómicas, además de comparar la eficacia para remover la placa a través de estudios clínicos y experimentales que incluyen exámenes macroscópicos y microscópicos mediante el uso de microscopio electrónico de barrido y estudios clínicos.¹⁴⁻¹⁹

La última tecnología revela cepillos dentales con características comprobadas útiles para la remoción de placa, demostrándose que el cepillado manual es más efectivo que el cepillado mecánico que brindan algunos cepillos eléctricos.¹⁴⁻²⁰

La última tecnología pone en prueba cepillos dentales iontoforéticos que tienen un mecanismo de acción iónica que cambia la polaridad del diente evitando la atracción y fijación de placa.²¹

Importancia del cepillado y medidas auxiliares.

El tipo de alimentación en la vida moderna han hecho indispensable el cepillado para una mejor higiene bucal y aunque el paciente asista con su dentista con regularidad para que se le haga una limpieza de manera profesional o que él practique su higiene bucal de manera habitual; la placa vuelve a aparecer lentamente y pasado un tiempo se vuelve en el agente etiológico más importante en la aparición de caries y enfermedad periodontal.

Se considera que si la placa dental se remueve constantemente con procedimientos adecuados, es posible prevenir los problemas antes mencionados. Desafortunadamente la mayor parte de la población desconoce cómo eliminar la placa de las superficies dentales y los procedimientos que debe seguir al adquirir un cepillo dental y de que manera debe mantenerlo libre de microorganismos que en determinado momento pueden intervenir en enfermedades locales y sistémicas.²²⁻²⁴

Se desconocen los comienzos del cepillado dental como tal: se ha descubierto que en la Antigüedad los africanos masticaban ramas de plantas con propiedades aromáticas y con esto no sólo obtenían un aliento fresco, sino que el uso de las fibras proporcionaba masaje gingival y limpiaba las superficies dentales. Asimismo, es probable que estas fibras hubieran contenido aceites antibacterianos y taninos que ayudaban a remover la placa. En culturas posteriores estas ramas se maceraban ya con el propósito específico de que sus fibras se usaran para limpiar los dientes.

Los árabes preislámicos utilizaban las gruesas fibras de la raíz del árbol *arrak*, técnica que fue denominada *siwak* o *miswak*. Después de usarlas repetidamente, éstas se reblandecían y era necesario confeccionar un nuevo cepillo, mismo que se obtenía mediante el procedimiento de desfibrar la gruesa raíz, jalar un extremo y utilizar una nueva porción.^{22, 23}

En el siglo VII, Mahoma reglamentó el uso del *siwak* y la higiene oral se volvió parte de la obligación religiosa para limpiar las superficies bucales, los espacios interdentes e incluso la lengua. El *siwak* se sigue utilizando en la actualidad y se le han agregado maderas aromáticas diversas.

El cepillado moderno, por otra parte, se acredita a los chinos que durante la dinastía Tang, usaron cerdas de jabalí muy similares a los modelos contemporáneos.

Pierre Fouchard, considerado el padre de la Odontología describió en 1728 en su obra "Le chirurgie dentiste" diferentes aspectos de la salud bucal. Él reprobó el uso de cepillos con cerdas de crin de caballo y consideró que era mejor el uso de esponjas y raíces de hierbas; también recomendó limpiar todas las superficies dentales y diseñó instrumentos y palillos para los dientes flojos, así como dentríficos y enjuagatorios.²²

En 1780, William Addis confeccionó en Inglaterra lo que se llamó el primer cepillo efectivo, instrumento que constaba de un mango de hueso con cavidades que contenían las cerdas naturales de cerdo fijadas con alambres.

En 1789, Isaac Greenwood quien fuera el primer practicante dental nacido en Norteamérica y cuyo hijo fuera dentista de la familia de Jorge Washington, presentó un cepillo dental doble: en un extremo, uno largo con una terminación más amplia para la limpieza dental en general y del otro, uno más corto, para la superficie lingual de los dientes.

A principios del siglo XIX, artesanos de varios países europeos construían mangos de oro, marfil y ébano a los que se les añadían cabezas intercambiables.

El celuloide comienza a reemplazar al hueso en la manufactura de los mangos, cambio que fue apresurado dada la escasez provocada por la

primera guerra mundial. En 1919, los parodontistas de Norteamérica intentaron regular el uso de los cepillos con diseños especiales, y los métodos de cepillado. En la segunda guerra mundial, las cerdas de Nylon vinieron a reemplazar a las cerdas de jabalí porque los chinos ya no pudieron exportar las cerdas naturales. Los modelos de nylon fueron copias de éstas en cuanto a tamaño, forma, diámetro y otras características.²²

Diseño de los cepillos dentales.

El cepillo dental consiste en un mango, una cabeza conectada por un cuello, las cerdas pueden ser o no ser redondeadas y están acomodadas en hileras que siguen un patrón específico de acuerdo al diseño, seis o siete diseños básicos predominan en la forma de las cerdas, oval o convexo, curvo, oval corto, recto acortado ó recto con varios copetes con 203 hileras en forma longitudinal más cortas, recto parejo.

Textura del cepillo. Está determinada por:

1. Diámetro de las cerdas.
2. El largo de las cerdas.
3. El tamaño de los hoyos en los cuales las cerdas del copete son insertadas.
4. El número de copetes en un área dada.
5. El número de cerdas en cada copete.

Estos factores están relacionados entre sí y mezclados para crear la textura del cepillo ⁵

Al observar a los cepillos de lado, se presentan cuatro perfiles laterales básicos; cóncavo, convexo, plano y de concha. Ninguna de estas formas se puede considerar mejor ni es capaz de proporcionar máxima limpieza, esta dependerá de la frecuencia y técnica de cepillado. Sin embargo, el cepillo plano se considera como el más adecuado ya que ha sido mejor al compararlo con uno convexo en las mediciones de placa que se han realizado. Por otro lado al examinar un cepillo simple con uno de doble cabeza se probó que el segundo ofrece mejor limpieza lingual, aunque el 95% de los usuarios prefieren cepillos de una sola cabeza. En el perfil lateral la mayoría de los cepillos son planos.²²

Con la tecnología actual las cerdas de nylon tienen un diámetro uniforme y su rango de firmeza es predecible. Originalmente, las cerdas individuales eran cortadas en una forma brusca y tenían puntas filosas. En 1948, Bass reportó que éstas podrían dañar los tejidos blandos, y que las puntas de cerdas redondeadas o suaves eran menos abrasivas, concepto que tuvo su origen en 1868 cuando se patentó la punta redonda. Estudios recientes de exploración microscópica compararon las puntas redondas de cerdas de 30 cepillos dentales de diferente manufactura e informó a los investigadores que algunos cepillos no son suficientemente redondos y pueden producir daño gingival; también afectan a la dentina y el cemento, desgastando el tejido dentario y es posible que ahí se acumulen bacterias, lo que también suele suceder si los cepillos se conservan en lugar húmedo.²²

En la actualidad existen estudios de casas comerciales (Colgate-Palmolive) dedicadas exclusivamente al diseño de un cepillo dental que cumpla con las características de un cepillo dental ideal, sobre todo para la remoción de placa dental bacteriana (su principal objetivo), probando diferentes técnicas para observar el acceso interproximal, crear un tipo de cerdas no dañinas para el diente ni para los tejidos periodontales.²⁵

La firmeza depende de tres factores principales: el material con el que se fabrica, el diámetro de las cerdas y el tamaño de las mismas. Como las cerdas son fabricadas con nylon y muchas son de 10 a 12mm de largo, el diámetro puede ser controlado con una precisión exacta. El diámetro usual de la cerda para cepillos de adultos es de 0.007 a 0.015 pulgadas. Los de 0.007 a 0.009 son considerados como "suaves" y son numerados 7,8,9. Los de diámetro de 0.010 a 0.012 pulgadas (10,11,12) son considerados como "duro mediano" y los 13 y 14 con diámetro de 0.013 y 0.014 son considerados duros. Los del número 15 son extra duros; por otra parte en los cepillos de niños, las cerdas son más pequeñas, y por eso el diámetro debe

ser reducido a 0.005 pulgadas para aproximarlos al del cepillo suave de un adulto.

La textura o firmeza de los cepillos dentales está relacionada con el tamaño y el diámetro de los filamentos individuales y el número de cerdas en cada penacho. Factores como la temperatura, hidratación y constante uso del cepillo pueden afectarla.

Las cerdas de nylon son superiores a las naturales en muchos aspectos: las primeras son diez veces más flexibles que las naturales, no se parten, son más fáciles de limpiar, no se ponen húmedas o pegajosas y su configuración y dureza pueden estandarizarse. Además de las muchas ventajas del nylon, deben agregarse su gran capacidad de producción y economía, por lo que son pocos los cepillos de cerdas naturales que se comercializan actualmente; la única ventaja de las cerdas naturales es que causa menos abrasiones que las cerdas de nylon. Existe un gran número de diámetros en las cerdas naturales de cada uno de los penachos de un cepillo y van desde 0.002 hasta 0.02 pulgadas.²²

Los diversos métodos de cepillado, así como las presiones sobre el cepillo, pueden darle mayor importancia a una acción que a otra. Además, algunas de las acciones de cada cerda pueden ser dañinas o favorables al proceso de limpieza, lo que depende de las condiciones del cepillado.²²

Contaminación de cepillos dentales.

Estudios recientes indican que en ocasiones microorganismos patógenos y oportunistas infectan prótesis y cepillos dentales.

En 1920 Coob, sugiere que los cepillos dentales son la causa de repetidas infecciones en boca, propone que los cepillos son contaminados después de usarse y que se debería verificar el grado de contaminación.⁹

Sin embargo, no fue sino hasta 1978, que Suanberg, comprobó que existe una severa contaminación de los cepillos dentales después de su uso por *Streptococcus mutans*.^{3, 9,10}

Glass y Lave reportaron que los cepillos contaminados juegan un papel importante en enfermedades sistémicas o locales.^{9,10}

Un reporte posterior de Glass y Jensen indican que tanto los virus como las bacterias, pueden ser albergadas y transmitidas por cepillos contaminados, con base en una observación clínica de laboratorio.^{9,10}

Beagle y Glass, demostraron una relación entre las enfermedades de inflamación oral y los cepillos dentales contaminados, siguiendo sus estudios, éstos autores recomiendan el cambio regular de cepillos y pastas dentales, el almacenamiento de los cepillos en un ambiente libre de humedad y el nuevo diseño de los cepillos para limitar la retención de microorganismos.^{3,9,10,11}

En éste orden de ideas, Maimberb, E, Birkhed, D, et al, realizaron un estudio de microorganismos en cepillos dentales en centros de atención en Suecia en la ciudad de Göteborg, reportando que de los cepillos utilizados por los niños de cuatro centros de atención, fueron aislados *Streptococcus*, predominantemente *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, y *Streptococcus sanguis*, así como *Staphylococcus epidermidis*.³⁰

Es igualmente importante que en algunos estudios realizados se ha demostrado que existe un grado de contaminación en los cepillos dentales nuevos dentro de la manufactura y proceso de éstos.^{2,10}

En un estudio realizado en 1986, se observó que los cepillos dentales usados por personas sanas y otras con enfermedad bucal presentaban microorganismos patógenos y oportunistas que podían causar trastornos bucales, padecimientos respiratorios, cardiovasculares, digestivos o renales. En ocasiones los cepillos de dientes retienen bacterias y virus e incluso se pueden contaminar antes de usarlos. Los métodos ineficaces de descontaminación, incluyen calor, microondas, detergentes para lavadoras automáticas de cocina y sustancias químicas como enjuagues bucales y alcohol.

Algunos estudios demostraron que cepillos dentales infectados con virus herpes simple I, que permanecieron en ambientes húmedos como el baño, conservaron casi la mitad del inoculo viral primario durante una semana. Otras investigaciones señalan que cuando los pacientes con enfermedad bucal inflamatoria cambian con frecuencia sus cepillos, sus síntomas disminuyen.²⁶

Estudios en animales demostraron que al infectar un cepillo con un patógeno conocido los microorganismos se adhirieron y reprodujeron en los cepillos dentales. Para evitar éstos problemas y con base en estudios in vivo e in vitro se recomienda.

1. Emplear cepillos transparentes o de colores claros con dos hileras de cerdas.
2. Las personas sanas deben sustituir cada dos semanas los cepillos dentales; los sujetos con enfermedad bucal o sistémica grave, deberán hacerlo con mayor frecuencia.

3. Guardar los cepillos en la recámara y no en el baño, que es el cuarto más contaminado de toda la casa.
4. Cambiar el cepillo dental al inicio de una enfermedad, cuando la persona mejora y cuando se restablece por completo.²⁶

En la cavidad bucal, las áreas con diferentes ambientes físico químicos y nutricionales como mucosa del carrillo, lengua, surcos gingivales y las superficies de los dientes, favorecen a la adherencia y crecimiento de cierto tipo de microorganismos. La mucosa del carrillo facilita el establecimiento predominantemente de bacterias facultativas, sobre todo de *Streptococcus viridans*. Algunos tipos de microorganismos se encuentran en esas áreas específicas de la boca constituyendo la flora normal o natural.

Numerosos estudios se realizan para observar la contaminación de los cepillos dentales por microorganismos de la cavidad bucal, así Karsuyuki Kozai en 1989, realizó un estudio sobre la contaminación de los cepillos utilizados sin pasta dental en niños, concluyendo que la mayor cantidad de microorganismos es el *Streptococcus mutans*, el cual incluso después del lavado del cepillo sólo con agua, se encontraba presente.²⁷

Svanberg, afirmó que los cepillos y pastas dentales se contaminaron de manera considerable con *Streptococcus mutans*, después de 24 horas de uso. Así mismo, mencionó que al utilizar cepillos infectados se introducen nuevos microorganismos a la flora normal existente. Hace algunos años se demostró que pacientes que padecían alguna enfermedad inflamatoria bucal, respondían mejor a la terapia si cambiaban su cepillo viejo por uno nuevo de manera regular (2 semanas). Si la enfermedad inflamatoria incluía a la lengua, se proporcionaba al paciente un cepillo exclusivo para esa zona y otro para los dientes. De ésta manera se pretendía determinar los tipos de microorganismos de cada uno y la posible relación entre los cepillos contaminados y la presencia de enfermedad.^{8, 26, 28}

Se ha reconocido que la contaminación por bacterias bucales puede ser causa de endocarditis subaguda y algunos estudios sugieren que la contaminación de los cepillos dentales por *Streptococos* pueden ser propiciadores.

Con respecto a la prevención de éste tipo de endocarditis sugieren algunos autores que para reducir la contaminación por bacterias como resultado del cepillado diario es necesario implementar una profilaxis antibiótica y el cambio de cepillo regularmente.

Normas oficiales mexicanas (SECOFI)

Dado el amplio consumo de productos para la higiene bucal que se comercializan en nuestro mercado es importante realizar una revisión con base a la calidad de manejo y empaque de los cepillos dentales.

La Norma Oficial Mexicana, con clave NOM-Q4-1974, se refiere al material que se utilizará para la fabricación de los cepillos dentales.⁵

Generalidades:

Definición: son las características del material de fabricación que se utilizará para fabricación.

Alcance: La presente Norma se aplica a los cepillos dentales.

Usos: Los cepillos dentales se emplean para la higiene bucal.⁵

Clasificación:

De acuerdo con el material de fabricación, su disposición y configuración los cepillos dentales se clasifican en:

Con cerdas sintéticas(Nylon), y natural (vegetal y animal). En ambos tipos se presentan dos tamaños, adulto e infantil, y los haces deben ser rectos en todos los tipos.⁵

Marco:

En el producto: los cepillos dentales deben llevar el texto adecuado de identificación y / o de la marca o símbolo del fabricante o distribuidor en el mango o alargadera y la palabra "México".⁵

En el empaque, envase o embalaje: los envases y/o empaque, ya sea en forma individual o colectiva, en estuche de plástico, cajas de cartoncillo o en bolsa de polietileno o celofán, deben obtener en forma clara las siguientes características:

- Nombre del producto
- Tipo y subtipo
- Nombre o símbolo del fabricante o distribuidos.
- La leyenda "HECHO EN MÉXICO"

Sello oficial de garantía, cuando la Secretaría de Industria y Comercio así lo autorice.⁵

El sistema de muestreo usado para comprobar la calidad de los cepillos dentales sujetos a inspección, puede fijarse por convenio entre las partes interesadas en la citada inspección, a falta de éste convenio, se deben usar los métodos de muestreo y tablas para la inspección por atributos de la Norma Oficial Mexicana DGN-R-18.⁵

En lo que respecta a las especificaciones que deben cumplir los productos destinados a la limpieza dental en dentríficos está la norma NOM K-539-S-1982.⁴

La norma NOM-F-88 está especificada para la determinación de microorganismos, aplicable a productos alimenticios y terapéuticos.

Definición y generalidades.

Definición.

Método de la prueba: Ésta Norma establece el método de las diluciones para determinar el contenido de microorganismos, las condiciones en ella establecidas, fijan su alcance y limitaciones así como su campo de aplicación. Esta Norma considera solamente hongos y bacterias.

Hongos. Son microorganismos filamentosos. Las características de los hongos reside en el micelio aéreo, algunas especies presentan pigmentos que les dan diferentes coloraciones

Bacterias. Son microorganismos unicelulares que derivan del reino vegetal, incluidos en el grupo de los *Schyzomyucetes*, su tamaño es variable y oscila entre 0.5 y 2 micras, por su forma se encuentran esféricas, bastones, espirales.

Generalidades.

Alcance.- Por este método no pueden determinar cualquier cantidad de microorganismos existentes en muestras sólidas y líquidas a que tengan afinidad por difundirse fácilmente en agua y se presentan como suspensión uniforme, la exactitud del método depende únicamente de la concentración de la dilución empleada.

Fundamento.

Este método se basa en el conteo microscópico de las colonias desarrolladas en un medio de cultivo rico en elementos nutritivos.

Campo de aplicación.

Este método es aplicable a productos alimenticios, terapéuticos y en general a materiales que se dispersan fácilmente en agua.

Clasificación y especificaciones.

Esta norma establece un solo método de prueba para la determinación de microorganismos.

Especificaciones.

Espécimen: la cantidad de muestra empleada es de un gramo.

Método de prueba. Procedimiento.

Suspenda la muestra en agua estéril y haga las diluciones convenientes. Siembre un mililitro de cada una de las diluciones (por triplicado cuando menos), en cajas de petri con medio de cultivo, rico en nutrientes, incube a 36 – 38°C por 48Hrs, observe al microscopio las colonias desarrolladas.

Resultados: Tome la serie de placas en que se hayan desarrollado colonias diferenciadas, que sean fácilmente contables promedio el número de colonias obtenidas de placas de igual dilución y cálculo el número de microorganismos mediante la siguiente fórmula.

$$M = C \times D \quad \text{donde}$$

M = Número de microorganismos presentes en la muestra

C = Promedio del número de colonias desarrolladas en el medio nutritivo.

D = Diluciones empleada en la siembra.

Planteamiento del problema y justificación.

Las cerdas de los cepillos dentales son un medio idóneo para el desarrollo de microorganismos que se localizan en el medio ambiente, dentro de los cuales pueden encontrarse bacterias y hongos patógenos que pudieran transmitirse a través del uso del cepillo.

Algunos cepillos del mercado o incluso cepillos que otorgan instituciones para promover el cepillado dental, se pueden presentar con y sin estuche, por lo anterior, es importante determinar la presencia de bacterias y hongos que se desarrollan en los cepillos dentales nuevos con y sin estuche, mismos que se encuentran en nuestra población para su uso cotidiano y sin previa esterilización y/o desinfección.

En los últimos años han salido al mercado nuevos diseños de cepillos, pero no ha habido difusión de las medidas necesarias para disminuir la contaminación del mismo, incluso desde nuevo. Son pocos los estudios realizados en el mundo en relación con la contaminación de cepillos dentales nuevos y usados. Los trabajos realizados en el extranjero, no son aplicables en nuestro medio por la diferencia de costumbres, condiciones de vida, hábitos de higiene, nivel socioeconómico, alimentación entre otros; ya que todas éstas situaciones determinan el tipo de flora bacteriana predominante en los individuos.

Hipótesis

Hipótesis de investigación

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche están libres de microorganismos.

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche no presentan microorganismos patógenos.

Hipótesis nula.

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche no están libres de microorganismos.

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche presentan microorganismos patógenos.

Objetivos

Objetivo general

Determinar qué bacterias y hongos se encuentran presentes en los cepillos dentales nuevos.

Objetivos específicos.

Realizar cultivos para determinar la presencia de bacterias en los cepillos dentales.

Realizar cultivos para determinar la presencia de hongos en los cepillos dentales.

Hipótesis

Hipótesis de investigación

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche están libres de microorganismos.

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche no presentan microorganismos patógenos.

Hipótesis nula.

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche no están libres de microorganismos.

Los cepillos dentales nuevos con y sin estuche presentan microorganismos patógenos.

Objetivos

Objetivo general

Determinar qué bacterias y hongos se encuentran presentes en los cepillos dentales nuevos.

Objetivos específicos.

Realizar cultivos para determinar la presencia de bacterias en los cepillos dentales.

Realizar cultivos para determinar la presencia de hongos en los cepillos dentales.

Realizar cultivos para determinar la presencia de *S. aureus* en cada cepillo

Realizar cultivos para determinar la presencia de *P. aeruginosa* en cada cepillo

Realizar cultivos para determinar la presencia de Enterobacterias en cada cepillo

Realizar frotis de cada uno de los cultivos positivos.

- ❖ Autoclave
- ❖ Refrigerador
- ❖ Balanza granataria
- ❖ Cámara fotográfica
- ❖ Equipo de cómputo
- ❖ Impresora

Medios de cultivo

- ❖ Agar de Soya Trypticaseína
- ❖ Caldo de Soya Trypticaseína
- ❖ Agar dextrosa papa
- ❖ Agar Manitol salado
- ❖ Agar Mac Conkey
- ❖ Agar Cetrimida

Varios

- ❖ Algodón
- ❖ Masking tape
- ❖ Cinta testigo
- ❖ Papel para envolver
- ❖ Gasas

❖ Rollos fotográficos.

❖ Papelería

❖ Diskettes

❖ Guantes

Método

La muestra se conformó de 10 cepillos nuevos que se consiguen con facilidad en el Distrito Federal y área Metropolitana.

Los cepillos fueron adquiridos en diferentes tiendas de autoservicio: Colgate Sensation y Colgate Classicc en Comercial Mexicana; Ultraden 2000 y Buttler Gum en Wal Marth; Johnson & Johnson Reacher y Oral B en la Tienda del ISSSTE; PRO de Luxe en la Farmacia París; solo en el caso del cepillo de marca libre este fue obsequiado en un centro de salud del ISSSTE.

Cada uno de los cepillos y sus características se describen a continuación:

1. Colgate Sentation

Cabeza forma de diamante

Mango flexible y anatómico

4 hileras de cerdas.

Adulto

Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente

2. Colgate classic de luxe

Cabeza forma de diamante.

Mango semi recto

5 hileras de cerdas.

Adulto

- Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente.
3. Oral B Pro de Luxe
Cabeza forma oval.
Mango recto y duro
4 hileras de cerdas
Adulto
Presenta un estuche de mica dura y transparente.
4. Oral B Sulcus thooth brush
Cabeza forma oval
Mango recto y duro
2 hileras de cerdas
Adulto
Para tratamientos de ortodoncia
Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente.
5. Johnson & Johnson Reacher
Cabeza forma de diamante
Mango recto y suave.
4 hileras de cerdas
Adulto
Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente
6. Johnson & Johnson Buttler gum # 432.
Cabeza forma oval.
Mango recto y duro
4 hileras de cerdas
Adulto
Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente.

7. Ultraden 2000 color verde
Cabeza forma oval
Mango duro y recto
4 hileras de cerdas
adulto
Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente
8. Ultraden 2000 color azul
Cabeza forma oval
Mango duro y recto
4 hileras de cerdas
adulto
Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente
9. Ultraden 2000 color amarillo
Cabeza forma oval
Mango duro y recto
4 hileras de cerdas
adulto
Presenta un empaque con respaldo de cartón y mica por la parte de enfrente
10. Marca libre
Cabeza en forma de ocho
Mango duro y recto
6 hileras de cerdas
No indica si es para adulto o infantil.
No presenta ningún tipo de empaque.

La investigación se llevó a cabo en el área de Microbiología del Laboratorio de Patología Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de odontología bajo los lineamientos

establecidos por el reglamento interno de éste mismo y las normas de bioseguridad requeridas.

Cada cepillo fue sumergido en 20ml de caldo de soya tripticaseína cuidando que no se produjera contaminación alguna tanto al desempacarlos como en su transferencia del empaque al tubo, realizándolo en un ambiente estéril, este tubo constituyó la dilución 10^{-0} , se agitaron manualmente y fueron incubados a 36°C durante 5 minutos, inmediatamente fue depositado un mililitro de esta dilución en tubos de ensaye con 9 ml de caldo de soya tripticasa, para conformar la dilución 10^{-1} , ésta dilución fue agitada manualmente y fue tomado un mililitro para colocarlo en otro tubo de ensaye también con 9ml de caldo de soya tripticasa para la dilución 10^{-2} y así sucesivamente para todas las diluciones hasta llegar a la 10^{-4} . De cada dilución (10^{-0} a 10^{-4}) fue tomado un mililitro y se sembró en una caja de petri estéril por duplicado; posteriormente fue vertido el Agar soya tripticasa, las placas se incubaron a 36° C por 72 horas.

Para la identificación de hongos en los cepillos de la dilución de 10^{-0} fue tomado un mililitro para sembrar por duplicado en el medio de agar dextrosa papa. Asimismo para la identificación de la presencia de bacterias objetables se sembró por duplicado también un mililitro de la dilución 10^{-0} en los medios de Agar Cetrimida para *Pseudomona aeruginosa*, Agar manitol salado para *Staphylococcus aureus* y Agar MacConkey para enterobacterias. Las placas se incubaron por 72 horas a 36° C.

De todos los cultivos anteriormente mencionados se realizaron observaciones a las 24, 48 y 72 horas, haciendo anotaciones de cada uno de los resultados y la cuantificación de colonias bien diferenciadas y fácilmente contables.

A cada una de las placas positivas se les realizó frotis y tinción de GRAM. Los resultados fueron vaciados en tablas.

Tipo de estudio.

Este estudio es clasificado como descriptivo transversal.

Población de estudio y muestra

La población de estudio consta de cepillos dentales de diferentes marcas comerciales y tipos expedidos al público en general y de uso cotidiano por el común de la gente.

La muestra fue seleccionada aleatoriamente y conformada por 10 cepillos dentales nuevos los cuales son:

- ❖ Colgate Sentation
- ❖ Colgate classic de luxe
- ❖ Oral B Pro de Luxe
- ❖ Oral B Sulcus thooth brush
- ❖ Johnson & Johnson Reacher
- ❖ Johnson & Johnson Buttler gum # 432.
- ❖ Ultraden 2000 color verde
- ❖ Ultraden 2000 color azul
- ❖ Ultraden 2000 color amarillo
- ❖ Marca libre

Tipo de estudio.

Este estudio es clasificado como descriptivo transversal.

Población de estudio y muestra

La población de estudio consta de cepillos dentales de diferentes marcas comerciales y tipos expedidos al público en general y de uso cotidiano por el común de la gente.

La muestra fue seleccionada aleatoriamente y conformada por 10 cepillos dentales nuevos los cuales son:

- ❖ Colgate Sentation
- ❖ Colgate classic de luxe
- ❖ Oral B Pro de Luxe
- ❖ Oral B Sulcus thooth brush
- ❖ Johnson & Johnson Reacher
- ❖ Johnson & Johnson Buttler gum # 432.
- ❖ Ultraden 2000 color verde
- ❖ Ultraden 2000 color azul
- ❖ Ultraden 2000 color amarillo
- ❖ Marca libre

Criterios de Inclusión, de exclusión y eliminación.

Criterios de Inclusión.

Los criterios de inclusión fueron el ser cepillos nuevos de fácil adquisición por el público en general, de cualquier marca o de marca libre, de costos variables, de cualquier diseño, de cualquier textura y dureza de las cerdas, teniendo o no estuche y envoltura.

Criterios de exclusión.

Los únicos criterios de exclusión fueron que el cepillo fuera usado o que estuvieran alteradas sus características de envoltura en el caso de los cepillos con estuche.

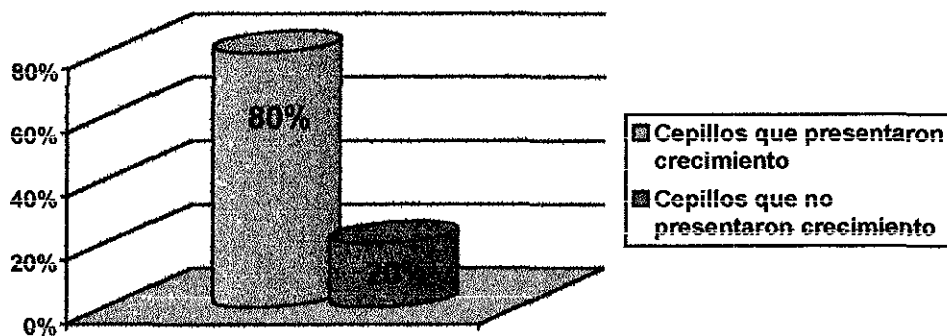
Criterios de eliminación.

El único criterio de eliminación es que el cepillo dental hubiese sido mal manipulado en el momento del desempaqueamiento, cultivo o cualquier procedimiento del método.

Resultados.

En 8 de los 10 cepillos estudiados (80%), las muestras presentaron crecimiento de microorganismos en los cultivos de Agar Soya tripticaseína, (Gráfica 1) éstos cepillos fueron: Colgate Sensation, Ultraden 2000 color verde, Reacher, Buttler gum, Sulcus de Oral B, marca libre, Ultraden 2000 color azul y Pro de luxe (Tabla 1), así como dos marcas de cepillos no provocaron desarrollo en medio de Agar soya Tripticaseína, éstas fueron: Colgate classic y Ultraden 2000 amarillo. (Tabla1).

Gráfica 1 Desarrollo porcentual de colonias de los cepillos en agar soya tripticaseína FO 1999



Fuente directa.

Tabla 1 Número de colonias desarrolladas por dilución en Agar soya tripticasa, F.O. 1999

Casa comercial	Cepillo	Dilución en soya Trypticaseína				
		10 ⁻⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Colgate - Palmolive	Sensation	26	6	5	5	3
	Classic	-	-	-	-	-
Oral B	Pro de luxe	2	-	-	-	-
	Sulcus	2	-	-	-	-
Johnson & Johnson	Reacher	2	-	-	-	-
	Buttler gum	7	2	1	-	-
Ultradén 2000	Ultradén2000 verde	2	-	-	-	-
	Ultradén2000 azul	2	2	1	-	-
	Ultradén2000 amarillo	-	-	-	-	-
Marca libre	Sin nombre	46	7	4	-	-

Fuente directa

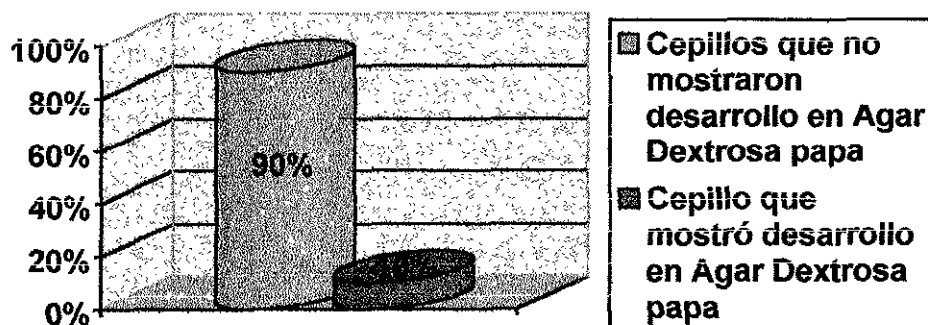
En lo referente al desarrollo de colonias en Agar dextrosa papa, se observó fue sólo un cepillo -Ultraden 2000 color verde- (10%) fue positivo (Tabla 2, Gráfica 2).

Tabla 2 Crecimiento de colonias en agar dextrosa papa. F.O 1999

Casa comercial	Cepillo	Agar dextrosa papa
Colgate - Palmolive	Sensation	Negativo
	Classic	Negativo
Oral B	Pro de luxe	Negativo
	Sulcus	Negativo
Johnson & Johnson	Reacher	Negativo
	Buttler gum	Negativo
Ultraden 2000	Ultraden2000 verde	Positivo
	Ultraden2000 azul	Negativo
	Ultraden2000 amarillo	Negativo
Marca libre	Sin nombre	Negativo

Fuente directa

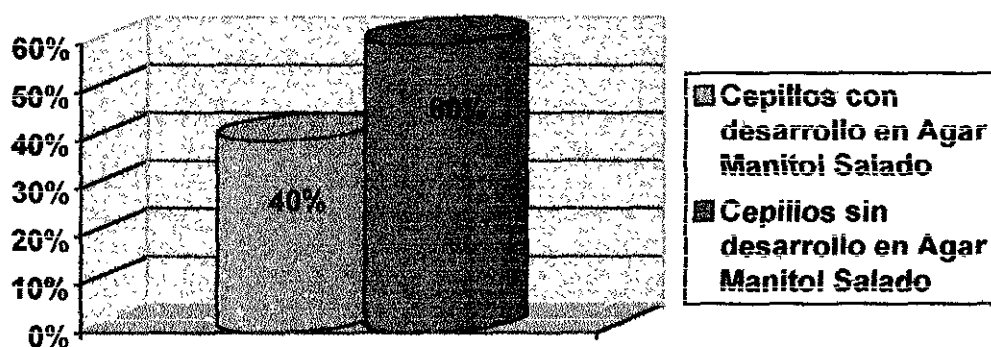
Gráfica 2 Desarrollo porcentual de colonias en Agar Dextrosa papa F.O. 1999



Fuente directa

El análisis microbiológico realizado para la detección de bacterias objetables, reveló que en un 40% (cuatro cepillos), hubo desarrollo en el medio de agar manitol salado (Gráfica 3), selectivo para *S. aureus* con una reacción manitol positiva y el color de las colonias fue amarillo, lo anterior se sometió a observación microscópica, los cepillos que dieron un desarrollo positivo en éste medio fueron: Buttler gum, marca libre, Ultraden 2000 azul y Pro de luxe (Tabla 3), así mismo los medios de cultivo Agar MacConkey para enterobacterias y Agar Cetrimida para *Pseudomona aeruginosa* no mostraron crecimiento alguno (Tabla 3)

Gráfica 3 Crecimiento porcentual de colonias en Medio de Agar Manitol Salado F.O. 1999



Fuente directa.

**Tabla 3 Crecimiento de colonias en medios selectivos para bacterias
objetables F.O. 1999**

Casa comercial	Cepillo	Medios selectivos		
		Agar Mac Conkey	Agar Cetrimida	Agar Manitol salado
Colgate - Palmolive	Sensation	-	-	-
	Classic	-	-	-
Oral B	Pro de luxe	-	-	+
	Sulcus	-	-	-
Johnson & Johnson	Reacher	-	-	-
	Buttler gum	-	-	+
Ultradén 2000	Ultradén2000 verde	-	-	-
	Ultradén2000 azul	-	-	+
	Ultradén2000 amarillo	-	-	-
Marca libre	Sin nombre	-	-	+

Fuente directa

El desarrollo de microorganismos en el medio de Agar Soya Trypticaseína, indicó la presencia de bacterias en el cepillo, a partir del número de colonias y diluciones en placas se calculó el número de microorganismos en cada uno de los cepillos, sin embargo, éste número no indica que los microorganismos presentes fuesen patógenos y objetables pero sí indica el grado de contaminación que presenta cada cepillo.

**Tabla 4 Número total de microorganismos por muestra en Agar Soya
Trypticaseína. F.O 1999**

Casa comercial	Cepillo	Número total de microorganismos por mililitro.
Colgate - Palmolive	Sensation	36 por ml
	Classic	-
Oral B	Pro de luxe	2 por ml
	Sulcus	2 por ml
Johnson & Johnson	Reacher	2 por ml
	Buttler gum	8 por ml
Ultradén 2000	Ultradén2000 verde	2 por ml
	Ultradén2000 azul	4 por ml
	Ultradén2000 amarillo	-
Marca libre	Sin nombre	46 por ml

Fuente directa

Discusión

Actualmente el instrumento de higiene bucal más utilizado por la población mundial es el cepillo dental, es recomendado este producto, sugiriéndose su alta calidad y técnica científica, así como una presentación agradable y un diseño eficaz. Dentro del proceso de elaboración de éstos, se ven involucradas diferentes etapas, en las cuales el cepillo se contamine incluso por microorganismos objetables que ante un hospedero susceptible pueden desencadenar enfermedades de riesgo.

Diferentes estudios analizan la contaminación existente en cepillos usados y pocos lo hacen en cepillos nuevos. Esta investigación es un estudio piloto que se hizo para encontrar la presencia de microorganismos en cepillos nuevos con y sin empaque para posteriormente plantear un estudio de mayor alcance en cepillos nuevos y en uso lo que nos permita analizar las asociaciones entre estos y entre diferentes marcas y tipos así como sus posibles consecuencias a un nivel sistémico.

Estudios referentes a la contaminación en cepillos usados como el Suanberg en 1978 y Kozai en 1989 concluyen que existe una contaminación severa en cepillos dentales tanto en niños como en adultos por *Streptococcus mutans* inclusive después del ser lavado con agua el cepillo.

Malmerg y Birkhed en 1994 reportaron que de cepillos utilizados por niños fueron aislados *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus sanguis*, así como *Staphylococcus epidermidis*,

Es importante hacer énfasis que no, solo en cepillos usados se pueden encontrar microorganismos objetables.

Ojeda S, y Camacho O; en 1994 hicieron un estudio analizando cepillos en uso y en 72 cepillos nuevos de diferentes marcas comerciales observaron la presencia de *Pseudomona aeruginosa* en los cepillos Reach, *Actinobacillus equilli* en cepillos de cerdas naturales; *Pasteurella haemolytica* en Buttler; *Pasterurella ureae* en pro double duty; *Yersinia pestis* en Colgate plus y *Actinobacillus equilli* en pro dentist choice.

El estudio mencionado anteriormente, menciona que Colgate Zig-zag, Aqua – fresh y Oral B 35 se encuentran libres de contaminación, sin embargo sus resultados son distintos a los nuestros.

En este estudio se encontraron contaminados con *Staphylococcus aureus* los cepillos nuevos PRO de luxe de Oral B, Buttler Gum de Johnson & Johnson, Ultraden 2000 color azul y Marca Libre; Con presencia de hongos el cepillo Ultraden 2000 color verde.

Se observó que el cepillo de marca libre (ISSSTE) que es obsequiado a los pacientes sin ningún tipo de estuche, es el que presentó el mayor número de bacterias en el Agar de Soya Tripticasa y presentó contaminación por *S. aureus*; con respecto a esto, la institución, deberá de implementar en sus cepillos, un estuche, empaque o embalaje, que garantice que el cepillo no se contamine en su transporte o manipulación.

Con respecto a otros cepillos de Colgate-Palmolive, Oral B, Johnson & Johnson y Ultraden 2000, que también presentaron desarrollo de microorganismos, deberá investigarse si en su manufactura los procedimientos se ajustan a la norma oficial mexicana establecida para calidad, manejo y empaque de los cepillos dentales así como para la determinación de microorganismos en productos alimenticios y terapéuticos.

Glass en 1992 y Ojeda en 1994 a partir de los resultados obtenidos en su estudio, indican que la contaminación de cepillos es un riesgo potencial, que

tanto las autoridades de salud, fabricantes, odontólogos y pacientes deben tomar en cuenta para evitar posibles problemas patológicos posteriores. De acuerdo a nuestros resultados, donde encontramos bacterias objetables (*S. aureus*) en cepillos nuevos, coincidimos con la opinión de los autores mencionados.

Glass en 1992 propone que deben implementarse en la población, procedimientos preventivos de desinfección para ser utilizados en cepillos nuevos y en uso, con lo cual coincidimos con algunos de éstos, los cuales son:

- Emplear cepillos transparentes o de colores claros con dos hileras de cerdas.
- Las personas sanas deben sustituir cada dos semanas los cepillos dentales; los sujetos con enfermedad bucal o sistémica grave, deberán hacerlo con mayor frecuencia.
- Guardar los cepillos en la recámara y no en el baño, que es el cuarto más contaminado de toda la casa.
- Cambiar el cepillo dental al inicio de una enfermedad, cuando la persona mejora y cuando se restablece por completo.

Sin embargo, en nuestra población, la economía difícilmente permite cambiar el cepillo tan frecuentemente, además de que es muy discutible el hecho de que en las recámaras el cepillo se mantenga mejor debido a las características de hacinamiento en la población, posiblemente sean más convenientes el uso de medidas de desinfección para los cepillos dentales.

Conclusiones

El 80 % de los cepillos que se estudiaron presentaron desarrollo de bacterias.

Sólo en el caso del cepillo Ultraden 2000 verde hubo desarrollo de hongos.

Se demostró que en el cepillo de marca libre, que se adquiere sin ningún tipo de protección, embalaje o empaque, hay un mayor número de microorganismos en el producto.

El segundo cepillo con mayor crecimiento de bacterias fue el Colgate Sensation; seguido de Buttler GUM.

Los cepillos con menor grado de desarrollo de bacterias fueron Ultraden 2000 color azul; Pro de luxe, Sulcus y Reacher.

Los cepillos libres de crecimiento de microorganismos fueron Colgate Classic y Ultraden 2000 amarillo.

Las cerdas de los cepillos de dientes son nichos potenciales permitiendo la adherencia de microorganismos.

Se deben proponer e implementar la población programas preventivos para la desinfección de cepillos nuevos y usados.

Los cepillos Marca libre, Buttler Gum, Ultraden azul y Pro de Luxe presentaron contaminación por *Staphylococcus aureus* microorganismo objetable.

Por lo cual, se ha proyectado ampliar éste estudio para determinar la contaminación de cepillos dentales en México en especial por *S. aureus* con un mayor número de muestras de diferentes lotes.

Bibliografía

1. Thomas K Barber, Odontología Pediátrica Editorial Manual moderno México D.F. 1987
2. Sergio, O. Joel N, Macario M. Incidencia y prevalencia de Microorganismos en cepillos dentales nuevos y en uso PO. Vol. 17. No 12 p 30
3. Malmerg,E, Birkhed D, Norvenius G, Noren JG, Dahlen G, Microorganisms on Toothbrushes at day care centers Acta Odontol Scand 1994 apr;52(2)93-8
4. Norma oficial mexicana (NOM-K-539-S-1982)- Dentrífico.
5. Norma Oficial Mexicana (NOM-Q-4-1974) Cepillos dentales.
6. Norma Oficial de Métodos de Prueba para la determinación de Microorganismos (NOM-F-88-1964)
7. Pelczar M. Elementos de Microbiología editorial McGraw-Hill México D.F. 1991
8. Malvin E. Rin, Historia ilustrada de la odontología Editorial Botella Toyma.
9. Caudry S, Klitorinos A Chan E, Contaminated toothbrushes and their disinfection. J, Can Dent Assoc 1995,Jun 61(6):511-16
10. Glass R T Toothbrush types and retention of microrganisms; how to choose a biologically sound toothbrush?
<http://www.purebrush.com/toothb.html>

11. Daroub M, Rusilko A, Gross A Microbial contamination of toothbrushes S. Dentres, June 1977, Vol.56. N 6 p 706
12. Jenny CI, The use and Handling of toothbrushes in schools and institutions. <http://www.familyinternet.com/dentist/hand.html>
13. Kimberly a, Candy A, Special hygiene tips. <http://www.familyinternet.com/dentist/special.html>
14. Thomas E Mintel Jay crawford. The search a superior toothbrush design technology. Vol. III supplement The Journal of clinical dentistry C.
15. Naresh C, Gzalveston, F, Kedar N, Mc Cool, Volpe A, Comparative plaque removal efficacy or the toothbrushes in two independent clinical studies. The Journal of clinical dentistry Vol. III supplement C-C13-C20
16. Surendra M Kedar N James J Margaret P. Clinical studies Regarding the plaque removal efficacy of manual toothbrushes. The journal of clinical dentistry Vol. III wsupplement C-21-C-28
17. Volpe A, The toothbrush A new dimension in design, engineering, and clinical evolution. The journal of clinical dentistry Vol. III supplement C-29-C-33.
18. Sammuel L, Emling R, Comparative laboratory evaluation of three toothbrushes regarding interproximal access efficacy. The journal of clinical dentistry Vol. Ili, suplemente C- C5-C-8
19. Kedar, N Curtis J. Volpe A, Kemp J, McCool K, et al Refinement of the modified many plaque index to increase plaque scoring efficiency in gumline and interproximal tooth areas. The journal of clinical dentistry Vol. III Supplement C- C9-C12

20. Casaretto H, Sicorsky A, Cecettri Mo, Recalde C. Sobre cepillos y cepillados. Rev. Asoc, Odontol. Argent. Vol.81, No.3 Jul/sep 1993 Pag 199
21. VanSwol, R, Vanscotter, A Pucher J, What researchers are saying about the hygienic toothbrush. <http://www.ionicbrush.com/expert.html>
22. Zimbrón Levy A; Feingold M; Odontología preventiva conceptos básicos Cuernavaca UNAM, Centro Regional de Investigaciones Multidisciplinarias, 1993. p 71-97
23. Katz, M Odontología Preventiva en Acción. Editorial Panamericana Tercera edición. 1988
24. Microbiología Oral. J. Liebana Ureña. 1ª ed, Mc Graw Hill 1995
25. Mintel. T; Crawford J. The search for a superior Toothbrush Design tecnology, J. Clin Dent Suppl C vol III p C1-C4
26. Glass RT. The infected toothbrush, the infected denture, and transmission of disease: a review. Compend Contin Educ Dent 13(8):592-9 1992
27. Kozai K, Iwai T, Miura K. Residual contamination of toothbrushes by microorganisms. Jouranal of dentistry for children. May Jun 1989 201-205
28. Sergio, O. Joel N, Macario M. Incidencia y prevalencia de Microorganismos en cepillos dentales nuevos y en uso PO. Vol. 17. No 11 p 8-11
29. Topley and Wilson's. Principles of bacteriology, virology, immunity. 8 ed Philadelphia B.C. Decker. 1987

30. Malmerg E, Birkhed D, Norvenius G, Noren JG, Dahlen G,
Microorganisms on toothbrushes at day care centers, Acta Odontol
Scand. 1994 Apr;52(2):93-8