TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

"EFICACIA *IN VITRO* DE TÉCNICAS DOMÉSTICAS PARA LA DESINFECCIÓN DE CEPILLOS DENTALES CONTAMINADOS CON *ENTEROCOCCUS FAECALIS*"

Tesis para optar el título profesional de:

CIRUJANO DENTISTA

Presentado por:

Gina Alessandra Donayre Salvatierra (0000-0002-1695-9860)

Asesora:

Julissa Amparo Dulanto Vargas (0000-0003-4845-3853)

Lima – Perú

2024

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 6 de marzo del 2024.
Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: DRA. ESPERANZA RAQUEL AYÓN HARO
Miembro: MG. ESP. PEDRO LUIS TINEDO LÓPEZ
Miembro: MG. ESP. CONSUELO MARROQUIN SOTO

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

«EFICACIA *IN VITRO* DE TÉCNICAS DOMÉSTICAS PARA LA DESINFECCIÓN DE CEPILLOS DENTALES CONTAMINADOS CON *ENTEROCOCCUS FAECALIS*»

Presentado por el estudiante: GINA ALESSANDRA DONAYRE SALVATIERRA

Para optar el **Título Profesional de Cirujano Dentista**

Asesorada por la: DRA. JULISSA AMPARO DULANTO VARGAS

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la estudiante de la Carrera de Estomatología en la sustentación, se concluye de:
Manera unánime (**X**)
Por mayoría ( )
Calificar a la:

Tesista: GINA ALESSANDRA DONAYRE SALVATIERRA		Nota: diecisiete (17)	
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena (**X**)	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



_____
DRA. ESPERANZA RAQUEL AYÓN HARO
Presidente del Jurado



_____
MG. ESP. PEDRO LUIS TINEDO LÓPEZ
Miembro



_____
MG. ESP. CONSUELO MARROQUIN SOTO
Miembro



_____
DRA. JULISSA AMPARO DULANTO VARGAS
Asesora

ANEXO: FORMATO DE DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS / TRABAJO DE INVESTIGACIÓN[1]

Lima, 06 de marzo de 2024

Señor Doctor,
Carlos Zavalaga Reyes

Director General de Investigación, Desarrollo e Innovación
Universidad Científica del Sur
Presente. –

De nuestra consideración,

Yo: Gina Alessandra Donayre Salvatierra, egresado de la Carrera de Estomatología de la Universidad Científica del Sur, en conjunto con el asesor/la asesora de tesis Julissa Amparo Dulanto Vargas, declaramos que este informe final de tesis titulado: Eficacia in vitro de técnicas domésticas para la desinfección de cepillos dentales contaminados con Enterococcus faecalis, sustentado para obtener el título de Cirujano Dentista es original.

Es decir, no contiene plagio parcial ni total, cuando se utilizó información de fuentes externas se reconoció la autoría mediante la adecuada citación y los resultados obtenidos son producto entero de mi (nuestra) investigación y no han sido falseados ni fabricados. Todo esto en cumplimiento del Código de ética en la investigación, Reglamento del Comité de Integridad Científica, Reglamento de Propiedad Intelectual, Normas y procedimientos de los trabajos de investigación para la obtención de títulos profesionales y grados académicos [2], que afirmamos conocer en su totalidad.

Por ello, en caso de identificarse alguna situación de plagio, falsificación o fabricación de resultados, nos allanamos al proceso de investigación que establezca la Universidad y las posibles sanciones que pudieran surgir.

Firmamos en conformidad con lo declarado,

Firma tesista
DNI: 75974955

Firma del asesor de tesis
DNI: 42800983

[1] En conformidad con la Resolución del Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD
[2] Los documentos están en: https://investigacion.cientifica.edu.pe/reglamentos/

INFORME DE REVISIÓN DE ORIGINALIDAD

Título del documento evaluado. Eficacia in vitro de técnicas domésticas para la desinfección de cepillos dentales contaminados con *Enterococcus faecalis*

Autores. Julissa Amparo Dulanto Vargas

Mecanismo de revisión de originalidad. Evaluación con Turnitin (ID 2318805099).

Resultado de la evaluación. 6%

Revisado por. Magaly Kelly Guerrero Huaracallo.

Comentarios sobre la revisión. Filtros usados: excluir fuentes de menos de 12 palabras.



Eficacia in vitro de técnicas domésticas

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%	6%	4%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uniandes.edu.co Fuente de Internet	3%
2	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	<1%
3	www.fcb.uanl.mx Fuente de Internet	<1%
4	archive.org Fuente de Internet	<1%
5	issuu.com Fuente de Internet	<1%
6	Submitted to Universidad Cientifica del Sur Trabajo del estudiante	<1%

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

DEDICATORIA

A cada una de las personas que me brindó su apoyo incondicional en este trayecto arduo, intrincado, pero a su vez, satisfactorio; especialmente a mis padres cuyo soporte ha sido esencial en cada paso que he dado a lo largo de mi vida, a mis hermanos por permanecer a mi lado y animarme cuando me sentía abrumada; y a mis amigas por alentarme a seguir adelante siempre.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

AGRADECIMIENTOS

A la doctora Julissa Dulanto por su dedicación, conocimientos, pero sobre todo por su tiempo y paciencia en el asesoramiento y desarrollo de este estudio.

Al doctor Kilder Carranza por cada aporte brindado en la metodología y estadística de este trabajo de investigación.

A la profesora Elba Martínez por sus recomendaciones metodológicas al proyecto de tesis.

Al ingeniero Oscar Reategui por compartir sus conocimientos e instruirme a lo largo de este trabajo de investigación.

Al biólogo Raúl Olaechea por capacitarme en el uso de cada material, instrumento y equipo de laboratorio, por aconsejarme, acompañarme y hacer el seguimiento en cada paso de la metodología de este estudio.

A todo el personal de laboratorio, en especial a Roxana, Lorena y Marcos, por ayudarme a conocer un poco más de los materiales de laboratorio y brindarme su ayuda en los laboriosos pasos que implicó este trabajo.

A la Dirección General de Investigación, Desarrollo e Innovación (DGIDI) por el apoyo en la corrección de la traducción del manuscrito.

A la Universidad Científica del Sur por el apoyo de subvención de fondos para el financiamiento del estudio.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ÍNDICE

		Pág.
	Título	1
	Resumen	2
	Abstract	3
I.	Introducción	4
II.	Materiales y métodos	5
III.	Resultados	9
IV.	Discusión	10
V.	Conclusiones	13
VI.	Tablas y figuras	14
VII.	Referencias bibliográficas	17
VIII.	Anexos	19

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ARTÍCULO ORIGINAL ENVIADO A PUBLICAR

TÍTULO EN ESPAÑOL

«EFICACIA *IN VITRO* DE TÉCNICAS DOMÉSTICAS PARA LA DESINFECCIÓN DE CEPILLOS DENTALES CONTAMINADOS CON *ENTEROCOCCUS FAECALIS*»

TÍTULO EN INGLÉS

"*IN VITRO* EFFICACY OF DOMESTIC TECHNIQUES FOR TOOTHBRUSHES DISINFECTION CONTAMINATED WITH *ENTEROCOCCUS FAECALIS*"

Alessandra Donayre-Salvatierra[1], Julissa Dulanto-Vargas[2], Raúl Olaechea-Alejos[3,4], Oscar Reátegui[4], Kilder Carranza-Samanez[2]

1. Graduate student, School of Dentistry, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.
2. Research Group in Dental Sciences, School of Dentistry, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.
3. Molecular Microbiology and Bacterial Genomics Laboratory, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.
4. Research Group, Characterization, Transformation and Sustainability of the Natural Resources of Peru (CTS Group), Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

Correspondence: Julissa Amparo Dulanto Vargas

Email: jdulanto@cientifica.edu.pe

Acknowledgments: The authors express their gratitude to Elba Martinez Cadillo for her methodological recommendations to the study.

Author contributions: ADS wrote the manuscript and conducted the experiments and analized the results in compliance with the requirements for a professional degree in Peru and analized the results. JDV contributed to the idea and writing of the manuscript. ROM and ORA organized and supported the experiment. KCS analyzed the results. All authors critically reviewed the manuscript.

Funding: Study financed by internal undergraduate funds by the Universidad Científica del Sur (No. 010-DGIDI-CIENTÍFICA-2022).

Data availability: The data obtained to support the results of this study are available at: https://figshare.com/s/c3eead2509b3b171724b

Disclosure: This study is based on thesis of Alessandra Donayre.

Conflicts of interest: The authors declare that they do not have any conflicts of interest.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

RESUMEN

La educación en higiene oral al paciente es fundamental en la odontología preventiva-promocional. Los cepillos dentales, aditamentos principales en la higiene bucal, están expuestos constantemente a fuentes contaminantes que los hacen vulnerables a infección cruzada; por ello, la desinfección de estos debe ser integrada en la educación en higiene oral. El objetivo de este estudio fue comparar la eficacia *in vitro* de técnicas domésticas para la desinfección de cepillos dentales contaminados con *Enterococcus faecalis.* **Métodos:** Estudio *in vitro* aplicado a una muestra calculada de 76 cepillos dentales contaminados con *Enterococcus faecalis (Ef)* ATCC® 29212™ sometidos a protocolos de desinfección: G0. agua destilada (control negativo) (n=8), G1. dimetilsulfoxido al 10% (control negativo) (n=8), G2. clorhexidina al 0,12% (control positivo) (n=15), G3. vinagre blanco al 100% (n=15), G4. microondas a 700 w (n=15) y G5. extracto alcohólico de ajo a 200 mg/ml (n=15). El recuento bacteriano se valoró por unidades formadoras de colonias (UFC/ml) categorizadas en contaminación: baja (<30), media (30-300) y alta (>300). La prueba de Kruskal-Wallis con post-hoc por parejas se utilizó a un nivel de significancia de P<0,05. La eficacia contra *Ef* mostró diferencias altamente significativas entre grupos (p=0,000) con medianas de UFC/ml inferiores en clorhexidina y vinagre (Me=0 [RQI=0]: baja) y microondas (Me=6000 [RQI=45000]: baja) frente a los controles negativos (Me=378500 y 5020000 [RQI= 4605000 y 6760000]: medio y alto; respectivamente) (P<0,019). La eficacia del microondas fue inferior a clorhexidina y vinagre (p≤0,19), pero similar al ajo [Me=1510000 [RQI=590000]: medio) (p=0,822), mientras que el ajo no fue superior a los controles negativos (p≥0,05). La desinfección de cepillos dentales con clorhexidina, vinagre y microondas generó una reducción eficaz significativa del recuento de *Ef*.

Palabras claves: vinagre, microondas, *Allium sativum*, desinfección, cepillo dental

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ABSTRACT

Oral hygiene education for patients is fundamental in preventive-promotional dentistry. Toothbrushes, the main accessories in oral hygiene, are constantly exposed to contaminating sources that make them vulnerable to cross infection in homes; Therefore, their disinfection must be integrated into this context. The objective of this study was to compare the *in vitro* efficacy of domestic techniques for disinfection of toothbrushes contaminated with *Enterococcus faecalis*. We performed an *in vitro* study of 76 toothbrushes contaminated with *E. faecalis (Ef)* ATCC® 29212™ subjected to different disinfection protocols: G0. distilled water (negative control) (n=8), G1. dimethylsulfoxide 10% (negative control) (n=8), G2. chlorhexidine 0.12% (positive control) (n=15), G3. 100% white vinegar (n=15), G4. microwave at 700 W (n=15) and G5. 200 mg/ml of certified alcoholic extract (n=15). Bacterial count was assessed by colony-forming units (CFU/ml) categorized as contamination: low (<30), medium (30-300) and high (>300). The Kruskal-Wallis test with post-hoc pairs was used at a significance level of P<0.05. Efficacy against Ef showed highly significant differences between groups (p=0.000*)* with lower median CFU/ml in G1 and G3 (Me=0 [IQR=0]: low) and G4 (Me=6000 [IQR=45000]: low) versus negative controls (Me=378500 and 5020000 [IQR= 4605000 and 6760000]: medium and high; respectively) (P<0.019). The efficacy of microwave treatment was lower than that of chlorhexidine and vinegar (p≤0.19) but similar to garlic [Me=1510000 [IQR=590000]: medium) (p=0.822), while garlic was not superior to negative controls (p≥0.05). Disinfection of toothbrushes with chlorhexidine, vinegar and microwaves produces a significant effective reduction in the count of *Ef*.

***Keywords*:** Vinegar, microwave, *Allium sativum*, disinfection, toothbrush

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

I. INTRODUCCIÓN

La salud oral es fundamental para el bienestar general,[1] puesto que en una dentición sana permite el funcionamiento básico como masticar, sonreír, hablar y socializar.[2] Se sabe que los taxones bacterianos colonizadores orales están asociados al proceso de salud y enfermedad.[3] Por ello, es esencial la higiene bucal, que se logra aplicando medidas de control y limpieza con métodos mecánicos y químicos.[4,5] De los diferentes aditamentos, el cepillo dental (CD) es el elemento tradicional por excelencia que tiene mayor accesibilidad para su utilización.[6–8]

La literatura señala que, tras el uso de los CDs, se incorporan diferentes microorganismos y otros contaminantes como fluidos biológicos, desechos orales y residuos de pasta dental.[9,10] Estos microorganismos pueden derivarse del ambiente oral o externo e incluyen *Streptococcus, Staphylococcus, Pseudomonas, Porphyromonas, Parvimonas, Lactobacillus, Klebsiella, Fusobacterium, Escherichia y Enterococcus*[11], además, estos son capaces de alojarse en las superficies de las cerdas formándose un hábitat de supervivencia bacteriana, sobre todo, en áreas retentivas.[12]

El riesgo de contaminación del CD aumentaría ante un uso prolongado y/o repetitivo y un incorrecto almacenamiento.[13,14] Agregando a lo anterior, las personas con enfermedades bucodentales graves o sistémicas son más sensibles a la formación de un reservorio de agentes patógenos.[8,9,15,16] Ello debido a que si la encía es lesionada durante el cepillado, podría favorecer el ingreso de microorganismos al torrente sanguíneo e incluso reinfección por virus, siendo considerado en este contexto como vector de transmisión para la inoculación de patógenos desde tejidos infectados hacia

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

los tejidos bucales sanos. Incluso se ha visto en CDs que los microrganismos lo contaminan inmediatamente después de su uso y suelen perdurar por más de cuatro días.[17]

Enterococcus faecalis (Ef) es una bacteria gran positiva que se encuentra comúnmente en el tracto gastrointestinal humano, ha sido asociado a infecciones cardiacas/gastrointestinales, puede soportar un pH alto y prosperar en presencia de hidróxido de calcio, hipoclorito de sodio y presentar cierta resistencia antibiótica[18], además es uno de los microorganismos encontrados en los cepillos dentales y ambientes como los baños[19] siendo relevante controlarlo en CD con desinfección y recambio[9,12]

Debido a que, el mantenimiento de la higiene de los CDs tiene un papel indispensable dentro de la práctica diaria de higiene bucal en el hogar,[20] se requieren técnicas accesibles que evidencien acción contra patógenos. Por ello, el propósito del estudio fue determinar la eficacia *in vitro* de técnicas domésticas que incluyen clorhexidina, vinagre blanco, microondas y extracto alcohólico de ajo para la desinfección de cepillos dentales contaminados con *Enterococcus faecalis* (*Ef)*. La hipótesis nula fue que las técnicas domésticas no son eficaces para la desinfección de cepillos contaminados con *Ef*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de estudio

Este estudio experimental *in vitro* fue conducido en la Carrera de Estomatología y en los laboratorios de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Científica del Sur aprobado

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

con registro Nº 0028-DACE-DAFCS-U. CIENTÍFICA-2023 y desarrollado según la guía CRIS (Checklist for Reporting *In-vitro* Studies)[21] **(Apéndice S1)**.

Grupos experimentales

La unidad de análisis fue el CD y la unidad de observación fue la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™. La muestra estuvo conformada por 76 CDs de dimensiones estandarizadas contaminados con *Ef*. Los criterios de inclusión fueron CDs nuevos del mismo modelo y marca comercial (Colgate Palmolive Corp.® twister, Perú). La muestra fue asignada al azar en seis grupos: dos controles negativos de 8 muestras cada uno (agua destilada [DW], dimetilsulfóxido [DMSO] al 10%), un control positivo de 15 muestras (clorhexidina [CHX] al 0,12%), y tres grupos de técnicas de desinfección de 15 muestras c/u (vinagre blanco al 100% [WV], microondas [MW] a 700 W, extracto alcohólico de ajo [AJO] 200mg/mL). El tamaño muestral se calculó con el software Epidat v.4.2. basado en los resultados del piloto mediante la fórmula de comparación de medias de unidades formadoras de colonias por milímetro (UFC/mL) donde la diferencia fue de 2251,8 (desviación: AJO=2828,43 y MW=577,35); nivel de confianza de 95%; y una potencia de 80%, dando 15 por grupo.

Extracto alcohólico de Allium sativum «ajo»

Dos kilogramos de ajo fueron adquiridos, de la variedad «morado arequipeño» (Arequipa 2200 ms.n.m.) e identificado como la especie *Allium sativum L*. en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (N°100-USM-MHN-2022). La selección y clasificación del ajo se llevó a cabo teniendo en cuenta el tamaño de los bulbos medianos (5 cm), frescos (no refrigerados), bien conservados

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

(no descompuestos). Las cabezas de ajo fueron lavadas con agua destilada, escurridas, trozadas en láminas y refrigeradas a -20 °C × 10 min y seguidamente congeladas a -80 °C × 24 h. Luego, las láminas de ajo fueron liofilizadas para la obtención de compuestos bioactivos a -105 °C × 0,010 mbar × 24 h. Una molienda posterior con mortero y pilón ayudó en la obtención de partículas finas que fueron sumergidas en alcohol de caña y agua destilada en proporción de 5 g ajo: 72 mL alcohol: 8 mL DW, y luego sonicados a 40 °C × 12000 rpm × 20 min. El filtrado se realizó con un sistema al vacío con papel Whatman N°2 para luego eliminar el solvente mediante un rotavapor a 40 °C × 18 rpm × -1,0 bar. El concentrado obtenido se llevó a una estufa a 40 °C y el residuo sólido se almacenó a -20 °C.[22,23] Finalmente, la resina de ajo fue diluida en DMSO al 10% a una concentración de 200 mg/mL para luego ser esterilizada a través de un filtro de 0,22 µm[24] **(Figura 1)**. El proceso se realizó en el Área de Bioquímica con el ingeniero químico coautor del estudio (O.R.).

Concentración inhibitoria y bactericida

Una prueba de microdilución cuantitativa de la muestra fue realizada para determinar la menor concentración capaz de inhibir el crecimiento de la bacteria *Ef* en microplacas de 96 pocillos estériles. Previamente, la concentración de bacterias fue determinada a través de la escala de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) y ajustada a una concentración de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL. El inóculo adicionado al medio de cultivo que fue el caldo infusión cerebro corazón (BHI) que fue sometido a diferentes concentraciones del *extracto* alcohólico de ajo e incubado a 37 °C × 24 h para la determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC).[25] Luego, una cantidad de 100 µL de resazurina fue añadida al inóculo para definir el crecimiento bacteriano mediante la observación de pigmentación en

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

tonos azules (negativo) y una pigmentación en tonos rojizos (positivo). Posteriormente, el método por diseminación para UFC fue realizado sembrando diluciones de los resultados negativos en los pocillos para hallar la concentración mínima bactericida (CMB) en el Área de Microbiología con ayuda del biólogo coautor del estudio (R.O.M.).

Contaminación y desinfección de cepillos dentales

Los cabezales de los CDs fueron sumergidos en la suspensión bacteriana de *Ef* a una concentración de 1,5 × 10^8 UFC/mL en caldo BHI por 5 min.[26–28] A continuación, los cabezales fueron inmersos al azar de forma individual por un tiempo de 2 h en recipientes plásticos estériles que contenían 3 mL de los líquidos de desinfección que según los grupos fueron rotulados en CHX al 0,12%, WV al 100%, AJO (200 mg/mL), DMSO al 10% y DW. Otro grupo de CDs fueron introducidos en un beaker estéril para la desinfección individual del grupo MW a 700 w × 3 min **(Tabla 1)**.[26]

Sembrado e incubación

Los cabezales de los CDs previamente desinfectados fueron introducidos en solución salina fisiológica estéril por 10 s y, luego, se agitaron para el desprendimiento de los microorganismos. De esta nueva suspensión, se trabajó con diluciones en los grupos de MW (1:100); DMSO, DW (1:1000) y (1:10000) y AJO (1:1000), y sin diluciones en los grupos CHX y WV. Posteriormente, una suspensión de 100 µL fue extraída y sembrada con método de diseminación en placas de agar bilis esculina. Esta se llevó a incubación a 37 °C × 24 h[29] en condiciones de anaerobiosis dentro de una jarra de Gaspak con sobres de anaerobiosis) para diferenciar *Enterococcus faecalis.* Finalmente, las *Ef* se midieron en UFC/mL y se categorizaron según contaminación baja (<30 UFC/ml), media (30-300

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

UFC/mL) y alta (>300 UFC/ml)[19] **(Figura 2)**. El diagrama de flujo del procedimiento del estudio se presenta en la **Figura 3**.

Análisis de datos

La estadística descriptiva utilizada fue la media, desviación estándar, mediana, rango intercuartil (IQR), cuartil 1 y 3. La variable UFC/mL fue evaluada en la distribución normal con la prueba de Shapiro-Wilk. Al no corroborarse la normalidad, se aplicó estadística no paramétrica que incluyó la prueba de Kruskal-Wallis con análisis post-hoc por parejas. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS versión 26 (SPSS inc., Armonk, NY, Estados unidos) a un nivel de significancia de $p<0,05$.

III. RESULTADOS

El efecto sobre *Enterococcus faecalis* mostró diferencias altamente significativas entre los grupos de técnicas de desinfección ($p=0,000$) **(Tabla 2),** con recuentos bacterianos (UFC/mL) inferiores en los grupos de CHX y WV (Me=0; RQI=0), y MW (Me=6000; RQI=45000) frente a ambos grupos controles negativos (Me=378500 a 5020000) ($p<0,019$) **(Tabla 2).** El efecto antibacteriano de MW fue inferior a CHX y WV ($p\leq0,19$), pero similar al extracto alcohólico de ajo [Me=1510000; RQI=590000] ($p=0,822$). Los recuentos del grupo de ajo no resultaron estadísticamente superiores que los controles ($p\geq0,05$) **(Tabla 3)**. El nivel de contaminación de *Enterococcus faecalis* fue baja en todas las placas de grupos de CHX y WV (n=15; 100%) y en la mayoría de las placas de MW (n=11; 73,3%), mientras que resultó medio en el total de placas de ajo (n=15; 100%). El nivel de contaminación de las placas de los grupos DMSO y DW se mantuvieron en nivel

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

medio (75% y 62,5%; respectivamente) y alto (25% y 37,5%; respectivamente) **(Figura 4)**.

IV. DISCUSIÓN

El CD es un instrumento de higiene oral cuya utilidad se ha dirigido a la remoción de biofilm, previniendo caries dental y enfermedad periodontal. Sin embargo, su desinfección tiene poca atención en el hogar,[8] sobre todo, considerando que se contamina de forma cruzada por microorganismos del baño, los mismos que transmiten enfermedades.[1,11,24,29]

La limpieza del CD se ha analizado de forma *in vitro, ex vivo* e *in vivo*[26] con agentes químicos y desinfectantes como luz UV y soluciones.[31] Aunque hay variedad, existen barreras culturales y económicas singulares a cada persona, siendo necesario buscar métodos sencillos y accesibles.[24] Este estudio evaluó cuatro métodos de desinfección doméstica con posibilidad de hallarse en los hogares peruanos, un agente químico tipo enjuagatorio (CHX), un agente natural culinario (VINAGRE BLANCO), un agente de radiación (MICROONDAS) y un agente natural convertida a extracto (AJO). La hipótesis fue demostrada encontrando que las técnicas domésticas CHX, WV y MW fueron eficaces para la desinfección de los CDs contaminados con *Ef*.

Este estudio simuló una situación de la utilización de los CDs. Los grupos controles de DW y DMSO no descontaminaron los TBs del *Ef*. El DMSO es considerado un solvente orgánico que se utilizó en la preparación del extracto de AJO, se demostró que no influenció en los resultados del grupo AJO. En cuanto al DW, se buscó mejorar la

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

condición a un lavado habitual del TB con agua de grifo, demostrando que no es suficiente y, por tanto, se requiere de métodos más eficaces.[26,32]

La CHX es un agente catiónico de amplio espectro considerado *gold* estándar del control del biofilm por generar lisis de la pared celular.[33] Pese a esto, una revisión previa no halló significante la reducción microbiana de los TBs con CHX independientemente de la concentración realizados por 12 estudios con diferentes diseños.[31] Esto contradice lo hallado en este estudio donde CHX a 0,12% por 2 h eliminó las bacterias de *Ef* en los TBs. La eficacia en otros microorganismos también fue corroborada con CHX al 0,12% en aerosol[23,33] y CHX al 0,2% por 10 min[13], 1 h[32] y 12 h[33]. Actualmente, CHX es cada vez más aceptado como enjuague oral en Perú considerando su comercio masificado a farmacias y supermercados, por lo que puede ser prometedor su extensión al mantenimiento del TB que equilibre el costo/beneficio del recambio cuando aún es funcional.

El WV contiene ácido acético que se difunde a través de la pared celular bacteriana hasta desintegrarla.[29] Esta propiedad desinfectante en TB sumergida en WV de cocina por 2 h eliminó los *Ef* en este estudio con resultados iguales a CHX.[15,18,27] Otros estudios también hallaron que WV generó una reducción significativa de entre 30% a 53% a concentraciones de 70% y 100%[15] o fue comparativamente mejor frente al grupo control (agua de grifo o cloruro de sodio) a concentraciones de 38% por 12 h[27] y 50%[18] y 100%[24] por 10 min para el control de *Ef*[24] o de bacterias orales cultivadas[15,18,27]. Este método se consideraría rentable, de fácil acceso y apropiado para uso doméstico,[18,30] no obstante, se requiere analizar los efectos del sabor residual en el TB.[32]

El MW es un electrodoméstico comúnmente encontrado en los hogares cuyo mecanismo térmico desnaturaliza las proteínas intracelulares provocando lisis celular

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

bacteriana. Este estudio demostró que MW a 3 min por 700 w también tuvo un efecto desinfectante estadísticamente similar que CHX y WV.[15] Otros estudios también reportaron su eficacia en tiempos de 1 min x 1400 w [28], 3 min por 650 w [24] y 5 min[15] para la reducción significativa a más de la mitad de las bacterias orales cultivadas [15] o en comparación a los grupos con[24] o sin[28] lavado con agua de grifo en la valoración de *Ef*. Aunque MW no erradicó por completo el crecimiento de *Ef*, se inclinó a niveles bajo de contaminación con *Ef*.[28] Además, se corroboró que después de 5 min el TB ya no era apto para su uso.

El ajo es una especie natural compuesta de alicina, que hace reacción química con los grupos tiol afectando el metabolismo esencial de la proteinasa de la cisteína implicada en la patogenicidad de microorganismos orales.[22,33] Este estudio mostró una limitada capacidad antimicrobiana del ajo estadísticamente similar al MW pero también a los grupos controles negativos. Los resultados fueron contradictorios a los obtenidos en estudios previos donde el ajo, al 4,15 mg/mL[32] o en extracto al 3%[22], demostró ser una solución antimicrobiana altamente eficaz con una reducción del 96%[32] y 100%[22] en otro tipo de bacteria como *S. mutans* en TBs[24]. Esta diferencia en los resultados se debió probablemente a la forma de preparación del extracto, ya que en otro estudio previo mostró ser similar al hipoclorito de sodio para la desinfección de conductos dentales.[34]

Las limitaciones del estudio fueron hallar diversos tiempos de desinfección desde 5 min,[19,27]12 h,[29,31,33] y 24 h[33], pero en este estudio se optó por un tiempo de 3 min con MW y 2 h en el resto de grupos. Basado en las pruebas previas de desinfección de CDs con ajo en este estudio, se observó una eficacia antimicrobiana limitada a diferencia de otros estudios, por lo que se recomienda ajustar la elaboración y evaluar el mecanismo

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

de sus componentes activos. El grupo ajo presenta otra limitación asociada al sabor y olor que puede generar, sin embargo, es viable al ser un trabajo in vitro, se recomienda realizar estudios adicionales donde se puedan aislar ciertos componentes de este o añadir algún componente que mitigue el olor/sabor.

V. CONCLUSIONES

Dentro de las limitaciones de estudio *in vitro*, se concluyó que la desinfección de cepillos dentales con clorhexidina, vinagre y microondas generó una reducción eficaz significativa del recuento de *Enterococcus faecalis*. Mientras que el extracto de ajo proporcionó resultados limitados en esta reducción.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

VI. TABLAS Y FIGURAS

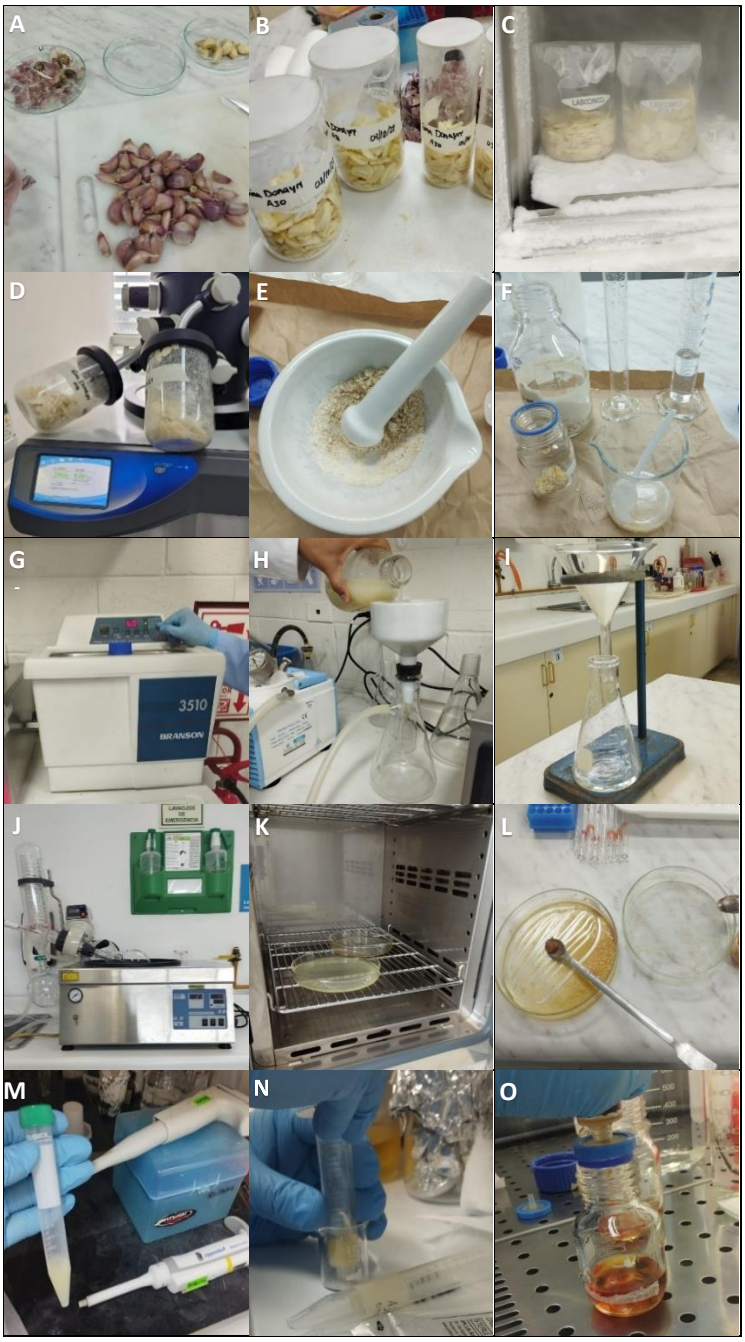


FIGURA 1 Proceso de elaboración del extracto de ajo: (A) Selección y pelado de los dientes de ajo, (B) Trozado en láminas, (C) Congelado a -80°C, (D) Liofilizado x 24 h, (E) Molienda con mortero y pilón, (F) Extracción alcohólica, (G) soonicación x 1 h, (H) Filtrado al vacío (I) Filtrado convencional (J) Eliminación parcial del solvente con rotavapor (K) Eliminación total del solvente con estufa a 40 °C (L) Obtención del residuo sólido (M) Dilución en DMSO al 10% (N) Tercer filtrado (O) Esterilización del extracto con filtro de 0,22 µm.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

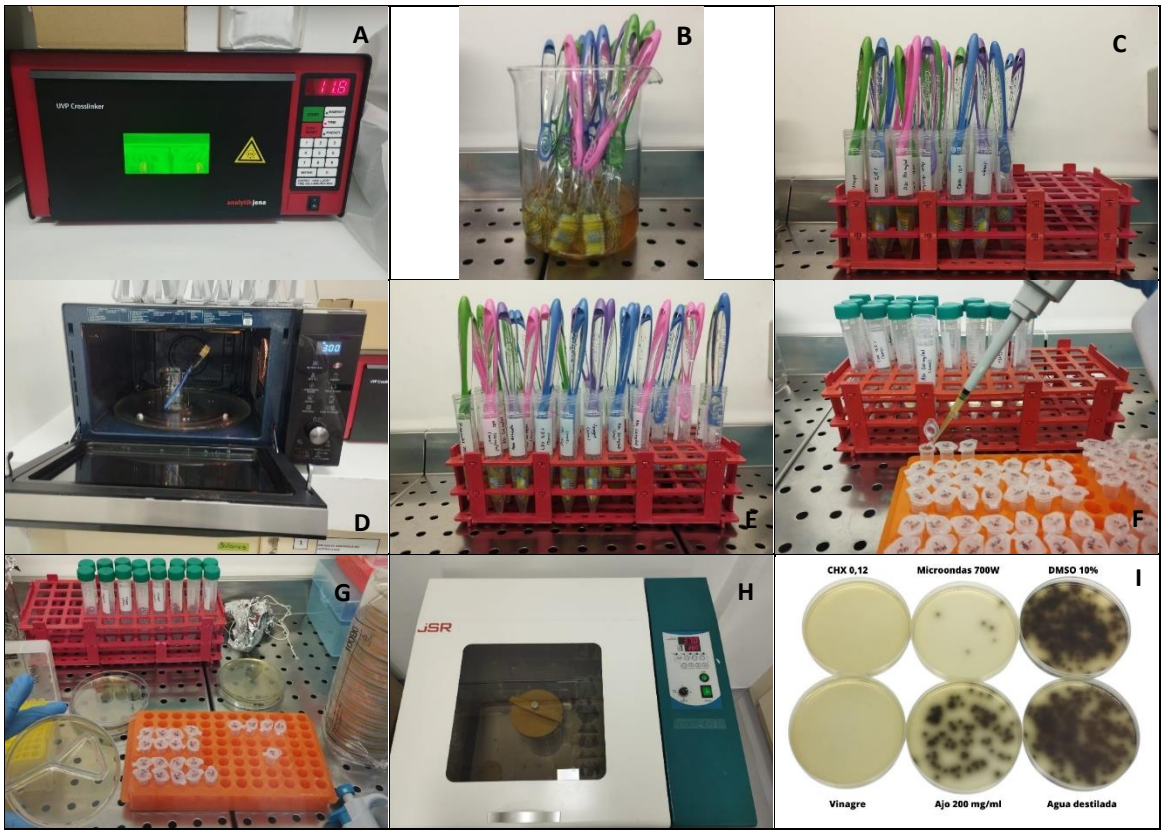


FIGURA 2 Procedimientos del experimento: (A) Esterilización de cepillos con rayos UV, (B) Contaminación de cepillos con *Ef*, (C) Desinfección de cepillos en líquidos, (D) Desinfección de cepillos en microondas, (E) Inmersión en solución salina estéril, (F) Diluciones seriadas, (G) Sembrado en agar bilis esculina, (H) Incubación, (I) Comparativa de placas obtenidas.

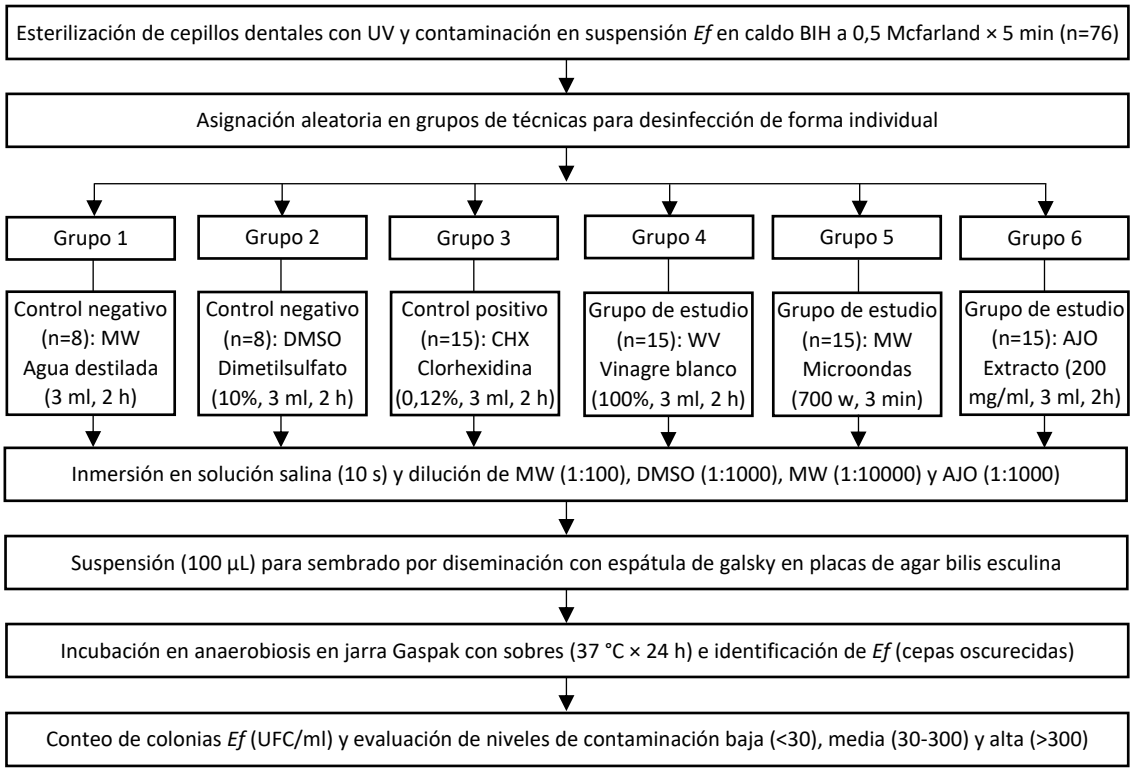


FIGURA 3 Diagrama de flujo del experimento de desinfección de cepillos dentales.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TABLA 1 Distribución de técnicas de desinfección.

Grupo	Técnicas de desinfección	Marca, manufactura, lote	Concentración/ potencia	Tiempo en minutos	n
1	Agua destilada (control negativo)	Droguería Criofarma, 2032043	-	120	8
2	Dimetilsulfóxido (control negativo)	CDH, 201114	10%	120	8
3	Clorhexidina (control positivo)	Dentaid, España, 1005800	0,12%	120	15
4	Vinagre blanco	Florida, 7751158005913	100%/acidez 5%	120	15
5	Microondas	Samsung, China	700 w	3	15
6	Extracto alcohólico de ajo	Arequipa, Perú, *Allium sativum L*	200 mg/ml	120	15
Total					76

TABLA 2 Recuento bacteriano (UFC) del *Enterococcus faecalis* en grupos de desinfección.

Técnicas de desinfección	UFC		*p* valor
	Media ± DS	Mediana [Q1-Q3]	
Agua destilada	5296250,00 ± 3019862,52	3785000 [3095000-7700000]a	0,000***
Dimetilsulfóxido	6345000,00 ± 3746034,09	5020000 [3090000-9850000]a	
Clorhexidina	0 ± 0	0 [0-0]c	
Vinagre blanco	0 ± 0	0 [0-0]c	
Microondas	32000 ± 55532,49	6000 [2000-47000]bc	
Extracto alcohólico de ajo	1531333,33 ± 335577,68	1510000 [1210000-1800000]ab	

UFC: Unidades Formadoras de Colonias. Prueba de Kruskal-Wallis. *p <0,05. ** p <0,01. *** p <0,001.

TABLA 3 Comparación del recuento bacteriano (UFC) del *Ef* en grupos de desinfección.

Técnicas de desinfección	*p* valor				
	DMSO	CHX	WV	MW	AJO
DW	1,000	0,000***	0,000***	0,019*	1,000
DMSO		0,000***	0,000***	0,015*	1,000
CHX			1,000	0,060	0,000***
WV				0,060	0,000***
MW					0,822

Agua destilada [DW], dimetilsulfóxido [DMSO], clorhexidina [CHX], vinagre blanco [WV], microondas [MW], extracto alcohólico de ajo [AJO]. Prueba de Kruskal-Wallis con análisis post-hoc por parejas. *p <0,05. ** p <0,01. *** p <0,001.

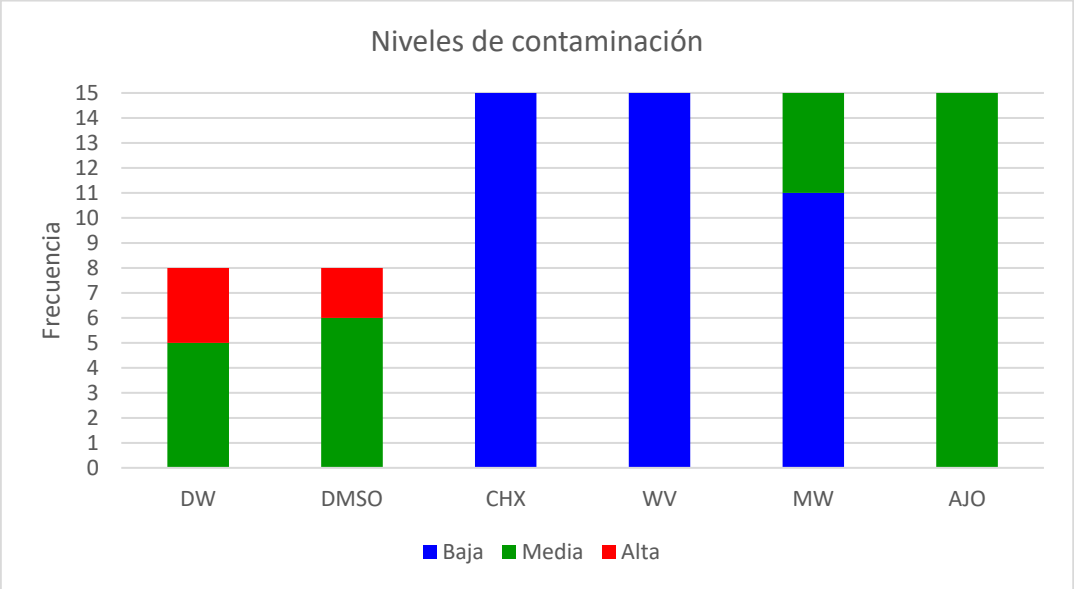


FIGURA 4 Nivel de contaminación de *EF* en grupos de desinfección. Agua destilada [DW], dimetilsulfóxido [DMSO], clorhexidina [CHX], vinagre blanco [WV], microondas [MW], extracto alcohólico de ajo [AJO].

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jathar P, Panse A, Desai A. Comparative evaluation of various disinfectant agents to disinfect toothbrush microbiota. *Int J Pedod Rehabil*. 2018;3(1):12. doi:10.4103/ijpr.ijpr_11_17
2. Solis G, Pesaressi E, Mormontoy W. Cepillado Dental En Menores de Doce Años, Brushing In Children Under Twelve Years Old ,. *Scielo*. 2019;36(4):562-572. doi:10.17843/rpmesp.2019.364.4888.562
3. Rashighi M, Harris JE. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol Behav*. 2017;176(3):139-148. doi:10.1053/j.gastro.2016.08.014.CagY
4. Klonowicz D, Czerwinska M, Sirvent A, Gatignol JP. A new tooth brushing approach supported by an innovative hybrid toothbrush-compared reduction of dental plaque after a single use versus an oscillating-rotating powered toothbrush. *BMC Oral Health*. 2018;18(1):1-9. doi:10.1186/s12903-018-0647-7
5. Sabarish R, Chaparala SR, Yelisetty PP, SK B, Lavu V, Mohan M. An In-vitro Assessment of the Physical and Chemical Properties of Toothbrush Bristle Following Decontamination by Three Different Methods: A Pilot Study. *Cureus*. 2019;11(6). doi:10.7759/cureus.4992
6. Van Leeuwen MPC, Van der Weijden FA, Slot DE, Rosema MAM. Toothbrush wear in relation to toothbrushing effectiveness. *Int J Dent Hyg*. 2019;17(1):77-84. doi:10.1111/idh.12370
7. Gomez-Pereira P, Axe A, Butler A, Qaqish J, Goyal CR. Plaque removal by a novel prototype power toothbrush versus a manual toothbrush: A randomized, exploratory clinical study. *Clin Exp Dent Res*. 2022;8(4):849-857. doi:10.1002/cre2.556
8. Merchán I, Merino-Alado RL, Briceño EN, et al. An in vitro effectiveness evaluation of chemical agents for toothbrushes disinfection. *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr*. 2019;19(1). doi:10.4034/PBOCI.2019.191.08
9. Zinn MK, Schages L, Bockmühl D. The toothbrush microbiome: Impact of user age, period of use and bristle material on the microbial communities of toothbrushes. *Microorganisms*. 2020;8(9):1-18. doi:10.3390/microorganisms8091379
10. Chellappa LR, Prabakar J, Indiran MA, Pradeep Kumar R, Doraikanan S. Knowledge, attitude and practice regarding tooth jewellery among dental students and dental professionals in Chennai-a cross sectional study. *Int J Pharm Res*. 2020;12(4):3316-3327. doi:10.31838/ijpr/2020.12.04.453
11. Blaustein RA, Michelitsch LM, Glawe AJ, et al. Toothbrush microbiomes feature a meeting ground for human oral and environmental microbiota. *Microbiome*. 2021;9(1):1-14. doi:10.1186/s40168-020-00983-x
12. Unahalekhaka A, Butpan P, Wongsaen R, Phunpae P, Preechasuth K. Contamination of antimicrobial-resistant bacteria on toothbrushes used with mechanically ventilated patients: A cross sectional study. *Intensive Crit Care Nurs*. 2022;68(xxxx):103120. doi:10.1016/j.iccn.2021.103120
13. Shin AR, Nam SH. Antimicrobial effects of various methods for the disinfection of contaminated toothbrushes. *Biomed Res*. 2018;29(13):2880-2884. doi:10.4066/biomedicalresearch.29-18-820
14. Balasubramanian AK, Balasubramaniam A. Knowledge, Perception And Practice About Toothbrush Sterilization Among Dental Students And Faculty In Chennai, South India - A Cross Sectional Study _ NVEO - NATURAL VOLATILES & ESSENTIAL OILS Journal. 2021;8(5):6136-6148.
15. Assari AS, Mohammed Mahrous M, Ahmad YA, et al. Efficacy of Different Sterilization Techniques for Toothbrush Decontamination: An Ex Vivo Study. *Cureus*. 2022;14(1):1-13. doi:10.7759/cureus.21117
16. González-Olmo MJ, Delgado-Ramos B, Ruiz-Guillén A, Romero-Maroto M, Carrillo-Díaz M. Oral hygiene habits and possible transmission of COVID-19 among cohabitants. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):1-7. doi:10.1186/s12903-020-01274-5
17. Shree Lakshmi S, Leelavathi L, Indiran MA, Pradeep Kumar R, Muralidharan, Doraikannan S. Survival of microbes on toothbrushes. *Drug Invent Today*. 2020;13(3):15-21.
18. Elashiry MM, Bergeron BE, Tay FR. Enterococcus faecalis in secondary apical periodontitis: Mechanisms of bacterial survival and disease persistence. *Microb Pathog*. 2023;183(July):106337. doi:10.1016/j.micpath.2023.106337
19. Patcas R, Zbinden R, Schätzle M, Schmidlin PR, Zehnder M. Whisky, microwave or hairdryer? Exploring the most efficient way to reduce bacterial colonisation on contaminated toothbrushes.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Br Dent J. 2018;225(11):1007-1010. doi:10.1038/sj.bdj.2018.1030

20. Basman A, Peker I, Akca G, Alkurt MT, Sarikir C, Celik I. Evaluation of toothbrush disinfection via different methods. *Braz Oral Res*. 2016;30(1):11-16. doi:10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0006
21. Krithikadatta J, Gopikrishna V, Datta M. CRIS guidelines (Checklist for Reporting In-vitro Studies): A concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. *J Conserv Dent*. 2014;17(4):301-304. doi:10.4103/0972-0707.136338
22. Sasi M, Kumar S, Kumar M, et al. Garlic (Allium sativum L.) bioactives and its role in alleviating oral pathologies. *Antioxidants*. 2021;10(11). doi:10.3390/antiox10111847
23. Burgos-Pino J, Gual-Orozco B, Vera-Ku M, et al. Acute oral toxicity in BALB/c mice of Tridax procumbens and Allium sativum extracts and (3S)-16,17-didehydrofalcarinol. *J Ethnopharmacol*. 2023;301(October 2022). doi:10.1016/j.jep.2022.115840
24. Chandrdas D, Jayakumar H, Katodia L, Sreedevi A, Chandra M. Evaluation of antimicrobial efficacy of garlic, tea tree oil, cetylpyridinium chloride, chlorhexidine, and ultraviolet sanitizing device in the decontamination of toothbrush. *Indian J Dent*. 2014;5(4):183. doi:10.4103/0975-962x.144718
25. Domingoribas C. Prueba de la diferencia de potencial nasal para el diagn. *Arch Bronconeumol*. 2006;42(1):33-38.
26. Peker I, Akca G, Sarikir C, Toraman Alkurt M, Celik I. Effectiveness of alternative methods for toothbrush disinfection: An in vitro study. *Sci World J*. 2014;2014:1-9. doi:10.1155/2014/726190
27. R. Vignesh1, C. Vishnu Rekha1, Parisa Norouzi Baghkomeh1 SA, Sharmin D. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of an alternative natural agent for disinfection of toothbrushes. *Eur J Dent*. 2017;11(4):192-195. doi:10.4103/ejd.ejd
28. Nelson-filho P. Efficacy of Microwaves and Chlorhexidine on the Disinfection of Pacifiers and Toothbrushes: An In Vitro Study. *Pediatr Dent*. 2010;41(5):10-13. doi:10.1016/0090-4295(93)90520-k
29. Mavani V, Mahabala KY, Suman E, et al. Evaluation of effectiveness of home remedies for toothbrush decontamination using vinegar and vinegar with common salt. *World J Dent*. 2018;9(1):19-23. doi:10.5005/jp-journals-10015-1500
30. Do Nascimento C, Trinca NN, Pita MS, Pedrazzi V. Genomic identification and quantification of microbial species adhering to toothbrush bristles after disinfection: A cross-over study. *Arch Oral Biol*. 2015;60(7):1039-1047. doi:10.1016/j.archoralbio.2015.03.012
31. Agrawal SK, Dahal S, Bhumika T V., Nair NS. Evaluating Sanitization of Toothbrushes Using Various Decontamination Methods: A Meta-Analysis. *J Nepal Health Res Counc*. 2019;16(41):364-371. doi:10.33314/jnhrc.v16i41.1198
32. Pradeep S, Nandini G, Hiranmayi S, Kumar G, Bijjala NK, Guduri S. A Prospective Study on Assessment of Microbial Contamination of Toothbrushes and Methods of Their Decontamination. *Cureus*. 2022;14(10). doi:10.7759/cureus.30155
33. Swathy Anand PJ, Athira S, Chandramohan S, Ranjith K, Raj VV, Manjula VD. Comparison of efficacy of herbal disinfectants with chlorhexidine mouthwash on decontamination of toothbrushes: An experimental trial. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016;6(1):22-27. doi:10.4103/2231-0762.175406
34. Chamele J, Bhat C, Saraf T, et al. Efficacy of microwaves and chlorhexidine for disinfection of pacifiers and toothbrushes: An in vitro study. *J Contemp Dent Pract*. 2012;13(5):690-694. doi:10.5005/jp-journals-10024-1210
35. Karkare SR, Ahire NP, Khedkar SU. Comparative evaluation of antimicrobial activity of hydroalcoholic extract of Aloe vera, garlic, and 5% sodium hypochlorite as root canal irrigants against Enterococcus faecalis: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2015;33(4):274-278. doi:10.4103/0970-4388.165658

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia.

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
Problema general	**Objetivo general**	**H0.** Las técnicas domésticas (vinagre blanco, horno microondas, y extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo») no son eficaces para la desinfección de cepillos de dientes contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™. **H1.** Las técnicas domésticas (vinagre blanco, horno microondas, y extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo») son eficaces para la desinfección de cepillos de dientes contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™.	Tipo y diseño de investigación: El tipo de estudio fue de enfoque cuantitativo, finalidad aplicada y alcance explicativo. El diseño de estudio fue de tipo experimental *in vitro*. Muestra: La muestra estuvo conformada por 76 cepillos dentales de dimensiones estandarizados contaminadas con *Enterococcus faecalis*. Cálculo de tamaño muestral: comparación de medias independientes según resultados del piloto. Muestreo: Asignación al azar. Técnicas: Experimental. Instrumentos: Test experimental de conteo de UFC.
¿Existe diferencias de la eficacia *in vitro* de técnicas domésticas (vinagre blanco, horno microondas, y extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo») para la desinfección de cepillos de dientes contaminados con Enterococcus *faecalis* ATCC® 29212™?	Comparar la eficacia *in vitro* de técnicas domésticas (vinagre blanco, horno microondas, y extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo») para la desinfección de cepillos de dientes contaminados con Enterococcus *faecalis* ATCC® 29212™.		
Problemas específicos	**Objetivos específicos**		
1. ¿Existen diferencias de la eficacia *in vitro* del horno microondas frente al control positivo de clorhexidina al 0,12% y controles negativos de agua destilada y dimetilsulfóxido al 10% para la desinfección de cepillos dentales contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™?	1. Comparar la eficacia *in vitro* del horno microondas frente al control positivo de clorhexidina al 0,12% y controles negativos de agua destilada y dimetilsulfóxido al 10% para la desinfección de cepillos de dientes contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™.		
2. ¿Existen diferencias de la eficacia *in vitro* del vinagre blanco al 100% frente al control positivo de clorhexidina al 0,12% y controles negativos de agua destilada y dimetilsulfóxido al 10% para la desinfección de cepillos dentales contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™?	2. Comparar la eficacia *in vitro* del vinagre blanco al 100% frente al control positivo de clorhexidina al 0,12% y controles negativos de agua destilada y dimetilsulfóxido al 10% para la desinfección de cepillos de dientes contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™.		
3. ¿Existen diferencias de la eficacia *in vitro* del extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo» 200 mg/ml frente al control positivo de clorhexidina al 0,12% y controles negativos de agua destilada y dimetilsulfóxido al 10% para la desinfección de cepillos dentales contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™?	3. Comparar la eficacia *in vitro* del extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo» al 200 mg/ml frente al control positivo de clorhexidina al 0,12% y controles negativos de agua destilada y dimetilsulfóxido al 10% para la desinfección de cepillos de dientes contaminados con *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™.		

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 2. Tabla de operacionalización de variables.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	VALOR	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE VARIABLE
Variable independiente Técnicas domésticas desinfectantes de cepillos dentales	Procedimiento contra bacterias aplicados en objetos inanimados, especialmente, usado en instrumentos dentales.	Técnica de desinfección aplicada en cepillos dentales que son accesibles a los hogares basada en radiación, extractos naturales y/o sustancias químicas.	Técnicas domésticas de desinfección aplicadas en el experimento con cepillos dentales contaminados.	G1 (C-): Agua destilada G2 (C-): Dimetilsulfóxido (10%) G3: (C+) Clorhexidina (0,12%) G4: Vinagre blanco (100%) G5: Microondas (700 w) G6: Extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo» (200 mg/ml)	Cualitativa	Nominal politómica
Variable dependiente Eficacia contra *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™	Capacidad para inhibir el crecimiento o proliferación de bacteria cocoide grampositiva *Enterococcus faecalis.*	Capacidad de técnicas de desinfección aplicadas a cepillos dentales de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por método de difusión en agar para cepas de *Enterococcus faecalis*	Conteo de UFC obtenidos del método de diseminación en agar para *Enterococcus faecalis.*	Valorado en UFC. Categorizado en: (1) Contaminación baja < 30 UFC (2) Contaminación media: 30 - 300 UFC (3) Contaminación alta: > 300 UFC	Cualitativa	Ordinal

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

Anexo 3. Cálculo de tamaño de la muestra.



[1] Tamaños de muestra. Comparación de medias independientes:

Datos:

Varianzas:	Distintas
Diferencia de medias a detectar:	2.251,080
Desviación estándar esperada:	
Población 1:	2.828,430
Población 2:	577,350
Razón entre tamaños muestrales:	1,00
Nivel de confianza:	95,0%

Resultados:

Potencia (%)	Tamaño de la muestra		
	Población 1	Población 2	Total
80,0	15	15	30

Epidat: programa para análisis epidemiológico de datos. Versión 4.2, julio 2016. Consellería de Sanidade, Xunta de Galicia, España; Organización Panamericana de la Salud (OPS-OMS); Universidad CES, Colombia. Disponible en: http://www.sergas.es/Saude-publica/EPIDAT

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 4. Instrumento de recolección de datos.

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Realizado en: Laboratorio de Microbiología Molecular y Genómica Bacteriana
Fecha:
Operadora: Gina Alessandra Donayre Salvatierra

Técnica de desinfección	**Conteo de UFC/ml**														
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
Agua destilada															
Dimetilsulfóxido 10%															
Clorhexidina al 0,12%															
Vinagre blanco al 100%															
Microondas 700 w															
Extracto alcohólico de *Allium sativum* «ajo» 200 mg/ml															

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 5. Certificación del agar.

HIMEDIA®

Certified : ISO 9001:2015, ISO 13485:2016 , WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited
C-40, Road No.21Y, MIDC, Wagle Industrial Area,
Thane(W) - 400604 , Website : www.himedialabs.com,
Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M340	Material Name : Bile Esculin Agar Base	Lot No : 0000536119
Report No.: 40001241787	Date of Release & Report : 2022-05-31	Expiry Date : 2027-04

Appearance
Cream to brownish yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow

Gelling
Firm, comparable with 1.5% Agar gel

Colour and Clarity of prepared medium
Amber coloured, clear to slightly opalescent solution with a bluish tinge forms in Petri plates or in tubes as slants.

Reaction
Reaction of 6.35% w/v aqueous solution at 25°C.

pH
pH Range :6.40-6.80 Observed : 6.77

Cultural Response
Cultural characteristics observed with added Esculin (FD050) in an incre ased atmosphere of Carbon dioxide, after an incubation at 35-37°C for 18-24 hours .

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Recovery	Esculin Hydrolysis
Cultural Response				
Enterococcus faecalis ATCC 29212 (WDCM 00087)	50-100	luxuriant	>=50%	positive reaction, blackening of medium around the colony
Proteus mirabilis ATCC 25933	50-100	luxuriant	>=50%	negative reaction
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	50-100	none-poor	<=10%	negative reaction

. ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection
. NCTC and National Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency

Control Media :
. For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
. For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

. All ISO 11133 : 2014/Amd.1:2018(E) control strains are included in the Quality parameter
. HiMedia Laboratories Pvt Ltd is Certified for ISO 9001:2015, ISO 13485:2016 , WHO GMP

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH <= 7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 6. Certificación del ajo.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

desde 1918 Museo de Historia Natural UNMSM

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

CONSTANCIA N° 100-USM-MHN-2022

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (bulbo) recibida de **Gina Alessandra Donayre Salvatierra,** estudiante de la carrera de Estomatología en la Universidad Científica del Sur, ha sido estudiada y clasificada como: *Allium sativum* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Asparagales

FAMILIA : AMANYLLIDACEAE

GÉNERO : *Allium*

ESPECIE : *Allium sativum* L.

Nombre vulgar: "Ajo"

Procedencia: Arequipa

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 16 de noviembre de 2022

MUSEO DE HISTORIA NATURAL - U.S.M.

Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-034, Lima 14, Perú
Telfs. (511)471-0117, 470-4471
265-6819, 619-7000 anexo 5703
e-mail: herbariousm@unmsm.edu.pe
https://museo hn.unmsm.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

Anexo 7. Data de la muestra piloto.

GRUPO	CANTIDAD		# COLONIAS
CLORHEXIDINA 0,12%	3	MUESTRA 1	3
		MUESTRA 2	6
		MUESTRA 3	2
AGUA DESTILADA	2	MUESTRA 1	43
		MUESTRA 2	INCONTABLE
VINAGRE BLANCO 100%	2	MUESTRA 1	3
		MUESTRA 2	2
MICROONDAS 700 W	2	MUESTRA 1	1
		MUESTRA 2	5
DMSO 10%	4	MUESTRA 1	INCONTABLE
		MUESTRA 2	5
		MUESTRA 3	3
		MUESTRA 4	1
AJO 150 MG/ML	3	MUESTRA 1	0
		MUESTRA 2	3
		MUESTRA 3	25
AJO 200 MG/ML	3	MUESTRA 1	1
		MUESTRA 2	0
		MUESTRA 3	0

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

Anexo 8. Data de la muestra de estudio.

GRUPO	CANTIDAD		DILUCIÓN	# COLONIAS	UFC/ml	NIVEL
CLORHEXIDINA 0,12%	15	MUESTRA 1	0	0	0	1
		MUESTRA 2		0	0	1
		MUESTRA 3		0	0	1
		MUESTRA 4		0	0	1
		MUESTRA 5		0	0	1
		MUESTRA 6		0	0	1
		MUESTRA 7		0	0	1
		MUESTRA 8		0	0	1
		MUESTRA 9		0	0	1
		MUESTRA 10		0	0	1
		MUESTRA 11		0	0	1
		MUESTRA 12		0	0	1
		MUESTRA 13		0	0	1
		MUESTRA 14		0	0	1
		MUESTRA 15		0	0	1
AGUA DESTILADA	8	MUESTRA 1	3	418	4180000	3
		MUESTRA 2		321	3210000	3
		MUESTRA 3		298	2980000	2
		MUESTRA 4		251	2510000	2
		MUESTRA 5		339	3390000	3
		MUESTRA 6	4	107	10700000	2
		MUESTRA 7		83	8300000	2
		MUESTRA 8		71	7100000	2
DMSO 10%	8	MUESTRA 1	3	300	3000000	2
		MUESTRA 2		294	2940000	2
		MUESTRA 3		334	3340000	3
		MUESTRA 4		318	3180000	3
		MUESTRA 5	4	105	10500000	2
		MUESTRA 6		119	11900000	2
		MUESTRA 7		92	9200000	2
		MUESTRA 8		67	6700000	2
VINAGRE BLANCO 100%	15	MUESTRA 1	0	0	0	1
		MUESTRA 2		0	0	1
		MUESTRA 3		0	0	1
		MUESTRA 4		0	0	1
		MUESTRA 5		0	0	1
		MUESTRA 6		0	0	1
		MUESTRA 7		0	0	1
		MUESTRA 8		0	0	1
		MUESTRA 9		0	0	1
		MUESTRA 10		0	0	1
		MUESTRA 11		0	0	1
		MUESTRA 12		0	0	1
		MUESTRA 13		0	0	1
		MUESTRA 14		0	0	1
		MUESTRA 15		0	0	1
EXTRACTO ALCOHÓLICO DE AJO 200 MG/ML	15	MUESTRA 1	3	180	1800000	2
		MUESTRA 2		156	1560000	2
		MUESTRA 3		100	1000000	2
		MUESTRA 4		225	2250000	2
		MUESTRA 5		120	1200000	2
		MUESTRA 6		174	1740000	2
		MUESTRA 7		194	1940000	2
		MUESTRA 8		151	1510000	2
		MUESTRA 9		121	1210000	2
		MUESTRA 10		145	1450000	2
		MUESTRA 11		137	1370000	2
		MUESTRA 12		134	1340000	2
		MUESTRA 13		182	1820000	2
		MUESTRA 14		160	1600000	2
		MUESTRA 15		118	1180000	2
Microondas 700 W	15	MUESTRA 1	2	96	96000	2
		MUESTRA 2		6	6000	1
		MUESTRA 3		2	2000	1
		MUESTRA 4		18	18000	1
		MUESTRA 5		1	1000	1
		MUESTRA 6		6	6000	1
		MUESTRA 7		6	6000	1
		MUESTRA 8		2	2000	1
		MUESTRA 9		2	2000	1
		MUESTRA 10		1	1000	1
		MUESTRA 11		2	2000	1
		MUESTRA 12		1	1000	1
		MUESTRA 13		47	47000	2
		MUESTRA 14		97	97000	2
		MUESTRA 15		193	193000	2

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 9. Pruebas estadísticas.

Pruebas de normalidad[b,c]

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Grupos de estudio	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
UFC/mL	Agua destilada	,269	8	,091	,849	8	,094
	DMSO 10%	,289	8	,048	,831	8	,062
	Microondas 700 W	,347	15	,000	,634	15	,000
	Extracto de ajo 200 mg/mL	,098	15	,200*	,975	15	,921

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. UFC/mL es constante cuando Grupos de estudio = Clorhexidina. Se ha omitido.

c. UFC/mL es constante cuando Grupos de estudio = Vinagre blanco. Se ha omitido.

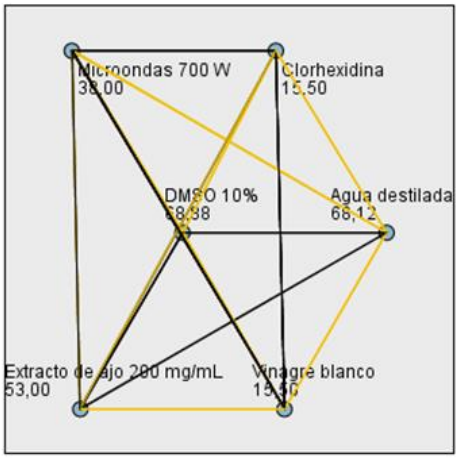
		UFC/mL				
		Media	Desviación estándar	Mediana	Percentil 25	Percentil 75
Grupos de estudio	Agua destilada	5296250,00	3019862,52	3785000,00	3095000,00	7700000,00
	DMSO 10%	6345000,00	3746034,09	5020000,00	3090000,00	9850000,00
	Clorhexidina	,00	,00	,00	,00	,00
	Vinagre blanco	,00	,00	,00	,00	,00
	Microondas 700 W	32000,00	55532,49	6000,00	2000,00	47000,00
	Extracto de ajo 200 mg/mL	1531333,33	335577,68	1510000,00	1210000,00	1800000,00

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de UFC/mL es la misma entre las categorías de Grupos de estudio.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Comparaciones por parejas de Grupos de estudio



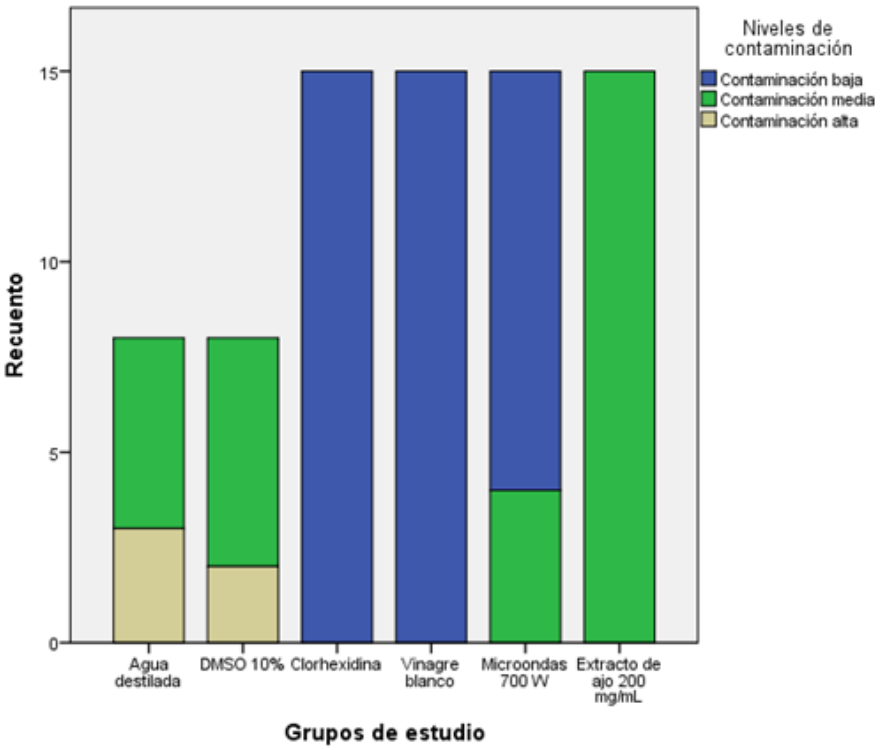
Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Cada nodo muestra el rango promedio de muestra de Grupos de estudio.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de prueba	Estándar Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajust.
Clorhexidina-Vinagre blanco	,000	7,811	,000	1,000	1,000
Clorhexidina-Microondas 700 W	-22,500	7,811	-2,881	,004	,060
Clorhexidina-Extracto de ajo 200 mg/mL	-37,500	7,811	-4,801	,000	,000
Clorhexidina-Agua destilada	52,625	9,365	5,619	,000	,000
Clorhexidina-DMSO 10%	53,375	9,365	5,699	,000	,000
Vinagre blanco-Microondas 700 W	-22,500	7,811	-2,881	,004	,060
Vinagre blanco-Extracto de ajo 200 mg/mL	-37,500	7,811	-4,801	,000	,000
Vinagre blanco-Agua destilada	52,625	9,365	5,619	,000	,000
Vinagre blanco-DMSO 10%	53,375	9,365	5,699	,000	,000
Microondas 700 W-Extracto de ajo 200 mg/mL	-15,000	7,811	-1,920	,055	,822
Microondas 700 W-Agua destilada	30,125	9,365	3,217	,001	,019
Microondas 700 W-DMSO 10%	30,875	9,365	3,297	,001	,015
Extracto de ajo 200 mg/mL-Agua destilada	15,125	9,365	1,615	,106	1,000
Extracto de ajo 200 mg/mL-DMSO 10%	15,875	9,365	1,695	,090	1,000
Agua destilada-DMSO 10%	-,750	10,696	-,070	,944	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula hipótesis nula de que las distribuciones de la muestra 1 y la muestra 2 son iguales.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significancia es ,05.



Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 10. Apéndice S1 Guía CRIS para estudios *in vitro*.

CRIS Guidelines (Checklist for Reporting *In-vitro* Studies)*

Section/Topic	Item Nº	Checklist item	Reported on page No
Title and abstract			
	1a	Identification as an in vitro/laboratory study in the title	1
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions	1
Introduction	2a	Scientific background and explanation of rationale	2
Background and objectives	2b	Specific objectives or hypotheses	2
Methods			
Interventions	3	The intervention for each group, including how and when they were actually administered, with sufficient detail to allow replication	3-4
Outcomes	4	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	3-6 Figure 1 Figure 2
Sample size	5	How sample size was determined	3
Randomisation: Sequence generation	6	Method used to generate the random allocation sequence	3
Allocation concealment mechanism	7	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	Figure 3
Implementation	8	Who generated the random allocation sequence, who enrolled teeth, and who assigned teeth to intervention	NA
Blinding	9	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, care providers, those assessing outcomes) and how outcome)	NA
Statistical methods	10	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	7
Results			
Numbers analysed	11a	For each group, number of 'items' (drugs) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	7-8 Table 2 Table 3 Figure 4
Outcomes and estimation	11b	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	7-8
Discussion			
Limitations	12a	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	10
Generalisability	12b	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	9
Interpretation	12c	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	9-10
Other information			
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	NA
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	11

*Krithikadatta J, Gopikrishna V, Datta M. CRIS Guidelines (Checklist for Reporting In-vitro Studies): A concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. J Conserv Dent. 2014;17(4):301–304.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 11. Resolución Directoral de aprobación de la Carrera.

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

RESOLUCIÓN DIRECTORAL DE ACEPTACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS Y NOMBRAMIENTO DEL ASESOR

RESOLUCIÓN DIRECTORAL DE LA CARRERA DE ESTOMATOLOGÍA Nº 081-DACE-DAFCS-U. CIENTÍFICA-2022

Lima, 12 de agosto del 2022.

VISTO:
La solicitud de el/la tesista, asesor/a y la evaluación del Responsable de Investigación de la Carrera de Estomatología y de acuerdo a la RESOLUCIÓN DIRECTORAL No. 012-DGIDI-CIENTIFICA-2021 sobre Normas de precisiones de exoneración del Comité de Ética. Se aprueba el registro N° **PRE-8-2022-00114** del proyecto de Tesis Titulado: **"EFECTIVIDAD *IN VITRO* DE TÉCNICAS DOMÉSTICAS PARA LA DESINFECCIÓN DE CEPILLOS DENTALES CONTAMINADOS CON *ENTEROCOCCUS FAECALIS*"** presentado por **GINA ALESSANDRA DONAYRE SALVATIERRA.**

CONSIDERANDO:
Que, de acuerdo con el Reglamento General de la Universidad Científica del Sur y los reglamentos de pre/posgrado para obtener el Título de **CIRUJANO DENTISTA** en la Carrera de Estomatología de la Universidad Científica del Sur, se debe desarrollar un trabajo de investigación.

Que, de acuerdo con la normativa vigente de la Universidad Científica del Sur, en uso de las atribuciones conferidas al Director Académico de Carrera.

SE RESUELVE:

ART. 1°: APROBAR E INSCRIBIR el Proyecto de Tesis titulado: **"EFECTIVIDAD *IN VITRO* DE TÉCNICAS DOMÉSTICAS PARA LA DESINFECCIÓN DE CEPILLOS DENTALES CONTAMINADOS CON *ENTEROCOCCUS FAECALIS*"** de **GINA ALESSANDRA DONAYRE SALVATIERRA** con registro: **Nº PRE-8-2022-00114** y establecer la vigencia de aprobación de este documento de dieciocho (18) meses (hasta el 12 de febrero del 2024), periodo en el que puede desarrollarse el proyecto de investigación.

ART. 2°: NOMBRAR Asesor/a del trabajo de tesis señalado, a al/la **Dra. Julissa Amparo Dulanto Vargas.**

Regístrese, comuníquese y archívese.

CARRERA DE ESTOMATOLOGÍA · DIRECCIÓN ACADÉMICA · UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

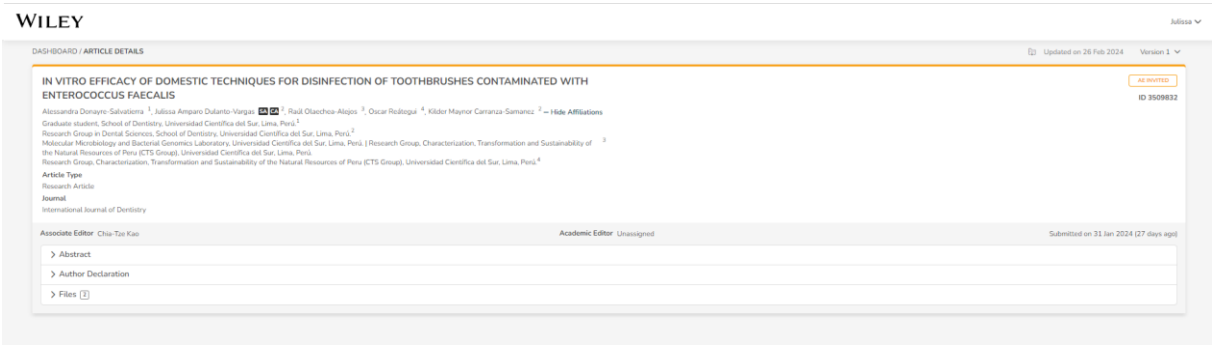
Dr. Claudio Peña Soto
Director Académico de la Carrera de Estomatología

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 12. Evidencia de envío a revista.

International Journal of Dentistry



Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis