



Facultad Ciencias de la Salud

Tema:

Detección de contaminación en cepillos dentales por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, y su relación con el almacenamiento, estudio *in vitro*.

Trabajo de titulación para la obtención del título de odontólogo general

Presentada por:

Karen Alejandra Tasigchana Tasigchana

Tutor:

Dra. Maria Cristina Rockenbach Binz

Cotutor:

Ing. Estefany Jarrín

Quito, junio de 2024

Resumen

Introducción: El cepillo dental es indispensable para la higiene bucal, este permite la remoción mecánica de placa bacteriana, no obstante, no existe un consenso sobre el tiempo de empleo y lugar de almacenamiento de este. En general, se guarda en un recipiente común en el baño, logrando contaminarse del entorno donde se almacena. Esta contaminación puede ser por aerosoles dispersados al momento que se descarga el inodoro. Por tanto, el objetivo de este estudio es determinar la relación del almacenamiento de los cepillos dentales y su contaminación por *E. faecalis* y *E. faecium* a través de pruebas bioquímicas. **Materiales y métodos:** Se recolectaron 150 cepillos dentales de estudiantes de la Universidad Hemisferios. Cada muestra fue sembrada en un caldo de cultivo para *Enterococcus*, de las muestras que mostraron viraje de color, se procedió a aplicar pruebas bioquímicas para identificación de género tales como: prueba catalasa, siembra en agar salado, agar sangre, bilis esculina, tinción gram, y para la identificación de especie: tolerancia al telurito y acidificación arabinosa. **Resultados:** Se encontró que, de 150 muestras de cepillos dentales, 61 muestras presentaron contaminación para *Enterococcus*, de las cuales el 86,9% (53/61) está contaminado por *E. faecalis*, el 1,6% (1/61) por *E. faecium*, y el 11,5% (7/61) por otros *Enterococcus*. **Conclusión:** Se concluye que existe contaminación de *E. faecalis* y *E. faecium* en cepillos dentales guardados en el baño, una vez aplicadas las pruebas bioquímicas, por lo tanto, la manera que en que es almacenado el cepillo dental influye en esta contaminación.

Palabras clave: Contaminación fecal, cepillo dental, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, aerosoles, baño.

Declaración de aceptación de norma ética y derechos

El presente documento se ciñe a las normas éticas y reglamentarias de la Universidad Hemisferios. Así, declaro que lo contenido en este ha sido redactado con entera sujeción al respeto de los derechos de autor, citando adecuadamente las fuentes. Por tal motivo, autorizo a la Biblioteca a que haga pública su disponibilidad para lectura dentro de la institución, a la vez que autorizo el uso comercial de mi obra a la Universidad Hemisferios, siempre y cuando se me reconozca el cuarenta por ciento (40%) de los beneficios económicos resultantes de esta explotación.

Además, me comprometo a hacer constar, por todos los medios de publicación, difusión y distribución, que mi obra fue producida en el ámbito académico de la Universidad Hemisferios.

De comprobarse que no cumplí con las estipulaciones éticas, incurriendo en caso de plagio, me someto a las determinaciones que la propia Universidad plantee.

Nombre: Karen Alejandra Tasigchana Tasigchana

Cédula: 172265653-3

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mis padres Félix e Inés Tasigchana, quienes han sido un pilar y motor fundamental en esta etapa universitaria de altos y bajos, agradezco infinitamente el apoyo constante, sin ellos nada de esto hubiera sido posible, yo más que nadie sé los sacrificios realizados, aunque siempre me digan que no les debo nada, les debo absolutamente todo. No existen palabras para definir lo que ellos representan en mi vida. Los amo demasiado. Gracias a ellos soy lo que soy ahora.

A los docentes que nos han sabido formar, y acompañar en esta etapa de pregrado, sus conocimientos han sido valiosos, sin dejar de lado el sentido humano. A quienes formaron parte de este proyecto, gracias por su apoyo, paciencia y amor por la investigación.

A mis pacientes quienes supieron confiar en mí, en este proceso de aprendizaje, gracias por el compromiso y la paciencia.

Finalmente, a mí mismo, por no rendirme, porque a pesar de cada obstáculo suscitado la meta estuvo siempre clara, por superar los desafíos y trabajar incansablemente, esto es una muestra clara de lo que es para uno, es para uno.

Gracias infinitas a todos quienes de una u otra forma me apoyaron para alcanzar el objetivo.

Finaliza una etapa y comienza un sueño.

Índice

Resumen.....	2
Declaración de aceptación de norma ética y derechos.....	3
Dedicatoria.....	4
Resumen.....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	12
Resultados.....	15
Datos Encuesta	15
Análisis Microbiológico	20
Discusión.....	24
Conclusión.....	27
Anexos.....	28
Referencias.....	30

Índice de Figuras

Figura 1	Diagrama de flujo de la metodología.	14
Figura 2	Resultados del cultivo en Chromocult aplicada a los cepillos dentales donados.	21
Figura 3	Caracterización bioquímica de las cepas bacterianas aisladas de cepillos dentales.	22
Figura 4	Pruebas bioquímicas aplicadas.	23

Índice de Tablas

Tabla 1	Clasificación de los participantes según su género: Masculino y Femenino.....	15
Tabla 2	Lugar de almacenamiento del cepillo dental dentro del sanitario.....	15
Tabla 3	Participantes bajan la tapa del inodoro al momento de arrojar desechos.	16
Tabla 4	Participantes que comparten el baño con más personas dentro de su hogar.....	16
Tabla 5	Frecuencia en el cambio de cepillo dental: hace 1 mes, 3 meses, más de 3 meses y no recuerda.....	17
Tabla 6	Percepción de los participantes para el cambio del cepillo dental según su aspecto.	18
Tabla 7	Distancia considerada por los participantes existente entre el cepillo dental y el inodoro.	18
Tabla 8	Desinfección del cepillo dental con alcohol u otras soluciones desinfectantes.	19
Tabla 9	Participantes que han presentado alguna enfermedad sistémica tales como: Diabetes, soplo cardíaco, fiebre reumática, intervenciones a corazón abierto, ninguno.	20

DETECCIÓN DE CONTAMINACIÓN EN CEPILLOS DENTALES POR *ENTEROCOCCUS FAECALIS* Y *ENTEROCOCCUS FAECIUM*, Y SU RELACIÓN CON EL ALMACENAMIENTO, ESTUDIO *IN VITRO*.

Karen Alejandra Tasigchana Tasigchana

Correo electrónico: katasigchanat@estudiantes.uhemisferios.edu.ec

Resumen

Introducción: El cepillo dental es indispensable para la higiene bucal, este permite la remoción mecánica de placa bacteriana, no obstante, no existe un consenso sobre el tiempo de empleo y lugar de almacenamiento de este. En general, se guarda en un recipiente común en el baño, logrando contaminarse del entorno donde se almacena. Esta contaminación puede ser por aerosoles dispersados al momento que se descarga el inodoro. Por tanto, el objetivo de este estudio es determinar la relación del almacenamiento de los cepillos dentales y su contaminación por *E. faecalis* y *E. faecium* a través de pruebas bioquímicas. **Materiales y métodos:** Se recolectaron 150 cepillos dentales de estudiantes de la Universidad Hemisferios. Cada muestra fue sembrada en un caldo de cultivo para *Enterococcus*, de las muestras que mostraron viraje de color, se procedió a aplicar pruebas bioquímicas para identificación de género tales como: prueba catalasa, siembra en agar salado, agar sangre, bilis esculina, tinción gram, y para la identificación de especie: tolerancia al telurito y acidificación arabinosa. **Resultados:** Se encontró que, de 150 muestras de cepillos dentales, 61 muestras presentaron contaminación para *Enterococcus*, de las cuales el 86,9% (53/61) está contaminado por *E. faecalis*, el 1,6% (1/61) por *E. faecium*, y el 11,5% (7/61) por otros *Enterococcus*. **Conclusión:** Se concluye que existe contaminación de *E. faecalis* y *E. faecium* en cepillos dentales guardados en el baño, una vez aplicadas las pruebas bioquímicas, por lo tanto, la manera que en que es almacenado el cepillo dental influye en esta contaminación.

Palabras clave: Contaminación fecal, cepillo dental, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, aerosoles, baño.

Abstract

Introduction: The toothbrush is essential for oral hygiene, as it allows for the mechanical removal of dental plaque. However, there is no consensus on the duration of use and storage location of toothbrushes. Generally, they are kept in a common container in the bathroom, where they can become contaminated by the surrounding environment. This contamination may occur due to aerosols dispersed when the toilet is flushed. Therefore, the objective of this study is to determine the relationship between toothbrush storage and contamination by *E. faecalis* and *E. faecium* through biochemical tests. **Materials and methods:** A total of 150 toothbrushes were collected from students at the Universidad Hemisferios. Each sample was inoculated in a culture broth for *Enterococcus*. For samples showing a color change, biochemical tests were applied for genus identification, such as catalase test, growth on salt agar, blood agar, bile esculin, and Gram staining. For species identification, tests for tellurite tolerance and arabinose acidification were performed. **Results:** Of the 150 toothbrush samples, 61 showed contamination with *Enterococcus*. Among these, 86.9% (53/61) were contaminated with *E. faecalis*, 1.6% (1/61) with *E. faecium*, and 11.5% (7/61) with other *Enterococcus* species. **Conclusion:** It is concluded that there is contamination of *E. faecalis* and *E. faecium* in toothbrushes stored in the bathroom, as determined by biochemical tests. Therefore, the manner in which the toothbrush is stored influences this contamination.

Keywords: Fecal contamination, toothbrush, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, aerosols, bathroom.

Introducción

La descarga del inodoro genera una gran cantidad de bioaerosoles con diferentes tamaños de gotas; las de mayor tamaño se depositan rápidamente en el medio ambiente y contaminan las superficies circundantes y fómites, mientras que las más pequeñas pueden ser inhaladas o permanecer en el aire durante periodos prolongados de tiempo y migrar con las corrientes de viento (Crimaldi et al., 2022; McDermott et al., 2020; Verani et al., 2014). En el núcleo de estas gotas se ha encontrado la presencia de agentes infecciosos como *Shigella* spp, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., coronavirus del SARS y norovirus, los cuales provienen del vómito o heces de personas infectadas y pueden sobrevivir en las superficies durante semanas e incluso meses (Johnson et al., 2013).

La puerta de entrada a la salud sistémica es la cavidad oral, misma que refleja el bienestar general de un individuo (Pradeep et al., 2022). Dentro de la boca, el mayor contribuidor a la salud bucal es la diversidad del microbioma presente en esta cavidad (Baker et al., 2024). Se ha demostrado que el microbioma oral humano incluye a diferentes especies de hongos, bacterias y virus y, además, se ha identificado tanto microorganismos beneficiosos para la salud, así como microorganismos responsables de causar una serie de enfermedades bucales (Pradeep et al., 2022). Por lo que, mantener la higiene bucal se convierte en un factor esencial para la salud sistémica de un individuo (Ganesh et al., 2022).

El cepillo dental desempeña un papel importante para la higiene bucal, ya que permite la remoción mecánica de la placa bacteriana, sin embargo, no existe un consenso en cuanto al tiempo de empleo y lugar de almacenamiento de este (Medina-Patrano et al., 2019). No obstante, las recomendaciones generales son de cambiar el cepillo cada 3 meses de uso (Zinn et al., 2020). La contaminación en el cepillo dental se debe a su empleo en la limpieza bucal, además que se

guarda en un recipiente común en el baño (Pradeep et al., 2022), por ende el lugar de almacenamiento después de su uso influye en un posible riesgo de inoculación proveniente del medio ambiente, o de los aerosoles de la descarga del inodoro, por lo tanto, podría ser un reservorio potencial de patógenos en pacientes con enfermedades sistémicas, como en personas sanas y acabar por provocar infecciones (Zinn et al., 2020).

El análisis de la presencia de las bacterias *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* es empleada frecuentemente para indicar contaminación de origen fecal, siendo que la presencia de *E. faecalis* se la relaciona con contaminación por fuentes humanas, y la presencia de *E. faecium* y otras especies se las relaciona con otros tipos de fuentes de contaminación (Diaz et al., 2010). Un estudio sugiere que los perros mantenidos como mascotas desempeñan un papel importante en la transmisión de cepas de *E. faecium* a los humanos y al medio ambiente (Castillo-Rojas et al., 2013). Las pruebas bioquímicas que permiten el diagnóstico del género *Enterococcus* son las siguientes: catalasa (negativa), hemolisis (y), NaCl 6,5% (+), bilis esculina (+) y PYR (+); mientras que para la diferenciación de especie entre *E. faecalis* y *E. faecium* se puede aplicar pruebas como acidificación de arabinosa y tolerancia a telurito (Hervé E & Porte T, 2007).

Estos microorganismos han desarrollado resistencia a algunos antibióticos y pueden causar infecciones nosocomiales (Khan et al., 2022; López-Luis et al., 2021; Zhou et al., 2020). *E. faecalis* habita comúnmente en el tracto gastrointestinal, reportándose también su presencia en el surco gingival y en el epitelio de unión. Esta bacteria se la considera responsable del 10% de los casos de endocarditis infecciosa, además de estar presente en bacteriemias transitorias, celulitis faciales e infecciones diversas. En el caso de la salud bucal, *E. faecalis* puede llegar a sobrevivir en los conductos radiculares, siendo la causante de los fracasos en tratamientos

endodónticos (Ortega, 2010). Frente a lo expuesto este estudio pretende determinar la relación del almacenamiento de los cepillos dentales y su contaminación por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* a través de pruebas bioquímicas.

Materiales y Métodos

Se plantea un estudio de tipo transversal-experimental, donde se recogieron 150 cepillos dentales de estudiantes de la facultad de Odontología de la Universidad Hemisferios y de los integrantes de su círculo familiar durante el periodo académico 2021 – 2022. A cada participante se le solicitó llenar el consentimiento informado y encuesta para obtener datos demográficos (Anexo 1), aplicada en línea por Zoho Survey, la cual proporcionó los datos de relevancia para la investigación. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: cepillos dentales de participantes entre 18 y 55 años, con dos meses de tiempo mínimo de empleo, participantes con o sin ortodoncia, excluyéndose a participantes mayores a 56 años y que usen aparatología removible.

Los cepillos dentales fueron recogidos en fundas de esterilización y almacenadas a una temperatura de 4°C en refrigeradora para su posterior análisis (Figura 1). Las cabezas de los cepillos fueron cortadas con una hoja de bisturí y sembradas en frascos estériles con 20 ml de caldo de cultivo para *Enterococcus* (Chromocult® 1.10294-Merck Millipore), y fueron incubados a 37.5 °C por 48 horas.

Después del tiempo de incubación, se sembró 100 µl de cada muestra positiva en agar nutritivo (Difco™) y se las incubó nuevamente por 24 a 48 horas a 37.5 °C. Una vez que se podían distinguir colonias bacterianas se realizaron las pruebas para identificación del género *Enterococcus*.

Las bacterias aisladas fueron sometidas a pruebas para la identificación del género bacteriano. Se sembró una colonia pura en medio agar salado (agar infusión cerebro-corazón, cloruro de sodio al 6.5%, pH 7.2 ± 0.2), agar bilis esculina y agar sangre, incubándolas a $37.5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24-48 horas.

Del mismo modo, se aplicó la prueba de la catalasa poniendo en contacto a cada muestra con peróxido de hidrógeno al 3%. Y, por último, se realizó tinción Gram a partir de una colonia pura para la determinación de la morfología de las bacterias aisladas.

Las muestras que resultaron positivas para el género *Enterococcus* fueron sometidas a las pruebas para la identificación de *E. faecalis* y *E. faecium*:

Acidificación de arabinosa

Se sembró una colonia pura en tubos que contenían caldo rojo fenol con arabinosa al 0.5% (LOBA CHEMIE PVT, LTD) y se las incubó a $37.5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas, observando el viraje en el color del medio.

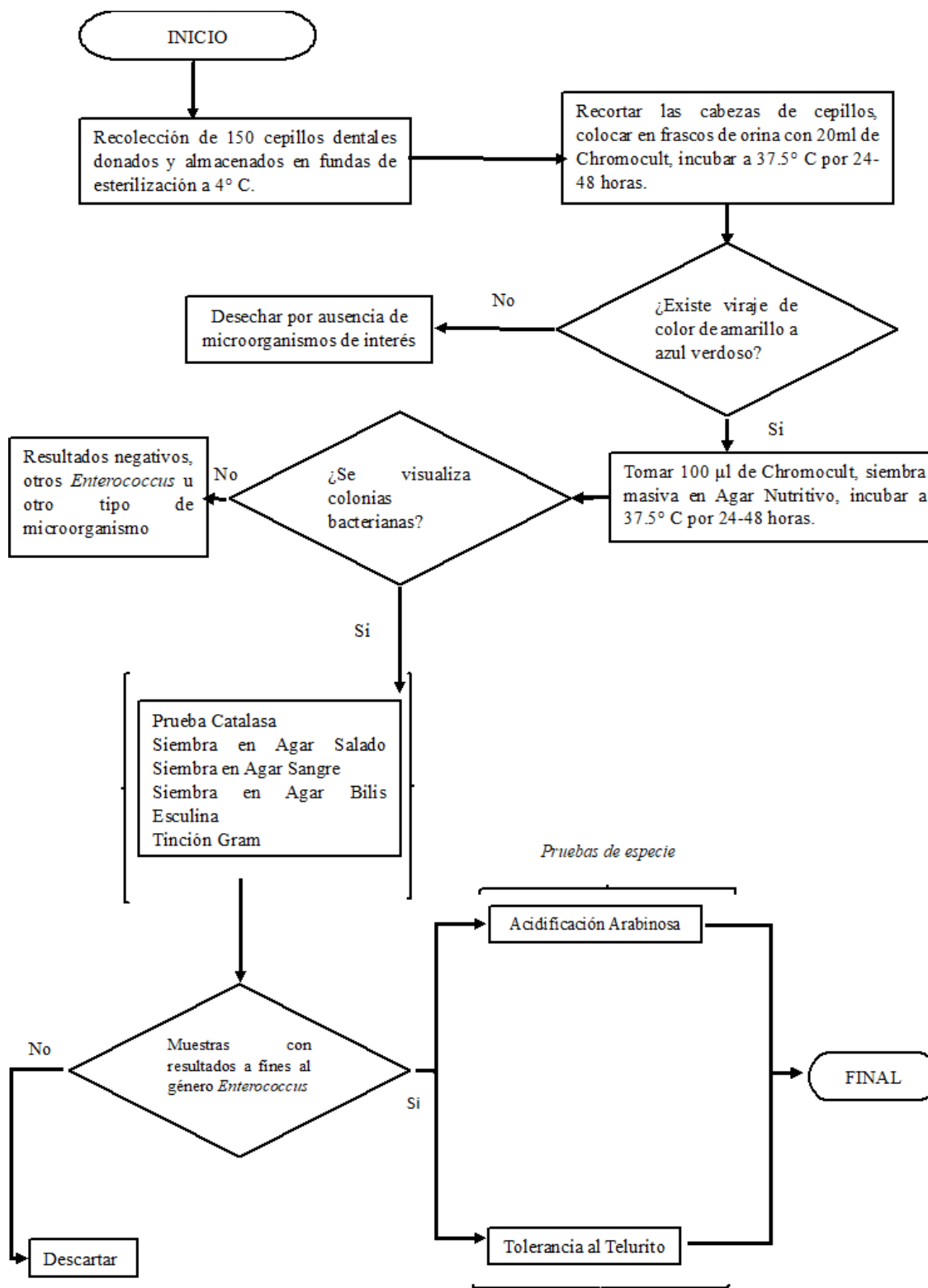
Tolerancia al Telurito

Se sembró una colonia pura en agar telurito (agar tripticasa de soya, telurito de potasio al 0.04%, pH 7.3 ± 0.2), y se las incubó a $37.5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas, registrando el crecimiento y color de las colonias.

Se utilizó como control positivo *E. faecalis* ATCC29212 y *E. coli* como control negativo.

Por otro lado, los datos obtenidos de la presencia o no del microorganismo y los resultados de la encuesta aplicada de forma complementaria fueron colocados en tablas y gráficos específicamente elaborados para el estudio en Excel.

Figura 1 Diagrama de flujo de la metodología.



Resultados

Datos Encuesta

Al inicio del estudio, se aplicó una encuesta a 150 personas con una edad media de 25 años; el 60,67 % (91/150) fueron femeninos y el 39,33 % (59/150) masculinos (Tabla 1).

Tabla 1 Clasificación de los participantes según su género: Masculino y Femenino.

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Femenino	60,7%	91
Masculino	39,3%	59
Total	100,0%	150

Dentro de la encuesta, se preguntó sobre el lugar de almacenamiento del cepillo dental, en la que el 52,67% (79/150) respondió que guarda en el portacepillos, el 22,7% (34/150) guarda en el lavabo, el 20,7% (31/150) guarda en una repisa, el 1,3% (2/150) guarda en otro lugar tal como un cajón de cepillos, mientras que el 2,7% (4/150) no guarda en el baño (Tabla 2).

Tabla 2 Lugar de almacenamiento del cepillo dental dentro del sanitario.

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Repisa	20,7%	31
Portacepillos	52,7%	79
Lavabo	22,7%	34
No guarda en el baño	2,7%	4
Otro, especifique: Cajón de cepillos	1,3%	2
Total	100,0%	150

Se observó que 146 participantes guardan el cepillo dental en el cuarto del baño, por lo que se les preguntó exclusivamente sobre sus costumbres, en especial si baja la tapa al momento de descargar el inodoro. De esta costumbre, el 67,3% (101/150) baja la tapa, el 16,7% (25/150) a veces lo hace, y únicamente el 13,3% (20/150) no lo hace. (Tabla 3).

Tabla 3 *Participantes bajan la tapa del inodoro al momento de arrojar desechos.*

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Si	67,3%	101
No	13,3%	20
A veces	16,7%	25
No guarda en el baño	2,7%	4
Total	100,0%	150

También se preguntó si los participantes comparten el baño con más personas del hogar, por lo que la mayoría respondieron que sí, representado por el 78% (117/150), mientras que el 19,3% (29/150) no comparten el baño con otros integrantes del hogar (Tabla 4).

Tabla 4 *Participantes que comparten el baño con más personas dentro de su hogar.*

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Si	78,0%	117
No	19,3%	29
No guarda en el baño	2,7%	4
Total	100,0%	150

Con respecto a la salud bucal, se les preguntó a todos los participantes hace cuánto tiempo cambiaron su cepillo dental donado, siendo que el 24,7% (37/150) de los participantes lo cambiaron hace 1 mes, el 42% (63/150) hace 3 meses, el 28% (42/150) hace más de 3 meses, y se observó que el 5,3% (8/150) no recuerda el tiempo exacto en que realizaron el cambio de cepillo (Tabla 5).

Adicionalmente, también se consideró la perspectiva de los participantes en cuanto al aspecto del cepillo dental y su relación con la necesidad de un cambio de éste. Se observó que los participantes consideran que deben cambiar el cepillo cuando esté abierto las cerdas representado por el 52,7% (79/150), cuando no cepilla bien en un 10,7% (16/150), y solo el 6% (9/150) cree que debe cambiar cuando esté muy sucio. Varios participantes especificaron la frecuencia en la que cree que debe cambiar su cepillo dental, tales como: cada 1 mes representado con un 2% (3/150), cada 2 meses con un 2,7% (4/150), cada 3 meses con un 22% (33/150), cada 4 meses con un 1,3% (2/150), cada 6 meses con un 2% (3/150), y después de una enfermedad gripal con un 0,7% (1/150) (Tabla 6).

Tabla 5 Frecuencia en el cambio de cepillo dental: hace 1 mes, 3 meses, más de 3 meses y no recuerda

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Hace 1 mes	24,7%	37
Hace 3 meses	42,0%	63
Hace más de 3 meses	28,0%	42
No me acuerdo	5,3%	8
Total	100,0%	150

Tabla 6 *Percepción de los participantes para el cambio del cepillo dental según su aspecto.*

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Cuando esté muy sucio	6,0%	9
Cuando esté abierto las cerdas	52,7%	79
Cuando no cepilla bien	10,7%	16
Cada 1 mes	2,0%	3
Cada 2 meses	2,7%	4
Cada 3 meses	22,0%	33
Cada 4 meses	1,3%	2
Cada 6 meses	2,0%	3
Cuando hayamos tenido gripe	0,7%	1
Total	100,0%	150

También se consideró para este estudio la distancia que existe entre los cepillos dentales y el inodoro a lo que los participantes respondieron en un 44% (66/150) a 1 metro, del mismo modo con el 44% (66/150) a 2 metros, mientras que el 9.33% (14/150) a 3 o más metros de distancia. Y el 2,7% (4/150) que no guardan sus cepillos en el baño (Tabla 7).

Tabla 7 *Distancia considerada por los participantes existente entre el cepillo dental y el inodoro.*

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
1 metro	44,0%	66
2 metros	44,0%	66
3 o más metros	9,3%	14
No guarda en el baño	2,7%	4
Total	100,0%	150

En cuanto al mantenimiento del cepillo dental, el 84% (126/150) de los participantes respondieron que no lo desinfectan, pero del 16% restante se obtuvo las siguientes respuestas: el 8% (12/150) han desinfectado su cepillo dental con alcohol, el 2% (3/150) con clorhexidina, el 2% (3/150) con jabón y cloro, el 1,3% (2/150) con jabón y alcohol, el 0,7% (1/150) con solo jabón líquido, el 0,7% (1/150) solo cloro, el 0,7% (1/150) con enjuague bucal, y el 0,7% (1/150) con aceite esencial de árbol de té (Tabla 8).

Tabla 8 Desinfección del cepillo dental con alcohol u otras soluciones desinfectantes.

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Alcohol	8,0%	12
Clorhexidina	2,0%	3
Jabón, cloro	2,0%	3
Jabón, alcohol	1,3%	2
Jabón líquido	0,7%	1
Cloro	0,7%	1
Enjuague bucal	0,7%	1
Aceite esencial árbol de té	0,7%	1
No	84,0%	126
Total	100,0%	150

También se incluyó una pregunta sobre si han presentado enfermedades sistémicas, para la cual los participantes respondieron con un 1,33% (2/150) diabetes, el 1,33% (2/150) fiebre reumática, el 1,33% (2/150) intervenciones a corazón abierto, y con el 0,67% (1/150) soplo cardíaco (Tabla 9).

Tabla 9 Participantes que han presentado alguna enfermedad sistémica tales como: Diabetes, soplo cardíaco, fiebre reumática, intervenciones a corazón abierto, ninguno.

Opciones	Porcentaje de respuesta	Conteo de respuesta
Diabetes	1,3%	2
Soplo cardíaco	0,7%	1
Fiebre reumática	1,3%	2
Intervenciones a corazón abierto	1,3%	2
Ninguno	95,3%	143
Total	100,0%	150

Análisis Microbiológico

Los resultados de la siembra de las 150 muestras de cepillos dentales donados empleando caldo de cultivo para *Enterococcus* Chromocult®, se detallan en la **Figura 2**. Un total de 61 muestras resultaron positivas debido al viraje en el color del medio de cultivo de amarillo a azul verdoso.

Luego cada muestra se observó su crecimiento de colonias en Agar Nutritivo, y se procedió con la aplicación de pruebas para identificación de género *Enterococcus*, donde se obtuvo 59 muestras catalasa negativa, mientras que 2 muestras presentaron desprendimiento de burbujas, por lo tanto, fueron catalasa positiva. De las 61 muestras, todas presentaron crecimiento en Agar Salado, mientras que se identificó 60 muestras con hemólisis γ (-) y 1 muestra con hemólisis β . Por otro lado, 61 muestras presentaron hidrólisis en agar bilis esculina, donde se evidenció la formación de un compuesto verde oliva hasta negro en los tubos de ensayo. Además, se corroboró que las 61 muestras fueron cocos gram (+). Finalmente, se aplicó las pruebas de diferenciación entre *E. faecalis* y *E. faecium*, donde 57

muestras presentaron metabolización al Telurito, ya que las colonias se tornan negras, adicionalmente 5 muestras presentaron acidificación a la arabinosa cambiando el color del cultivo de rojo a amarillo, ver **Figura 3** y **Figura 4**.

Figura 2 Resultados del cultivo en Chromocult aplicada a los cepillos dentales donados.

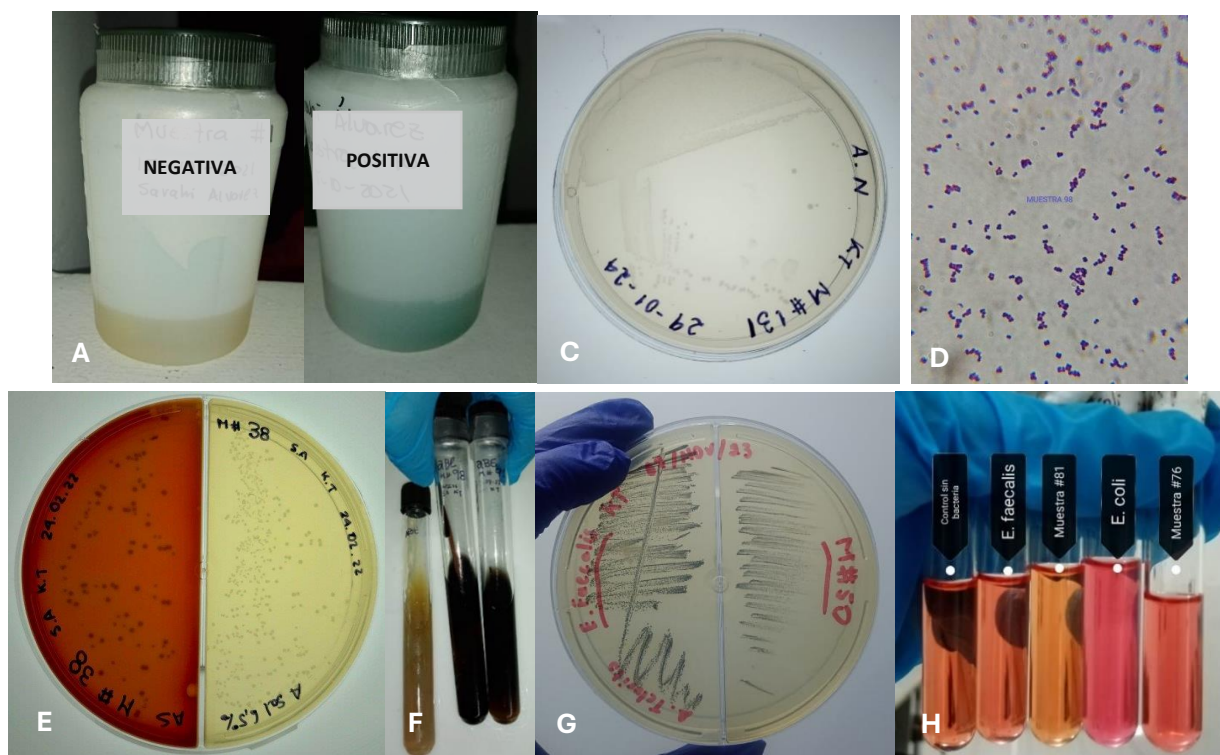
Id Muestra	Chromocult	Id Muestra	Chromocult	Id Muestra	Chromocult	Id Muestra	Chromocult	Id Muestra	Chromocult
1	-	32	+	63	-	94	-	125	-
2	-	33	-	64	+	95	-	126	-
3	-	34	-	65	+	96	-	127	-
4	-	35	-	66	-	97	+	128	+
5	-	36	-	67	-	98	+	129	-
6	+	37	-	68	-	99	-	130	-
7	-	38	+	69	-	100	-	131	+
8	-	39	-	70	-	101	+	132	-
9	+	40	-	71	-	102	-	133	+
10	+	41	-	72	-	103	+	134	-
11	+	42	-	73	+	104	-	135	-
12	-	43	+	74	+	105	+	136	-
13	-	44	-	75	+	106	-	137	+
14	-	45	-	76	+	107	-	138	-
15	-	46	+	77	+	108	-	139	-
16	+	47	+	78	+	109	-	140	+
17	-	48	+	79	-	110	-	141	-
18	+	49	+	80	-	111	+	142	+
19	+	50	+	81	+	112	-	143	-
20	-	51	+	82	+	113	+	144	-
21	-	52	+	83	+	114	-	145	-
22	-	53	-	84	+	115	-	146	-
23	-	54	+	85	+	116	+	147	+
24	+	55	+	86	+	117	-	148	-
25	+	56	-	87	+	118	+	149	-
26	-	57	+	88	+	119	-	150	+
27	-	58	-	89	-	120	-		
28	-	59	-	90	-	121	-		
29	+	60	-	91	+	122	+		
30	+	61	-	92	-	123	-		
31	-	62	+	93	+	124	-		

Figura 3 Caracterización bioquímica de las cepas bacterianas aisladas de cepillos dentales.

ID Muestra	Chromocult	Catalasa	Agar Sal	Agar Sangre	Agar Bilis Esculina	Tinción Gram	Telurito	Arabinosa
		Pruebas de Género				Pruebas de Especie		
6	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
9	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
10	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
11	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
16	+	-	+	γ (-)	+	+	-	-
18	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
19	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
24	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
25	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
29	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
30	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
32	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
38	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
43	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
46	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
47	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
48	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
49	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
50	+	-	+	γ (-)	+	+	-	-
51	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
52	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
54	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
55	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
57	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
62	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
64	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
65	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
73	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
74	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
75	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
76	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
77	+	-	+	γ (-)	+	+	-	+
78	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
81	+	-	+	γ (-)	+	+	+	+
82	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
83	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
84	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
85	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
86	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
87	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
88	+	-	+	γ (-)	+	+	+	+
91	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
93	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
97	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
98	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
101	+	+	+	γ (-)	+	+	+	-
103	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
105	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
111	+	-	+	β	+	+	-	-
113	+	+	+	γ (-)	+	+	+	+
116	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
118	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
122	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
128	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
131	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
133	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
137	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
140	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
142	+	-	+	γ (-)	+	+	+	+
147	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-
150	+	-	+	γ (-)	+	+	+	-

Nota de Imagen: Interpretación de resultados. Chromocult (+): positivo al cambio de color de amarillo a azul verdoso; Catalasa: (+) positivo, (-) negativo; Agar Salado (+): existió crecimiento; Agar Sangre γ (-): hemólisis gamma, (β): hemólisis beta, donde se observó zona clara e incolora alrededor de las colonias; Agar bilis esculina (+): existió hidrólisis; Tinción Gram (+): cocos gram+; Telurito (+): existió metabolización donde las colonias se tornaron negras, (-): no existió metabolización; Arabinosa (+): acidificación, donde hubo un cambio de coloración de rojo a amarillo, (-): no se evidenció acidificación.

Figura 4 Pruebas bioquímicas aplicadas.



Nota de imagen: A. Chromocult (-) negativa, con coloración amarilla. B. Chromocult (+) positiva, con coloración azul verdosa. C. Crecimiento en Agar Nutritivo. D. Tinción Gram, cocos gram (+). E. Caja bipetri en el lado izquierdo se observa cultivo en Agar Sangre con hemólisis γ (-), mientras que el lado derecho se observa crecimiento en Agar Salado. F. Hidrólisis en Agar Bilis Esculina. G. Caja bipetri en el lado izquierdo se evidenció metabolización del Agar Tripticasa Soya más Telurito de Potasio por *E. faecalis* control positivo, ya que las colonias adoptan pigmentación negra, asimismo en el lado derecho se observa metabolización del telurito de la muestra. H. Simbra en Caldo Fenol Rojo más arabinosa en el primer tubo de ensayo sin bacteria como control, en el segundo tubo de ensayo con *E. faecalis* como control negativo, en el tercer tubo de ensayo presenta viraje de color de rojo a amarillo, por lo tanto, existió acidificación de la arabinosa, en el cuarto tubo de ensayo con muestra de *E. coli* como control, y en el quinto tubo de ensayo no presenta cambio de color.

Discusión

En el presente estudio, de los 150 cepillos dentales de estudiantes de la facultad de Odontología de la Universidad Hemisferios y de los integrantes de su círculo familiar durante el periodo académico 2021 – 2022 se encontró que 61 muestras presentaron contaminación para *Enterococcus*, de las cuales el 86,9% (53/61) está contaminado por *E. faecalis*, el 1,6% (1/61) por *E. faecium*, y el 11,5% (7/61) por otros *Enterococcus*. Estos resultados concuerdan con los encontrados en estudios donde demostraron que el cepillo dental puede contaminarse por fuentes como aerosoles generados en el entorno donde es almacenado o las manos del usuario (Ganesh et al., 2022). De esta contaminación, se han identificado los microorganismos *Pseudomonas* sp., *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Enterococcus faecalis* β -hemolítico, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus sanguinis* (Medina-Patrano et al., 2019). La presencia de estos microorganismos en las cerdas de este instrumento de higiene bucal puede favorecer a la transmisión al usuario o la contaminación cruzada entre los miembros del hogar durante el almacenamiento en un período de varios días (Zinn et al., 2020). Una fuente importante de contaminación puede deberse a los sanitarios, ya que los núcleos de gotitas de los aerosoles del penacho del inodoro son capaces de arrastrar microorganismos grandes como bacterias y pueden migrar muy lejos del inodoro (Johnson et al., 2013; Verani et al., 2014). Según la encuesta aplicada es este estudio, el 52,7% (79/150) de los participantes guardan su cepillo dental en un portacepillos, además que el 78% (117/150) de los participantes corroboran compartir el baño con más miembros de su familia, por lo que existe la posibilidad de contaminación cruzada en el núcleo familiar, ya que cuando se almacenan varios cepillos en un mismo recipiente, la distancia entre cepillo y cepillo, es de 2 cm, lo que puede favorecer la contaminación por contacto entre ellos durante su estancia en el cepillero (Medina-Patrano et al., 2019).

Los participantes mencionaron en su mayoría 67,3% (101/150) que bajaban la tapa del inodoro al descargar los desechos. A pesar de que el crecimiento de la columna de aerosol generada por un inodoro se reduce con la tapa cerrada, ésta no logra eliminarla debido a que las concentraciones de bioaerosoles liberadas por un inodoro con descarga varían según el tipo de inodoro, el rendimiento de la ventilación, la posición radial alrededor de la taza, el nivel de presión del suministro de agua y la presencia de desechos fecales (Crimaldi et al., 2022).

Y aunque el 88% de los participantes consideran que sus cepillos dentales se encuentran a 1 o 2 metros del inodoro, Crimaldi et al. (2022) afirma que la descarga del inodoro produce un fuerte chorro caótico con velocidades superiores a 2 m/s y transporta aerosoles a alturas que alcanzan los 1,5 m dentro de los 8 segundos posteriores al inicio de la descarga, por lo que los cepillos dentales estarían expuestos directamente a contaminación fecal.

En el presente estudio, se tomó en cuenta la presencia de *E. faecalis* y *E. faecium*, debido a que son bacterias indicadoras de contaminación fecal. Weiner et al. (2016) afirma que las especies del género *Enterococcus* son patógenos que pueden causar infecciones nosocomiales, y son la tercera causa más común de endocarditis infecciosa (EI). En una EI causada por *Enterococcus*, el 90-97% se debe a *E. faecalis* (López-Luis et al., 2021). Martins et al. (2023) mencionan que la incidencia de bacteriemia se da en un 28% por profilaxis, en un 16% después del uso del hilo dental y en un 8% a 26% después del cepillado dental. Es por esto que un cepillo contaminado con bacterias del género *Enterococcus* puede llegar a ser un riesgo de infección a nivel oral, y se evidencia la necesidad de establecer un protocolo de desinfección y almacenamiento de este instrumento de higiene bucal.

En la literatura existe amplia información sobre las técnicas de cepillado, pero no existe información adecuada sobre el mantenimiento del cepillo dental para evitar su contaminación

(Ganesh et al., 2022). Por consiguiente, los odontólogos como profesionales de la salud bucal deberían capacitar a sus pacientes en la consulta sobre el adecuado empleo y almacenamiento del cepillo dental para evitar su contaminación y posibles enfermedades causadas por microorganismos presentes en el mismo. Pradeep et al. (2022) aseveran que los métodos rutinarios como enjuagar con agua del grifo y secado, resultan ineficaces para reducir los microbios presentes. Una de las mejores opciones estudiada por varios autores es la desinfección del cepillo dental, donde se ha demostrado que el peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio al 0.5% reducen significativamente la adherencia de microorganismos como *E. faecalis* y *C. albicans* (D'Ercole et al., 2020), dando como resultado poca carga bacteriana. Por otro lado, Pradeep et al. (2022) afirman también que el agente más eficaz para desinfección de cepillos de dientes es Dettol, el cual es un líquido de alta desinfección, antiséptico, antimicrobiano ideal para piel y superficies.

Para investigaciones futuras se recomienda tomar en cuenta marcas de los cepillos donados, tipos de cerdas y realizar posibles comparaciones entre las mismas. Además, se recomienda considerar el uso de las tapas protectoras en cepillos dentales, debido a que se ha demostrado que los microorganismos aumentan significativamente en los cepillos de dientes sin tapas protectoras, y algunos cepillos de dientes con tapas protectoras no mostraron crecimiento (Ganesh et al., 2022). Asimismo, se recomienda ampliar el número de muestra, ya que en el presente estudio el número de muestra no fue significativo para realizar un estudio inferencial.

Conclusión

Se concluye que existe contaminación de *E. faecalis* y *E. faecium* en cepillos dentales guardados en el baño, una vez aplicadas las pruebas microbiológicas, por lo tanto, la manera que en que es almacenado el cepillo dental influye en esta contaminación.

Anexos



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título de la investigación: Identificación de contaminación fecal en cepillos dentales de estudiantes y personal administrativo de la facultad de Odontología de la Universidad Hemisferios periodo 2021 - 2022
Fecha: 03/10/2022
Filiación del investigador: Universidad Hemisferios
Nombre del investigador principal: Sarahí Álvarez y Karen Tasigchana
Números de contacto: 0984670149/0989649554

Usted ha sido invitado a participar en un estudio investigativo sobre contaminación fecal en cepillos dentales. Dicho tema hoy en día es muy poco mencionado, por lo cual se debe tomar en cuenta al momento de usar el cepillo dental.

El estudio consiste en obtener 150 muestras de cepillos dentales y comprobar si existen o no microorganismos fecales tales como *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. Por medio de un estudio in vitro (dentro de laboratorio).

Los riesgos de participar: Ninguno.

Los beneficios para usted: Se dará una retroalimentación al final del estudio, se darán a conocer los resultados para poder recomendar el adecuado uso y almacenamiento del cepillo dental y no existirán compensaciones económicas por su participación.

Para proteger su privacidad se tomarán todas las medidas:

No es obligatorio participar en la investigación ni existen costos asociados para los participantes. Como antes mencionado su participación en este estudio es voluntaria, si así lo considerase usted, puede decidir NO participar o puede retirarse del estudio en cualquier momento. No habrá sanciones ni pérdida de beneficios si usted decide no participar, o decide retirarse del estudio antes de su conclusión.

Si acepta voluntariamente participar, la información que recibamos de usted será recolectada y codificada de manera inmediata y cautelosa.

Me han explicado de manera detallada el propósito de este estudio, así como los riesgos, beneficios y mis opciones como participante. Entiendo que se guardará absoluta confidencialidad sobre el origen de los datos que estoy ofreciendo, por lo cual Yo: con C.I: acepto voluntariamente participar de esta investigación y para futuras investigaciones siempre y cuando se tomen las mismas precauciones sobre la confidencialidad cuya finalidad es obtener información que podrá ser usada en la obtención de más conocimiento en el área de Odontología.

_____ Firma del participante

Fecha: _____

Firma de investigador

Firma de investigador

Firma testigo

N° encuesta: _____	
Telf: _____	
Correo: _____	
Sexo: Femenino <input type="checkbox"/>	Masculino <input type="checkbox"/>
Edad: _____	
1. ¿Dónde almacena su cepillo dental dentro del sanitario? <input type="checkbox"/> Repisa <input type="checkbox"/> Porta cepillos <input type="checkbox"/> Lavabo <input type="checkbox"/> Otros: _____	
2. ¿Al momento de arrojar los desechos del inodoro, usted baja la tapa del mismo? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> A veces	
3. ¿Usted comparte el sanitario donde guarda su cepillo dental con otra persona de su hogar? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No guardo en el sanitario	
4. ¿Cuándo fue la última vez que cambió su cepillo dental? <input type="checkbox"/> Hace 1 mes <input type="checkbox"/> Hace tres meses <input type="checkbox"/> Hace más de tres meses <input type="checkbox"/> No me acuerdo	
5. ¿A qué distancia considera usted que se encuentra su cepillo del inodoro? <input type="checkbox"/> 1 m <input type="checkbox"/> 2 m <input type="checkbox"/> 3 o más m	
6. ¿Cuándo cree que debe cambiar su cepillo dental? <input type="checkbox"/> Cuando este muy sucio <input type="checkbox"/> Cuando están abiertas las cerdas <input type="checkbox"/> Cuando no cepilla bien <input type="checkbox"/> Otro: _____	
7. ¿Usted alguna vez ha desinfectado su cepillo dental con alcohol u otras soluciones desinfectantes? <input type="checkbox"/> Si - ¿Cuál?: _____ <input type="checkbox"/> No	
8. ¿Alguna vez usted presentó sangrado de encías? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
9. ¿Alguna vez le diagnosticaron periodontitis? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	
10. ¿Usted tiene o tuvo alguna enfermedad sistémica? <input type="checkbox"/> Diabetes <input type="checkbox"/> Soplo cardiaco <input type="checkbox"/> Fiebre reumática <input type="checkbox"/> Intervenciones a corazón abierto <input type="checkbox"/> Ninguna	

Referencias

- Baker, J. L., Mark Welch, J. L., Kauffman, K. M., McLean, J. S., & He, X. (2024). The oral microbiome: diversity, biogeography and human health. *Nature Reviews Microbiology*, 22(2), 89–104. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00963-6>
- Castillo-Rojas, G., Mazari-Hiriart, M., Ponce de León, S., Amieva-Fernández, R. I., Agis-Juárez, R. A., Huebner, J., & López-Vidal, Y. (2013). Comparison of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Strains Isolated from Water and Clinical Samples: Antimicrobial Susceptibility and Genetic Relationships. *PLoS ONE*, 8(4), e59491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059491>
- Crimaldi, J. P., True, A. C., Linden, K. G., Hernandez, M. T., Larson, L. T., & Pauls, A. K. (2022). Commercial toilets emit energetic and rapidly spreading aerosol plumes. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24686-5>
- D’Ercole, S., Tieri, M., Martinelli, D., Ciaravino, C., Fulco, D., & Tripodi, D. (2020). Microbial Contamination and Disinfection of Sport Mouthguard: In Vitro Study. *Current Microbiology*, 77(2), 246–253. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01834-1>
- Díaz, M., Rodríguez, C., & Zhurbenko, R. (2010). Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Rev Cubana Hig Epidemiol*, 48, 147–161. <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v48n2/hie06210.pdf>
- Ganesh, A., Manohar, R., Venkatesan, K., Raja, S., & Kanakasabapathy, B. S. (2022). Assessment of Microbial Contamination of a Toothbrush Head with and without a Protective Cover: An Ex Vivo Study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 15(4), 455–457. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2403>

- Hervé E, B., & Porte T, L. (2007). Enterococcus sp Parte II. *Revista Chilena de Infectología*, 24(4).
<https://doi.org/10.4067/S0716-10182007000400009>
- Johnson, D., Lynch, R., Marshall, C., Mead, K., & Hirst, D. (2013). Aerosol Generation by Modern Flush Toilets. *Aerosol Science and Technology*, 47(9), 1047–1057.
<https://doi.org/10.1080/02786826.2013.814911>
- Khan, A., Miller, W. R., Axell-House, D., Munita, J. M., & Arias, C. A. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing for Enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(9).
<https://doi.org/10.1128/jcm.00843-21>
- López-Luis, B. A., Sifuentes-Osornio, J., Lambrano-Castillo, D., Ortiz-Brizuela, E., Ramírez-Fontes, A., Tovar-Calderón, Y. E., Leal-Vega, F. J., Bobadilla-del-Valle, M., & Ponce-de-León, A. (2021). Risk factors and outcomes associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and ampicillin-resistant *Enterococcus faecalis* bacteraemia: A 10-year study in a tertiary-care centre in Mexico City. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 24, 198–204. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.12.005>
- Martins, C. C., Lockhart, P. B., Firmino, R. T., Kilmartin, C., Cahill, T. J., Dayer, M., Occhi-Alexandre, I. G. P., Lai, H., Ge, L., & Thornhill, M. H. (2023). Bacteremia following different oral procedures: Systematic review and meta-analysis. *Oral Diseases*.
<https://doi.org/10.1111/odi.14531>
- McDermott, C. V., Alicic, R. Z., Harden, N., Cox, E. J., & Scanlan, J. M. (2020). Put a lid on it: are faecal bio-aerosols a route of transmission for SARS-CoV-2? *Journal of Hospital Infection*, 105(3), 397–398. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.04.024>

- Medina-Patrano, C., Bolaños-Rivero, M., Martín-Sánchez, A., Saavedra-Santana, P., & Vicente-Barrero, M. (2019). ¿Cuál es el nivel de contaminación del cepillo de dientes almacenado en diferentes entornos sanitarios? *Avances En Odontoestomatología*, 35(2), 69–72. <https://doi.org/10.4321/S0213-12852019000200003>
- Ortega, M. (2010). Enterococos: actualización Enterococcus infection: Update. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 2010(4), 507–515. <http://scielo.sld.cu507>
- Pradeep, S., Nandini, G., Hiranmayi, S., Kumar, G., Bijjala, N. K., & Guduri, S. (2022). A Prospective Study on Assessment of Microbial Contamination of Toothbrushes and Methods of Their Decontamination. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.30155>
- Verani, M., Bigazzi, R., & Carducci, A. (2014). Viral contamination of aerosol and surfaces through toilet use in health care and other settings. *American Journal of Infection Control*, 42(7), 758–762. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2014.03.026>
- Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J., Edwards, J. R., & Sievert, D. M. (2016). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 37(11), 1288–1301. <https://doi.org/10.1017/ice.2016.174>
- Zinn, M.-K., Schages, L., & Bockmühl, D. (2020). The Toothbrush Microbiome: Impact of User Age, Period of Use and Bristle Material on the Microbial Communities of Toothbrushes. *Microorganisms*, 8(9), 1379. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091379>
- Zhou, X., Willems, R. J. L., Friedrich, A. W., Rossen, J. W. A., & Bathoorn, E. (2020). *Enterococcus faecium*: from microbiological insights to practical recommendations for

infection control and diagnostics. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9(1), 130.

<https://doi.org/10.1186/s13756-020-00770-1>