

24 164



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

Escuela Nacional de Estudios Profesionales  
IZTACALA  
CARRERA DE ODONTOLOGIA

**TESIS DONADA POR  
D. G. B. - UNAM  
ANALISIS DE UN NUEVO METODO DE ESTERILIZACION  
DE INSTRUMENTAL RADICULAR**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
CIRUJANO DENTISTA  
P R E S E N T A:  
*Rubén Hernández García*



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## INDICE:

I. INTRODUCCION .....	1
II. GENERALIDADES DE LA ESTERILIZACION EN ENDODONCIA .....	3
1.- Esterilización del instrumental .....	4
A) Calor seco .....	4
B) Calor húmedo .....	8
C) Desinfectantes químicos .....	12
2.- Consideraciones teóricas del esterilizador de lentes de contacto .....	17
III. GENERALIDADES BACTERIOLÓGICAS .....	22
1.- Medios de cultivo .....	23
2.- Reglas para un cultivo bacteriológico .....	26
3.- Incubación .....	29
A) Diseño de una estufa de cultivo de construcción casera .....	30
4.- Interpretación del cultivo .....	33
IV. METODOS Y PROCEDIMIENTOS EMPLEADOS .....	36
V. RESULTADOS .....	47
VI. CONCLUSIONES Y COMENTARIOS .....	51
VII. BIBLIOGRAFIA .....	54

## I. INTRODUCCION:

Uno de los objetivos primarios de la terapia endodóntica, es eliminar ó reducir grandemente los microorganismos presentes en el canal radicular, éstos microorganismos pueden provenir de la flora bacterial oral así como de contaminación bacterial exógena. Para lograr esta disminución, se llevan a cabo diversos procedimientos; como utilizar un campo aislado con dique de hule y grapas, emplear una obturación temporal sellante, la esterilización del instrumental y otros materiales que se utilizan, etc., sin embargo, a la esterilización que se hace del instrumental para la preparación mecánica del conducto, no se le da la importancia debida, porque generalmente se utilizan en dos ó más pacientes y no se toma en cuenta la probabilidad de causar una infección cruzada, ya que con el empleo del instrumental contaminado, se puede transmitir desde infecciones bacterianas leves hasta virus como el de la hepatitis sérica<sup>5</sup> y tuberculosis<sup>3</sup>, que pueden impuizarse al organismo a travez del canal radicular.

Para evitar ésta complicación, se emplea la esterilización del instrumental para conductos utilizando diversos métodos, como con el calor seco, calor húmedo ó desinfectantes químicos. Algunos investigadores como Olliet<sup>21</sup> y Nolte<sup>19</sup> han demostrado que los métodos más eficaces para lograr una esterilización efectiva, son el empleo de calor por contacto de sólidos, utilizando sal fina ó pequeñas cuentas de vidrio y empleando el calor húmedo a presión como en una autoclave; no obstante, la mayoría de los dentistas no los utilizan, principalmente por el alto costo de los esterilizadores de bolitas de vidrio, y por no ser práctico el empleo del autoclave para esterilizar los pequeños instrumentos para conductos, además de producir oxidación de los mismos.

Conociendo éstas desventajas y el tener noticia de un nuevo método

de esterilización de instrumental para conductos radiculares desarrollado por el Dr. Pedro Ardines Limonchi<sup>2</sup>, que emplea un esterilizador de lentes de contacto de marca "DURASOFT", me motivó a realizar el presente trabajo para evaluar su eficacia como medio esterilizante, en comparación con un método ya conocido como es el esterilizador de calor seco así como conocer las ventajas y las desventajas de su uso, para decidir si su empleo puede ser ó no conveniente como rutina en el consultorio dental.

Esta investigación se realizará únicamente sobre las bacterias presentes en el canal radicular cuando existe una infección focal, y no sobre instrumental contaminado con cepas de bacterias ya conocidas, porque la contaminación bacterial en una infección, consiste en una gran variedad de microorganismos con diferente resistencia al método de esterilización estudiado, lo que nos dará una guía para conocer su efectividad, pero sería conveniente que se hicieran posteriores estudios con cepas de bacterias conocidas, para comprobar ó rectificar las conclusiones de éste trabajo.

Primeramente se efectuará una revisión de la literatura concerniente a los métodos de esterilización de instrumental de uso endodóntico, para conocer sus usos, ventajas y desventajas de cada uno de ellos, y saber así si el método estudiado es mejor ó peor que los métodos ya conocidos.

## II. GENERALIDADES DE LA ESTERILIZACION EN ENDODONCIA:

En la rutina endodóntica, es de vital importancia no utilizar instrumental ó materiales contaminados por microorganismos, ya que la cámara pulpar y los conductos radiculares son una vía de entrada expedita para toda infección exterior hacia los tejidos periapicales.

Para lograr la destrucción de los microorganismos, se llevan a cabo procesos que se conocen como métodos de esterilización y desinfección.

La esterilización es el proceso por el cual se destruyen todos los gérmenes contenidos en un lugar ó objeto<sup>45</sup>; se logra por el empleo del calor seco ó húmedo a tiempos definidos.

La desinfección destruye algunos microorganismos, pero puede dejar otros, como formas vegetativas, esporos ó virus<sup>13</sup>, y es realizada principalmente por sustancias químicas.

Por ello, se considera que todo instrumental ó material, que penetre ó se ponga en contacto con la cámara pulpar ó conductos radiculares debe estar estéril, y los que no lleguen a estar en contacto con dichos sitios, es necesario que estén limpios y desinfectados aunque no estériles.

Existen diversos métodos de esterilización y desinfección, no todos igual de efectivos, pero con diferentes características para su aplicación, las cuales son necesarias conocer para emplearlos en sus indicaciones precisas y lograr el máximo de eficacia esterilizante, sin embargo, en la selección del método empleado es necesario considerar no solo la efectividad del proceso, sino también las características de los materiales e instrumentos por esterilizar.

Para que la esterilización ó desinfección sea útil, los instrumentos deben estar libres de resto de cualquier índole, ya que los resi-

duos de sangre, pus y otras proteínas dejadas sobre los instrumentos, pueden servir de protección a los microorganismos. Esto es verdaderamente importante al usar los desinfectantes químicos, ya que éstos reaccionan con las proteínas orgánicas presentes.

Esta limpieza debe hacerse lavándolos con jabón ó detergente neutral y raspando los materiales adheridos con un cepillo blando, que debe ser esterilizado de vez en cuando ya que se podría convertir en una potente fuente de infección cruzada<sup>14</sup>, enjuagandolos después con agua destilada, porque un gran contenido mineral en el agua puede causar que los instrumentos se manchen permanentemente.

También es importante que después de lavarse, los instrumentos sean perfectamente secados con una toalla limpia, para evitar posterior oxidación de los mismos.

Cuando se esteriliza con calor seco ó húmedo, el instrumental se cubrirá con papel de envoltura ó tela, para mantener la esterilidad después del proceso. Estos envoltorios deberán ser hechos con pocos instrumentos, para que el calor llegue a todos, y además tener cuidado de no mezclar en un solo envoltorio acero inoxidable con aluminio, bronce ó cobre, ya que se puede producir electrólisis y resultar una oxidación ó corrosión del instrumental.

### 1.- Esterilización del instrumental,

En general, los métodos de esterilización más utilizados son el uso de calor y de sustancias químicas. El calor puede ser aplicado en las siguientes formas:

A) CALOR SECO: (Se piensa que actúa por un proceso de oxidación) Puede ser empleado en las diferentes formas siguientes<sup>15</sup>.

a) FLAMEADO.- La llama de un mechero de gas ó de alcohol se puede utilizar como medio esterilizante aunque no es muy efectivo; se emplea para esterilizar instrumentos de mango largo, puntas de plata (aun

que éstas tienen el peligro de deformarse si no se pasan rápidamente), las bocas de los tubos de ensayo, etc. Grossman y Appleton<sup>10</sup> demostraron en un estudio clínico y de laboratorio, que los instrumentos que no tuvieron contacto con saliva ó sangre se pueden reesterilizar por el uso del alcohol metílico ó etílico inflamado por la llama. Sanderson, citado por Grossman,<sup>11</sup> indica que "aún las formas esporuladas pueden ser destruidas por una mezcla de 3 partes de alcohol etílico y una parte de formal una vez inflamada".

Este método, sin embargo, solo puede ser empleado como un método auxiliar para la reesterilización de instrumental contaminado durante la intervención endodóntica, como mordientes de pinzas, exploradores, etc. y no como método esterilizante primario, ya que tendría que ponerse el instrumental al rojo vivo, con lo que se modificará su orientación cristalográfica y perderá su temple<sup>22</sup>.

b) AIRE CALIENTE.- Este método se realiza por medio de una estufa ó horno, calentado por corriente eléctrica que mantenga una temperatura de 160°C. (320°F) por tiempo de 60 a 90 min. (igual se puede usar un horno doméstico provisto de un control termostático)<sup>14</sup>. Es el procedimiento más empleado y se utiliza para esterilizar instrumentos delicados como limas y ensanchadores, atacadores, condensadores, puntas absorbentes, torundas y rollos de algodón, y en general todo el instrumental endodóntico<sup>13</sup>. Tiene la ventaja de no producir oxidación cuando el instrumental está seco, además de que éstos se pueden esterilizar en tubos de ensayo con tapones de algodón que los mantiene estériles por tiempo prolongado<sup>25</sup>. Sin embargo, debe controlarse cuidadosamente la temperatura, ya que menos de 160°C. no es muy efectivo contra esporas, y superiores a 170°C. puede derretir la soldadura de algunos instrumentos<sup>3,5</sup> ó dañar su temple, además de que pueden quemarse las puntas absorbentes y torundas de algodón<sup>13</sup>. Se ha demostrado que tiene poco poder de penetración, ya que el calor seco a 160°C. por 60 min., es aproximadamente

equivalente a una exposición de calor húmedo a 121°C. de 10 a 15 min.<sup>16</sup>

Algunos autores recomiendan también su uso para esterilizar instrumental con filo como bisturís, tijeras, fresas, etc. pero hay que tener cuidado de dejar enfriar la estufa antes de sacar el instrumental, ya que de no hacerlo, se afectará el filo de dichos instrumentos<sup>25</sup>. Nolte recomienda mantener la temperatura a 150°C. ó menos, por tres horas para no dañar los filos<sup>19</sup>.

c) CALOR POR CONTACTO DE SÓLIDOS.- Se puede utilizar con eficacia para esterilizar ó reesterilizar los instrumentos de conductos, la parte activa de pinzas, exploradores, condensadores, puntas absorbentes conos de plata, etc. Se realiza por exposición a medios que transfieren calor como el metal fundido (aleación plomo-estaño)<sup>1</sup>, sal de mesa<sup>7</sup>, balines de acero de 1/16 de pulgada de diámetro, pequeñas esferulas de vidrio no mayores de 1mm. de diámetro ó granos de arena. Todos deben tener una temperatura uniforme, por medio de una resistencia eléctrica con termostato ó con la flama de aproximadamente 2.5 cm. de un mechero de gas, entre 218 y 246°C. (424 y 475°F.)<sup>9</sup>; el tiempo de inmersión es muy variable según el germen a destruir, la temperatura existente y el material a esterilizar cambiando mucho el criterio de los autores; para Grosman<sup>9</sup>, se utiliza por 5 seg. para instrumentos metálicos y por 10 seg. para las puntas absorbentes; para Stewart y Williams, citados por Lasale<sup>13</sup>, son 2 seg. para los instrumentos metálicos, 5 para las puntas absorbentes y 10 para las torundas de algodón; para Frindlay, citado por Lasale, son 9, 17 y 24 seg. respectivamente; para Olist<sup>21</sup>, Burnett y Nolte<sup>19</sup> son suficientes 10 seg. de inmersión para lograr la esterilización. Sin embargo, Koehler y Kefferron<sup>12</sup> demostraron que "el tiempo requerido para aumentar la temperatura de un instrumento inmerso, fué directamente proporcional al tamaño del instrumento y a las características de transferencia de calor del medio". Las temperaturas deben ser escogidas teniendo en cuenta las propiedades físicas de los instrumentos

por ejemplo, el temple del metal y el punto de fusión de la soldadura usada en las uniones y conociendo la variabilidad de temperatura entre las capas superiores e inferiores del sólido caliente.

Este método, a pesar de sus ventajas como son su rápido tiempo de empleo, su fácil manipulación y su efectividad, tiene algunas desventajas como su alto costo, pueden quebrarse ó doblarse las puntas de papel tiene que controlarse cuidadosamente la temperatura, el metal fundido tiende a acumular escoria en la superficie pudiendo adherirse al instrumento<sup>3-9</sup>, las bolitas de vidrio pueden también adherirse al instrumento con peligro de obstruir el conducto<sup>13</sup>, y con los balines de acero es difícil introducir los instrumentos<sup>3</sup>. Aunque estos últimos inconvenientes se superan al utilizar la sal de mesa siendo el sólido recomendado por los autores<sup>9-13</sup> aunque requiere un poco mas de temperatura que el metal fundido<sup>21</sup>. Sin embargo, como éste método, al usarse como modo primario de esterilización, puede hacer tediosa y larga la sesión endodóntica y por los riesgos que corre, se recomienda como métodos principales de esterilización el uso del autoclave ó el calor seco prolongado que son mucho más seguros.<sup>25</sup>

d) ESTERILIZADOR DE ACEITE CALIENTE.- Se emplean principalmente aceites minerales ligeros y se utilizan en todos aquellos instrumentos cuyas partes sean insolubles en el aceite caliente y que tienen movimiento rotatorio ó partes móviles, como la pieza de mano, contrángulos, tijeras, perforadoras, portagrapas, etc., ya que al mismo tiempo desinfecta, lubrica, no afecta el temple y no causa corrosión. Este procedimiento es un tanto dudoso como método esterilizante, ya que a una temperatura de 150°C. (300°F.) por cerca de 15 min. solo desinfecta, y a 160°C. su efecto es apenas superior al agua hirviendo<sup>3,10</sup>, aunque Appleton estima que a 185°C. por 5 min. ó 175°C. por 10 min. son suficientes, y Maurice expresa que a 165-185°C. por 15 min. si elimina las esporas.

Los residuos de aceite sobre los instrumentos son un problema, ya

que se necesita que escurran un tiempo para eliminar el exceso<sup>14</sup> además de limitarse solo a instrumentos de metal que deben de envolverse en una toalla estéril para poder mantenerse así.

Algunos autores<sup>3-16</sup> proponen que se puede utilizar también fluidos de silicón (principalmente organo-polisiloxanos), aunque algunos de éstos no pueden ser usados por ser irritantes a los tejidos y no son lubricantes adecuados para las piezas de mano, pero pueden utilizarse para los instrumentos articulados<sup>5</sup>.

B) CALOR HUMEDO: (Según se orus, actúa por coagulación del proto plasma de los microorganismos)<sup>16</sup>.

a) AGUA HIRVIENTE.- Se puede utilizar la ebullición del agua por 10 a 15 min. como un método corriente de desinfección, ya que unos minutos con la temperatura de 100°C. (212°F.) son suficientes para destruir las formas vegetativas, pero no las formas esporuladas y menos los virus, por lo que no es recomendable salvo raras excepciones como en una emergencia ó procedimientos clínicos de rutina. Aunque algunos como Nolte<sup>19</sup> y Lucas<sup>14</sup> sostienen que con 30 min. de ebullición se destruyen los virus, éstos pueden sobrevivir por varias horas a ésta temperatura.<sup>3</sup>

El uso de la ebullición del agua tiene varias desventajas como son: que solo desinfecta en lugar de esterilizar, no poderse utilizar para algodón, causa un deterioro en el filo de los instrumentos cortantes por el roce molecular al formarse corrientes dentro del líquido, causa corrosión y oxidación de los instrumentos<sup>22</sup>, aunque esto puede ser reducido por el uso de agua destilada, por la adición al agua de sales alcalinizantes como hidróxido de sodio (al 0.2%), fosfato trisódico<sup>5</sup> (aunque disuelve el aluminio, al 1%), bicarbonato de sodio (1 a 2%) ó carbonato de sodio (1%) y por la adición de agentes reductores tales como el nitrito de sodio (1%), secar perfectamente todos los instrumentos tan pronto estén esterilizados y aún olientes, al igual que limpiar con frecuencia los recipientes que se usan para eliminar los depósitos mi-

nerales. También para evitar la oxidación, se puede emplear una emulsión de agua-aceite conocida como Fluido Dental AC 10 descrita por Nolte y Arnim<sup>20</sup>, que lubrica y protege (aunque no completamente) de la corrosión a los instrumentos, sobre todo piezas de mano e instrumental articulado.

Hay dos fenómenos que pueden tomarse en cuenta al utilizar este método de desinfección; se ha visto que el agua hervida que ha perdido el aire, al hervirse nuevamente tiene una temperatura de ebullición mayor, y que también se puede aumentar ésta temperatura de ebullición, aumentando la densidad del agua añadiendo en solución saturada un electrolito como carbonato de potasio (da 135°C. de temperatura de ebullición), carbonato de sodio (da 140°C. de temperatura de ebullición), cloruro de sodio,<sup>7</sup> etc. pero nunca una sal de calcio, porque con el calor precipita y se deposita sobre los instrumentos<sup>22</sup>.

b) VAPOR DE AGUA A PRESIÓN: Esta forma de calor húmedo es la más efectiva para la esterilización del instrumental y en general la más recomendada, ya que se ha comprobado que destruye todas las bacterias, esporas y virus. Se realiza en un aparato llamado autoclave, la cual consiste en un compartimiento de paredes gruesas con tapa de cierre hermético, en el cual se hace circular vapor de agua que proviene de un generador de vapor. Debido a que, por cada grado de temperatura, el volumen del vapor debe aumentar 1/273 y como las paredes de la autoclave son rígidas, el volumen se mantiene constante haciendo que aumente la presión y por consiguiente la temperatura<sup>22</sup>. La destrucción de los microorganismos depende de la temperatura, no de la presión; ésta es solamente un índice de la temperatura en el autoclave<sup>1</sup>.

Se recomienda que la temperatura sea de 121 a 123°C. (250 a 254°F.) con lo que la presión del vapor es de 15 a 17 lb/inch<sup>2</sup> (1.05 a 1.19 Kg./cm<sup>2</sup>)<sup>16</sup> y mantenerla por 15 a 20 min., pero para tener un adecuado margen de seguridad, algunos autores<sup>3-5-13</sup> recomiendan hasta 30 min. de

pendiendo del tipo y cantidad del material.

Existen diversos tamaños de autoclaves, aunque todas funcionan en forma parecida, siendo desde las grandes de tipo hospitalario hasta las de tamaño pequeño ideales para el consultorio dental calentadas por energía eléctrica. En términos generales, los pasos que se siguen para su empleo son semejantes; primeramente se llena la cámara de la autoclave con el material a esterilizar cerrando la puerta herméticamente, después se aplica la fuente de calor al agua para que forme vapor, el cual se permite entrar a la cámara de la autoclave para que desplace al aire contenido en ella totalmente, ya que de no hacerlo se forman bolsas de aire alrededor del instrumental que impide que penetre el vapor, además que daría una falsa presión de vapor en el manómetro, cerrando posteriormente la válvula de salida del aire para que la presión dentro de la cámara llegue a 15-17 lb/inch<sup>2</sup> y el termómetro marque 121°C. (250°F) momento en que se empieza a contar el tiempo de esterilización, después del cual, se abre nuevamente la válvula de salida para que el vapor salga; y como el instrumental permanece húmedo lo que lo hace imposible de manejar sin contaminar, se hace funcionar otra válvula para crear una presión negativa dentro de la cámara para secar todos los instrumentos, y por último, después de volver a la presión normal se retiran los instrumentos de la cámara de esterilización<sup>22</sup>.

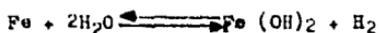
Para comprobar la eficacia esterilizante de la autoclave se usan los indicadores de esterilización. Estos son de dos tipos; unos funden ó cambian de color cuando se llega a cierta temperatura; solamente indican que se ha llegado a la temperatura correcta, pero no revelan si se ha mantenido durante el tiempo requerido para la esterilización como por ejemplo; el yodo en suspensión en engrudo de almidón con que se impregnan tiras de papel es azul negro y a 120°C. por 20 min. el yodo se sublima y el papel queda blanco<sup>22</sup>, el benzonaftol (100 gr.) con safranina (0.01 gr.) da una mezcla rosada que se pone violeta a 110°C., la

acetanilida (100 gr.) con verde brillante (1 gr.) es una mezcla azulada que vira al verde oscuro a 115°C. y el hidrato de terpina (100 gr.) con violeta de metilo (1 gr.) es una mezcla blanco violácea que cambia al azul a 117°C.<sup>7</sup> El segundo tipo de indicadores marcan no solo la temperatura correcta de la autoclave, sino también el tiempo necesario para la esterilización; consiste en esporas muy resistentes en suspensión ó secas sobre tiras de papel. Tras la exposición en la autoclave, se cultiva la suspensión ó la tira de papel para determinar si las esporas han muerto, por ejemplo: el "SPORE STRIPS"<sup>25</sup> ó el "DUO-SPOR".

Como la mayoría de los dentistas no poseen autoclave, ésta se puede substituir con una olla de presión con manómetro<sup>8</sup> y de preferencia con termómetro, la cual se recomienda que se utilice en el doble de tiempo requerido y teniendo la seguridad de que sale por varios minutos vapor puro por la válvula de escape antes de cerrar ésta; al terminar de esterilizar, se afloja la válvula de presión con rapidez para sacar de la olla de presión el instrumental aún caliente. Para mantener la esterilidad después del proceso, antes de introducirse se cubre el instrumental con papel de envoltura ó muselina, pero no en celofán ni en recipientes metálicos ó de plástico tapados, ya que el vapor no penetra tales materiales<sup>3</sup>.

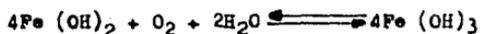
Este método sirve para esterilizar casi todo el instrumental que no pierde el brillo, como atacadores, espejos, tiranervios, ensanchadores, algodón, etc. Su única importante desventaja es que causa oxidación del instrumental metálico y sobre todo de los articulados<sup>9</sup>, aunque se han hecho importantes estudios para disminuirla ó eliminarla.

El mecanismo de oxidación es de origen electroquímico por flujo de iones Fe<sup>++</sup>, los cuales causan que el acero del carbón de acero sea convertido en hidróxido ferroso:

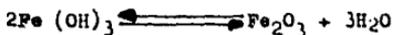


En la presencia de humedad, el hidróxido ferroso es transformado en

hidróxido férrico:



Al secarse éste hidróxido férrico se convierte en óxido férrico:<sup>3</sup>



Para inhibir la oxidación se pueden utilizar varios métodos: Se puede evitar que el vapor se condense sobre la superficie del metal, secando el instrumental inmediatamente después de terminada la esterilización; revistiendo el instrumental con una capa de aceite, grasa ó otros materiales, aunque esto puede evitar una correcta esterilización, se pueden utilizar agentes químicos reductores disueltos en el agua de el esterilizador, como nitrito de sodio (1%)<sup>5</sup>, carbonato de sodio, bórax<sup>6</sup> ó Di-etilenglycol (con 10 ó 20% de agua)<sup>1</sup>. Charbeneau<sup>6</sup> aconseja el uso de una emulsión aceite-agua conteniendo benzoato de sodio, con la que se reviste el instrumental con una delgada capa antes de esterilizarlos.

También se pueden utilizar esterilizadores que funcionan a base de agentes químicos vaporizados, en los cuales el agua se substituye por una solución química que no causa oxidación, pero sí destruye los microorganismos a la temperatura y presión obtenidas, como una solución compuesta por varios alcoholes, acetona, formaldehído y 5% de agua destilada; el uso de diciclohexylamina también protege de la oxidación, pero no en metales como el bronce y el acero<sup>3</sup>; igualmente se pueden usar vapores de alcohol-formaldehído a presión ("CHEMICLAVE")<sup>5</sup>, aunque éste requiere cerca de 30 min. a una temperatura de 132°C. (270°F.). Además, según Crawford<sup>5</sup>: "Los instrumentos protegidos por agentes químicos, pueden ser esterilizados más rápidamente en la autoclave aumentando la presión de 15 a 25 lb/inch<sup>2</sup> y, por lo tanto, aumentando de 121 a 131°C. (267°F.) la temperatura, pudiéndose hacer el ciclo de esterilización en 15 min. ó menos".

C) DESINFECTANTES QUIMICOS: A pesar de que, como ya se mencionó

anteriormente, los agentes químicos solo desinfectan pero no esterilizan, dichas sustancias se utilizan muy comunmente, ya que existen materiales utilizados en endodoncia que no pueden ser esterilizados con el calor como las puntas de gutapercha; además de poderse utilizar para esterilizar "en frío" el instrumental en condiciones especiales como por ejemplo en brigadas al medio rural, aunque utilizandolos un tiempo prolongado y siguiendo ciertas normas especiales.

Existen muy diversos agentes químicos que se pueden utilizar y que deben de cumplir los requisitos que el Council on Dental Therapeutics<sup>4</sup> especifica para los desinfectantes químicos, además de usarse correctamente en cuanto se refiere a dilución, tiempo de exposición, temperatura, pH y objeto por desinfectar<sup>19</sup>.

Debe de tenerse cuidado de introducir el instrumental perfectamente seco, para evitar diluir la solución que debe estar en un recipiente con tapa, y usar unas pinzas para introducir y retirar el instrumental. Entre los compuestos más utilizados se encuentran:

a) PREPARACIONES DE FORMALDEHIDO.- Se utilizan en soluciones acuosas del 3 al 8%<sup>14</sup>, soluciones al 8% en 70% de alcohol isopropílico<sup>4</sup> o soluciones de bórax-formaldehído<sup>16</sup>, por 20 a 30 min. Si quedan restos de la solución en los instrumentos, puede causar irritación ticular, además coagula las proteínas y no destruye las esporas<sup>16</sup>, aunque el Council on Dental Therapeutics<sup>4</sup> sostiene que por inmersión de 10 horas sinay destrucción de esporas y virus. También se ha recomendado el uso de vapores de formocresol<sup>23</sup> (formaldehído 48.5%, cresol 48.5% y glicerina 3%) en un ambiente cerrado por 16 hrs. para esterilizar conos de gutapercha, al igual que los vapores de pastillas de paraformaldehído<sup>13</sup> por 4 hrs. cuando esta seco y en 3 hrs. con paraformo humedecido. Sin embargo, Grossman<sup>5</sup> indica que para que sea efectivo el formaldehído debe estar disuelto en el protoplasma bacteriano, Nolte<sup>19</sup> asegura que el gas formaldehído produce una pelcula blanca de paraaldehído so-

bre los objetos esterilizados, y según Maurice<sup>16</sup> son necesarias ciertas condiciones para que sea efectivo, como humedad existente, que la temperatura sea mantenida a 32°C. (90°F.) ó más, el instrumental este limpio y la exposición sea prolongada.

b) PREPARACIONES MERCURIALES.- Principalmente compuestos orgánicos mercuriales<sup>1-16</sup>, como el Nitromersol N.F. en una solución acuosa con alcohol al 0.04% por 20 a 30 min. son utilizados, aunque son irritantes, corroen los metales y no destruyen las esporas<sup>21</sup>, por lo que no se utilizan en instrumental que este en contacto con sangre ó penetre en los tejidos.

También se puede utilizar el Nitromersol (TINTURA DE METAPHEN)<sup>21</sup> en una solución acuosa germicida al 1:200 durante 1 min. para esterilizar puntas de gutapercha recién sacadas de su caja y lavando el exceso de metaphen con alcohol<sup>9</sup>.

c) YODOFOROS.- El yodo es un antiséptico cutáneo muy eficaz, sin embargo, no es utilizado en la desinfección del instrumental por el daño que causa al metal (no debe estar en contacto con yodo por más de 4 hrs.) y por ser muy irritante a la mucosa.

El empleo de yodóforos, que son desinfectantes que contienen un detergente portador de yodo no iónico, los cuales forman un compuesto con un polímero de polivinilpirrolidona (PVP-I)<sup>17</sup>, disminuye el peligro de irritación, sensibilización y quemadura del yodo sin disminuir su acción; se emplea para descontaminar puntas de gutapercha por inmersión durante 6 min. anterior a su inserción en el canal radicular.

d) COMPUESTOS DE AMONIO CUATERNARIO.- Estos compuestos, se cree, actúan de diferentes maneras; como detergentes disminuyendo la tensión superficial haciendo la célula más permeable, desnaturalizando las proteínas dentro de la célula y dañando a las enzimas<sup>19</sup>. Durante mucho tiempo se utilizaron, y aún se utilizan, compuestos acuosos de esta clase, como el cloruro de benzalconio al 0.1-0.5% (ZEPHIRAN, BENZAL 6

ROCCAL), cloruro de benzatónico al 0.1%, cloruro de dibenzalconio y bromuro de cetildimetiletilamonio al 0.25%<sup>4</sup>, en los cuales se introduce completamente el instrumental por esterilizar ó las puntas de obturación durante 30 min. ó más; sin embargo, se ha comprobado que no destruye el virus de la hepatitis (HEV)<sup>4</sup> y las esporas bacterianas<sup>21-18</sup>, ablanda el caucho ó goma y es inactivado por el jabón y detergentes aniónicos. Por éstas razones, al utilizar éstos compuestos se debe lavar perfectamente el instrumental quitando la sangre, pus ó saliva, y enjuagar el jabón con agua destilada por 30 min. para evitar dejar depósitos minerales. Se aconseja añadir a la solución, nitrito de sodio al 2% para evitar la corrosión de los instrumentos<sup>19</sup> (excepto a instrumental de aluminio)<sup>10</sup>, además de usarse bajo condiciones estériles.

Para la esterilización del instrumental para conductos radiculares, se puede emplear una esponja de caucho saturada con la solución<sup>13</sup>, ó recipientes que se venden comercialmente para éste fin como el "STERIL KIT"<sup>9</sup>, en los cuales se sumergen los instrumentos, aunque un corto período de tiempo en la solución no garantiza una adecuada desinfección.

Otra precaución que debe tenerse es el renovar periódicamente la solución de acuerdo a su uso, ya que se ha comprobado que su actividad disminuye con el uso<sup>18</sup>.

e) SOLUCION DE GLUTARALDEHIDO.- Se ha comprobado que éstas soluciones antisépticas destruyen los virus<sup>18</sup> y hongos<sup>5-4</sup> usándolas de acuerdo a las especificaciones del fabricante, por lo que, aún cuando no son conocidas por la mayoría de los dentistas, en el futuro pueden tener gran difusión.

Se utiliza en solución acuosa de glutaraldehido al 2% (CIDEX), amortiguada hasta un pH básico con bicarbonato de sodio que es adicionado a la solución para su activación, también puede contener el 7% de fenol y 7% de agentes humectantes (SPORICIDIN)<sup>4</sup>. El tiempo de inmersión de los instrumentos es variable según los autores, desde 3 hrs.<sup>18</sup> hasta

10 hrs.<sup>4</sup> Entre sus desventajas se cuentan que la solución fresca puede ser irritante para los ojos, nariz ó piel de personas hipersensibles<sup>17</sup>; es necesario cambiar la solución después de 2 semanas de preparada en uso normal, ó antes según sea necesario, la necesidad de colocarse los instrumentos esterilizados en agua destilada estéril para eliminar todos los restos de solución del instrumental y después secarse con una toalla estéril. Neugeboren<sup>18</sup> recomienda para evitar la oxidación del tallo de las fresas, colocar éstas en alcohol isopropílico inmediatamente después de sacarse del glutaraldehído.

f) OXIDO DE ETILENO.- El empleo de una esterilización usando óxido de etileno a 65°C.<sup>13</sup> por 1 hr.<sup>5</sup> en un aparato herméticamente cerrado puede tener uso futuro en la práctica cotidiana, ya que tiene ciertas ventajas, como ser bactericida y esporicida, penetrar los recipientes de plástico y el papel,<sup>19</sup> sirve para esterilizar esponjas, caucho, piezas de mano, etc., ya que no es oxidante como el vapor de agua, sin embargo, el material poroso debe ser expuesto al aire por algunas horas para que se evapore el gas tóxico<sup>5</sup>, ya que es irritante para la piel y es un gas extremadamente inflamable y explosivo, aunque se puede obtener mezclas no inflamables de este gas al 10% con bióxido de carbono CARBOXIDE<sup>19</sup> ó óxido de etileno con frón<sup>20</sup>. Este método es 2 a 3 veces más costoso que el uso de la autoclave, por lo que, se puede usar un esterilizador que opera a la temperatura ambiente, pero éste requiere que los instrumentos sean expuestos al gas durante toda la noche ó durante 16 horas.

g) COMPUESTOS FENOLICOS.- Estos compuestos son usados como desinfectantes más que como esterilizantes por su irregular actividad viricida. El fenol del 1 al 3% es desinfectante, pero muy tóxico, irritante a los tejidos y daña el instrumental. Sus derivados más comúnmente usados son el cresol y el hexaclorofeno. El cresol a una dilución de 1:150 a 1:300 por 10 min. es activo contra la mayoría de los gérmenes

patógenos, pero no contra esporas ni virus, y en solución de 3 al 5% puede ser usado para desinfección de instrumental. El hexaclorofeno es un compuesto fenólico usado en solución acuosa al 1% en alcohol durante 20 a 30 min. para desinfectar instrumental que no haya tenido contacto con sangre, no es irritante ni tóxico pero no se ha comprobado su actividad contra esporas y virus<sup>16</sup>.

h) ALCOHOLES.— Principalmente etílico ó de caña, son usados muy comunmente para la desinfección dentro de la práctica odontológica; actúan disminuyendo la tensión superficial y desnaturalizando las proteínas bacterianas, sobre todo de la piel, equipo dental e instrumental. El alcohol etílico se utiliza en soluciones de 50 a 70% (sobre o por debajo de ésta concentración es menos efectivo)<sup>14</sup> por 15 a 20 min., aun que se ha comprobado que el alcohol isopropílico en solución del 30 al 80% por 15 a 20 min. es más eficaz, menos volátil, más económico y menos corrosivo para el instrumental metálico<sup>19</sup>.

Existen varios métodos más para desinfección y esterilización de instrumental que son muy poco ó nada utilizados en endodoncia por lo que no se mencionarán en ésta revisión.

## 2.- Consideraciones teóricas del esterilizador de lentes de contacto:

Este esterilizador funciona como una pequeña autoclave con vapor de agua a presión cuya fuente de calor es por corriente eléctrica (foto. 1) consiste en un pequeño aparato de forma semirectangular de aproximadamente 13 cm. de largo, 7 cm. de ancho y 7 cm. de altura.

Por ser un aparato de marca extranjera (WESLEY-JESSEN INC. Chicago, Ill.), no es posible conseguir folletos que consignen sus componentes ni manuales que informen su modo de funcionamiento, por lo que, solo se hará una somera revisión de sus partes constitutivas así como del mecanismo de acción.

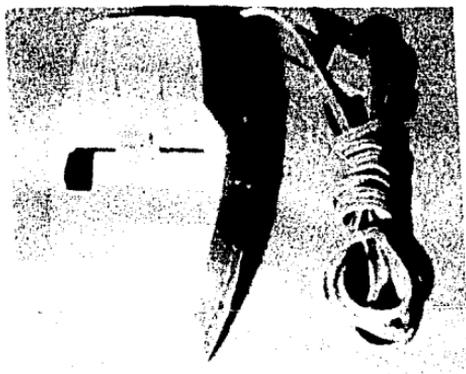
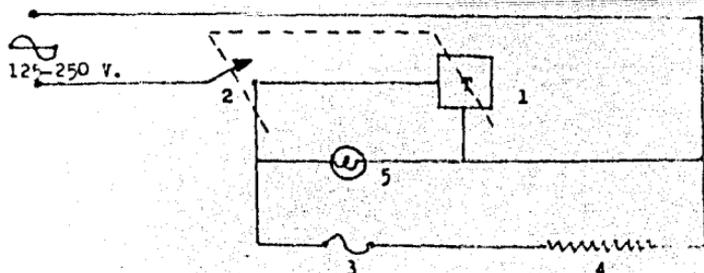


FOTO 1.- Esterilizador de lentes de contacto "DUHASOFT".

Esta formado por los siguientes componentes:

- 1.- Timer ó temporizador
- 2.- Interruptor de presión
- 3.- Fusible termomagnético
- 4.- Fuente de calor (semejante a resistencia de caudín)
- 5.- Foco piloto de neón

Su diagrama del circuito se puede expresar como sigue:



El timer está regulado para un tiempo de 30 min. de funcionamiento, después de los cuales, se desconecta el aparato automáticamente;

necesario se puede volver a pulsar el botón de encendido para otros 30 minutos.

El fusible termomagnético es un interruptor de seguridad en caso que el timer falle ó se descomponga, y aumente la temperatura hasta niveles peligrosos para el aparato; consiste en 2 placas de diferentes metales separadas por un dieléctrico, éstas placas están unidas por un pequeño imán en su parte superior por donde hay conductividad eléctrica; al aumentar la temperatura existe una distorsión en una de las placas que es proporcional a la temperatura, y cuando ésta aumenta exageradamente, se llegan a separar las placas interrumpiendo la corriente eléctrica, y por lo tanto, impidiendo que se quemé el aparato.

La fuente de calor está unida firmemente a un armazón metálico que se calienta al funcionar el aparato, y transmite el calor al estuche dentro del cual se colocan los instrumentos por esterilizar.

El foco piloto de neón color ámbar únicamente nos sirve como indicativo que el aparato está ó no en funcionamiento.

Esta autoclave cuenta también con un seguro que impide levantar la tapa del esterilizador momentos después de que empieza a funcionar.

Debe de tenerse cuidado de no sumergir el esterilizador en agua, además de tomar en cuenta que el aparato puede llegar a ponerse muy caliente al final del período de esterilización, por lo que se manejará con precaución para no quemarse.

El estuche del esterilizador trae unido a la tapa un armazón de plástico donde se colocan los lentes de contacto (FOTO 2), el cual debe ser removido de su lugar para darle cabida a los instrumentos por esterilizar.

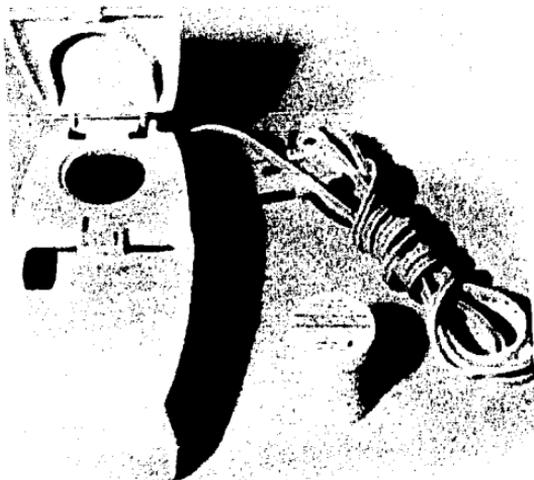
Su empleo es muy sencillo, ya que solamente se colocan los instrumentos por esterilizar dentro del estuche con que cuenta el aparato; dentro del estuche se vacía agua (de preferencia agua destilada) hasta llegar a una línea interior que trae marcado el estuche (aproximadamen



— FOTO 2.—

- A) Armazón de plástico para los lentes de contacto unido a la tapa.
- B) Armazón de plástico separado de la tapa del estuche

te 7.5 ml.), después de lo cual se cierra herméticamente y se lleva al esterilizador donde se coloca (FOTO 3), cerrando posteriormente la tapa.



— FOTO 3.— Este-

rilizador a-  
bierto donde  
se observa el  
lugar donde se  
coloca el estu-  
cne con los  
instrumentos.

Se presiona el botón ámbar de encendido hasta que la luz del foco piloto indique que el aparato está funcionando, dejándolo así hasta que después de un lapso de 30 min. se apaga la autoclave automáticamente.

Al tomar los instrumentos del estuche que los contiene, se hará con unas pinzas estériles y abriendo el estuche el mínimo de tiempo para conservar la esterilidad, aunque se recomienda reesterilizarlos de vez en cuando.

### III. GENERALIDADES BACTERIOLOGICAS:

El estudio microbiológico ha sido, desde que fué instituido en las ciencias médicas, un valioso auxiliar para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, y como auxiliar de innumerables experimentos.

Las técnicas que utiliza se basan principalmente en 2 métodos bacteriológicos: Estudios en vivo y estudios postmortem<sup>b</sup>.

Los estudios en vivo se utilizan en seres generalmente microscópicos, muy delgados y transparentes, aunque casi siempre no permite observaciones muy prolongadas. Se llevan a cabo utilizando los microorganismos, adicionados a líquidos que no ejerzan ninguna acción modificadora sobre los elementos del organismo, pudiendo ser líquidos naturales ó artificiales. El único método para poder realizar observaciones en vivo por un tiempo prolongado, es el empleo de medios de cultivo, que pueden ser naturales ó artificiales; esta técnica es muy usada para estudios dentro del área de la salud.

Los estudios postmortem se realizan en células ó tejidos, los cuales han sido muertos en condiciones controladas para conservarlos por tiempo indefinido. Este método se lleva a cabo por medio de la fijación, la cual es un proceso para provocar la muerte celular lo mas rápidamente posible, de tal manera que se conserve de la mejor forma sus características morfológicas y químicas; se realiza por agentes físicos ó sustancias químicas orgánicas ó inorgánicas llamadas fijadores, que actúan solidificando el protoplasma celular por medio de coagulación ó de precipitación.

Como el método bacteriológico más empleado en las ciencias médicas es la utilización de medios de cultivo, solo de éste método se hará mención.

### 1.- Medios de cultivo:

Los métodos para estudiar a las bacterias se basan fundamentalmente en el establecimiento de cultivos, los cuales son medios que ofrecen los elementos necesarios para la vida de los microorganismos y favorecen su desarrollo y proliferación, por lo cual deben reunir ciertas características según el microorganismo que se trate. No obstante, algunos requerimientos son comunes a cualquier microorganismo, como son: Los nutrientes, el pH, la temperatura y la aereación además de otros factores especiales como concentración salina, presión osmótica, luz, etc.<sup>8-11</sup>

Los nutrientes son la provisión de alimento necesario para conservar fuera de su medio natural a los microorganismos. Estos nutrientes son de muy diferentes tipos, pero en términos generales debe tomarse en cuenta que un medio de cultivo microbiológico debe ser: aceptor ó donador de hidrógeno, fuente de carbono, nitrógeno, sales inorgánicas, y en ciertos casos, vitaminas ó otras sustancias que favorezcan el crecimiento<sup>15</sup>(suero, sangre, etc.)<sup>24</sup>.

El pH ó concentración de hidrogeniones es muy importante para el crecimiento microbiano. La mayoría de los microorganismos se desarrollan en un rango de pH limitado, y generalmente comprendido entre el pH de 6 a 8<sup>7</sup>. Sin embargo, existen bacterias que su ideal de pH es tan bajo como un valor de 2, ó tan alto como de 6.5. Este valor de pH se obtiene por medición colorimétrica del medio, y se ajusta al pH óptimo agregando gota a gota con una pipeta graduada, una solución de hidrato de sodio si la reacción es ácida, ó solución de ac. clorhídrico si la reacción es alcalina<sup>7</sup>.

La temperatura a la que se mantiene el medio es también importante para el buen desarrollo microbiano, siendo muy variable en cuanto a su punto óptimo según el microorganismo por estudiar. Existen microorganismos que crecen entre 15-20°C., otros lo hacen mejor entre 30 y 37°C.

y otros más se reproducen mejor entre 50-60°C. Sin embargo, se considera que las bacterias de vida libre crecen mejor a 30°C. y las bacterias parásitas de animales requieren de 37°C. para su completo desarrollo.

La aireación ó tensión de oxígeno es un factor que debe tenerse en cuenta en los medios de cultivo, ya que existen organismos de respiración aerobia, otros son anaerobios facultativos y otros más son anaerobios obligatorios, por lo que debe de tomarse en cuenta de acuerdo a los microorganismos que se desea se reproduzcan.

La provisión de aire a los cultivos se realiza agitando mecánicamente el medio para introducir oxígeno, ó bien forzándolo a través del medio por presión ó por succión.<sup>11</sup> En cambio, para lograr la exclusión del oxígeno del medio de cultivo, se puede realizar por varios métodos como son <sup>1-15</sup>: Agregando pequeñas cantidades de agar al medio líquido (nos dará varios niveles de tensión de oxígeno para que se desarrollen aerobios, anaerobios y facultativos)<sup>25</sup>, adición de tejidos animales frescos al medio<sup>11</sup>, cultivando en la presencia de organismos aeróbicos, adición de una sustancia reductora al medio como el tioglicolato de sodio, desplazamiento del aire por dióxido de carbono, absorción del oxígeno por evacuación ó por sustancias químicas, removiendo el oxígeno por oxidación directa de sustancias fácilmente oxidables como la llama de una vela, sellando los tubos con vaselina ó parafina, etc.

En menor grado, es necesario controlar factores como la presión osmótica y la concentración salina, ya que la mayoría de los microorganismos no necesitan condiciones especiales en cuanto a éstos factores.

Además, hay dos factores que deben tenerse en cuenta respecto a las condiciones generales del medio: Este debe ser estéril<sup>1</sup>, para que solo se desarrollen los microorganismos inoculados, y la contaminación externa debe ser prevenida tapando los tubos del medio de cultivo con algodón no absorbente antes de la esterilización al autoclave; aunque

para evitar ésto, se expenden en el comercio tubos con medio de cultivo estéril, con tapas plásticas de rosca que permiten mantener el medio almacenado por tiempo prolongado sin alteración.

En términos generales, se consideran de 3 tipos los medios de cultivo<sup>7</sup>: medios de cultivo naturales, medios artificiales ó preparados (pueden ser adicionados a los medios naturales), y medios especiales; a su vez, éstos tipos de medios pueden ser líquidos ó sólidos, pudiendo haber diversos grados entre ellos.

Los medios líquidos se emplean con frecuencia para permitir la competencia y, en consecuencia, la selección máxima aun cuando el microorganismo que se reproduzca esté en pequeñas cantidades en el medio.

Los medios sólidos ó semisólidos se utilizan para obtener colonias aisladas ó de cultivos puros de diferentes microorganismos, ya que éstos no se dispersan por el medio siendo más fácil recordarlos.

La técnica microbiológica usada y el tipo de medio de cultivo seleccionado, dependen de la finalidad ó naturaleza de la investigación; pero en general, se consideran tres finalidades distintas<sup>d-11</sup>: determinación del tipo y abundancia de microorganismos en un material dado, "cultivación" de un tipo de células de una especie particular que se tiene a la mano, ó se puede detectar aislar una cepa particular de microorganismos de su ambiente natural.

Para la determinación del tipo y abundancia de microorganismos en un material dado, muestras de éste material se sembrarán en placas de tantos medios y condiciones de incubación diferentes como sea posible, y se recomienda sobre todo los medios sólidos de cultivo.

Para el crecimiento celular de una especie dada, es menester utilizar un medio y condiciones de incubación que reproduzcan lo mejor posible, las condiciones que el organismo encuentra en su ambiente natural.

En cuanto al aislamiento de un tipo particular de microorganismos, se utilizan los llamados "cultivos de enriquecimiento", que favorecen

el crecimiento de un tipo de microorganismos, a la vez que inhibe el crecimiento de otros, al igual que se utilizan las "rosiembras" sucesivas del tipo bacterial por aislar, para conseguir un cultivo de los llamados "puros" de éste microorganismo.

Para estudios que se realicen con cepas bacterianas provenientes, ó del mismo tipo, de las que se encuentran en los conductos radiculares, se recomienda utilizar medios de cultivo como el caldo infusión cerebro-corazón con 0.1% de agar, caldo glucosa-ascitis y caldo soya tripticosa con 0.1% de agar<sup>9-13</sup>.

Se pueden utilizar sustancias cromáticas adicionadas al medio de cultivo<sup>1</sup>, las cuales se basan en que los microorganismos cambian el pH del medio desde 7.0-7.4 a 5.4-4.8, aunque son inseguros y muy poco usados. Uno de éstos métodos es el de Prader<sup>13</sup> que consiste en preparar un caldo para anaerobios con indicador cromático de púrpura de bromocresol, alterándose el color por la presencia de bacterias pasando del púrpura al amarillo<sup>9</sup>.

También se puede adicionar al medio de cultivo, sustancias conocidas como inactivadores, que son agentes químicos que neutralizan el efecto antibacteriano de un desinfectante ó antibiótico, y permite así la proliferación microbiana; por ejemplo: El tiglicolato sódico actúa contra los antisépticos mercuriales, el tiosulfato sódico contra el cloro, el cloruro férrico contra el fenol, el ac. paraaminobenzoico (PPA) contra las sulfamidas, el tamol N ó la suramina sódica contra los compuestos de amonio cuaternario, la penicilinasu contra la penicilina, la hidroxilumina contra la estreptomocina, etc.<sup>9</sup>

## 2.- Reglas para un cultivo bacteriológicos

En cualquier trabajo de microbiología, es necesario considerar ciertas normas básicas, las cuales deben de observarse, tanto para que el estudio se realice sin problemas como para evitar contaminar el

Área de trabajo, sobre todo si se emplean cultivos bacteriológicos.

Estas reglas básicas pueden sintetizarse en las siguientes<sup>4</sup>:

- 1.- Se deben manejar con cuidado las muestras evitando derrames y daños.
- 2.- No se deben llevar las manos a la boca ni comer hasta después de haberse lavado las manos a conciencia, además de que nunca se debe comer en una habitación en la cual se realizan trabajos de microbiología.
- 3.- Se debe usar un delantal o bata limpia y cambiarla cuando se ensucia, además de desinfectar todos los recipientes de vidrio y las áreas de trabajo después de haber terminado las tareas, ó cuando se derraman sustancias contaminadas.
- 4.- Todos los compuestos químicos sólidos se deben manejar con papel seco, no con las manos.
- 5.- Se debe decidir que instrumentos serán necesarios para efectuar un experimento completo, y reunirlos en un lugar antes de empezar.
- 6.- Se debe determinar un método de trabajo antes de iniciar cualquier experimento, seguirlo y tener conciencia de los factores que pueden influir en el resultado. (Un frasco cerrado herméticamente puede explotar si las bacterias ó los mohos están fermentando azúcares).
- 7.- Siempre se debe llevar un registro de lo que se está haciendo y de lo que se ha hecho. Cuando sea posible, se deben trazar gráficas y hacer dibujos.
- 8.- Se debe mantener limpio el instrumental y los registros ordenados y convenientemente guardados.
- 9.- Si se pone el tubo con medio de cultivo en posición vertical poco tiempo antes de utilizarlo, el medio se escurre de la parte superior y disminuye el riesgo de contaminarlo al abrirlo<sup>25</sup>.

10.- Siempre, para abrir los tubos con medio de cultivo estéril, se debe mantener una atmósfera estéril, trabajando lo más cerca posible de la llama de un mechero de gas, para evitar una contaminación externa con bacterias del medio ambiente<sup>6</sup>.

Cuando se utilizan pequeños instrumentos ó puntas de papel absorbentes para hacer los cultivos bacteriológicos, hay que tener en cuenta los errores que pueden ocasionar cultivos positivos falsos, y que, en términos generales son<sup>7</sup>:

- 1.- Material para toma de muestra contaminado.- Los instrumentos ó las puntas absorbentes deben de introducirse en el esterilizador de bolitas de vidrio, sal caliente ó aire caliente en su totalidad, y no únicamente su extremo fino antes de usarlos en el experimento. Además debe dejarse en el esterilizador el tiempo suficiente para su esterilización, pero sin llegar a quemarse ó deformarse.
- 2.- Mordientes de las pinzas contaminados.- Las pinzas para introducir los instrumentos ó las puntas de papel al medio de cultivo, deben estar estériles, y los mordientes deben reesterilizarse en alcohol, a la llama ó en el esterilizador de sal caliente inmediatamente antes de su empleo.
- 3.- Tapón de algodón contaminado.- Al flamear el tubo, hay que procurar hacer caer el instrumental ó la punta absorbente hasta el fondo, el tubo accidentalmente puede inclinarse demasiado y poner el medio de cultivo en contacto con el tapón de algodón.
- 4.- Contaminación del borde del tubo.- Debe flamearse la boca del tubo al quitar el tapón de algodón antes de introducir el instrumental, y después de introducir éste, antes de colocar nuevamente el tapón de algodón.
- 5.- Demora.- Para evitar la contaminación por bacterias del aire, el material con que se tomó la muestra deberá introducirse lo

más rápidamente posible en el tubo de cultivo.

c.- Soplar el tapón de algodón.- A veces se deja demasiado tiempo el tapón de algodón sobre la llanta, y cuando el algodón se enciende se sopla para apagarlo. Para evitar esto, el tapón de algodón debe pasarse rápidamente sobre la llama.

### 3.- Incubación:

Como ya se mencionó anteriormente, se considera que las bacterias parásitas del hombre necesitan una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ . ( $98.6^{\circ}\text{F}$ .) para que se desarrollen más rápidamente y sin problemas, ya que ésta es semejante a la temperatura del cuerpo humano<sup>11</sup>. Aunque se ha comprobado que algunas bacterias como los estafilococos forman mejor su pivento a los  $20^{\circ}\text{C}$ ., y los enterococos del grupo D crecen bien a temperaturas entre  $15$  a  $45^{\circ}\text{C}$ .<sup>11</sup>; por lo que se deberá escoger la temperatura óptima para incubar las bacterias de acuerdo al tipo de éstas ó al trabajo por realizar.

Para lograr éstas temperaturas, se utilizan las estufas de cultivo las cuales sirven para mantener una temperatura constante, necesaria para el crecimiento microbiano.

Las bacterias, una vez sembradas en el medio, se deberán colocar en la estufa de cultivo lo más rápidamente posible y dentro de un máximo de 3 horas después<sup>23</sup>, ya que de no hacerlo, traería consigo la muerte microbiana y por consiguiente, la investigación por realizar no tendría validez.

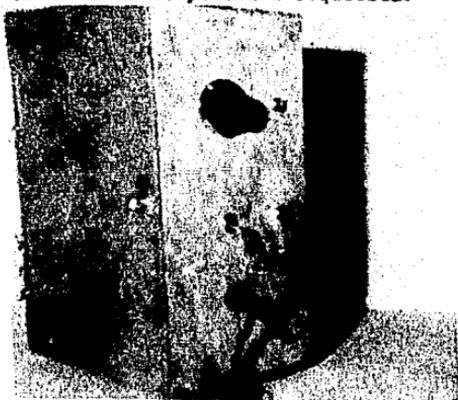
En cuanto al tiempo que deben mantenerse en incubación los tubos de cultivo, la mayoría de los gérmenes patógenos necesitan aproximadamente de 24 a 48 hrs. para empezar a demostrar crecimiento macroscópico y con 72 hrs. se considera suficiente tiempo de incubación<sup>13</sup>; sin embargo, existen cepas bacterianas de lenta incubación, que necesitan una semana<sup>8</sup> para desarrollarse en tal número que sea evidente macroscó-

picamente el crecimiento microbiano.

#### A) DISEÑO DE UNA ESTUFA DE CULTIVO DE CONSTRUCCION CASERA:

Se han ideado multitud de estufas para incubar microorganismos, como utilizar un termo con agua caliente y provisto de un termómetro<sup>1</sup>, emplear una incubadora para yogurt, utilizar la incubadora de construcción casera en una caja metálica ideada por Grossman<sup>2</sup>, ó utilizar las pequeñas estufas bacteriológicas que se venden en el comercio para uso dental<sup>25</sup>.

Sin embargo, como la mayoría de los anteriores tipos de incubadoras no son muy confiables ó es muy difícil conseguir sus componentes, a la vez que, las que se expenden comercialmente son muy caras, se realizó la construcción de una estufa de cultivo de construcción casera (FOTO 4) con capacidad para 20 tubos de ensaye, que está provista de un termostato adaptable a temperaturas de 15 a 120°C. y con paredes refractarias al calor, para evitar la disipación calórica para que sea mantenido el nivel de temperatura requerida.



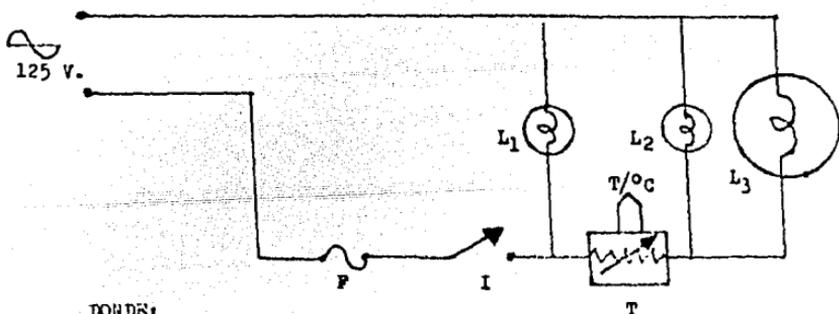
— FOTO 4.— Estufa de cultivo de construcción casera. Vista exterior.

Está fabricada con los siguientes componentes:

- 1 Caja metálica de herramientas de 30 x 11 x 13 cm.
- 1 Termómetro tipo reloj

- 1 Termostato Robertshaw tipo B10 con rango de 15-120°C.  
de bulbo corto
  - 1 Switch de palanca 1 polo 1 tiro
  - 2 Focos pilotos de neón de 125 v.
  - 1 Block Socket de porcelana
  - 1 Foco de 25 w.
  - 1 Portafusible de rosca con fusible de 0.5 A. a 117 v.
  - 1 Placa de unicel de 2 cm. de grueso
  - 2 Bisagras con tornillos
  - 1 Jaladera cromada
  - 4 Patitas de plástico
  - 1 Caja exterior de madera y fibracel
- Cable duplex con clavija.

Su diagrama del circuito se puede expresar como sigue:



DONDE:

F - Fusible de 0.5 A. a 117 v.

I - Switch de palanca

T - Termostato tipo B10

L1 - Foco piloto de encendido general

L2 - Foco piloto de calentamiento

L3 - Fuente de calor (Foco de 25 w.)

Dentro de la caja metálica de herramientas se coloca la fuente de

calor (lámpara de 25 w.), al igual que una especie de rejilla para colocar los tubos de ensayo (FOTO 5).

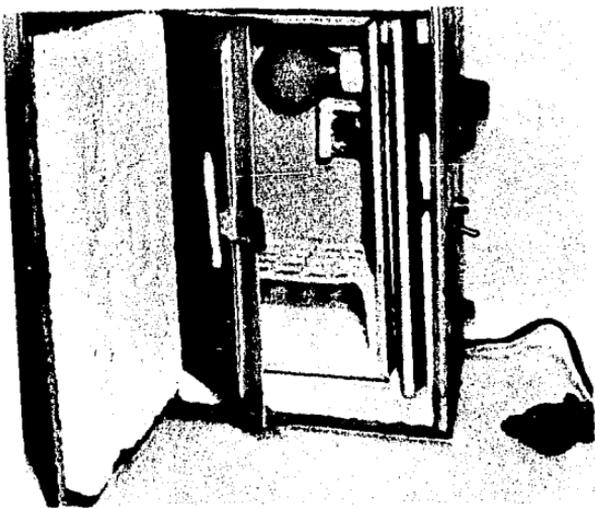


FOTO 5.-  
Estufa de  
cultivo de  
construc-  
ción casera.  
Vista inter-  
rior.

Recubriendo la caja metálica se coloca el aislante térmico (placa de unisol) para evitar la pérdida de calor, y por último se fabrica una caja de madera provista de una puerta que ajuste perfectamente para impedir todavía más la disipación calórica, además de disponer en un costado de ella (FOTO 6) del control de reloj del termostato, el switch de encendido, el funible y los dos focos piloto para que sea de muy fácil manipulación la estufa de cultivo que al final queda de un tamaño aproximado de 37 x 23 x 19 cm.

Otra ventaja es que dependiendo del microorganismo por incubar, se puede disponer de un ambiente con luz ó con obscuridad solamente quitando ó poniendo sobre el foco una cubierta hecha con cartoncillo negro que no permitirá que haya luz sin impedir al calor que se desprende del foco (ver foto 20).



FOTO 6.- Vista lateral de la estufa de cultivo.

#### 4.- Interpretación del cultivo:

Después de haberse incubado lo medios de cultivo, es importante poder identificar la presencia ó ausencia de bacterias dentro del medio, ya que nos servirá como medida del crecimiento microbiano.

Este crecimiento puede medirse en términos de la concentración celular (número de células por unidad de volumen de cultivo) ó de la densidad celular (peso seco de las células por unidad de volumen de cultivo)<sup>11</sup>. Para estudios de Bioquímica ó Nutrición, la densidad celular es el parámetro importante, aunque para estudios de inactivación microbiana lo importante es la concentración celular.

Cuando se quiere conocer este parámetro de concentración celular, se puede emplear medios líquidos ópticamente diáfanos, que después de incubados se observan en repetidas pruebas de densidad óptica (incapacidad para transmitir la luz)<sup>24</sup>, para encontrar modificaciones en el medio como enturbiamiento, sedimento, velo ó desarrollo superficial, etc.<sup>7</sup>.

El número de microorganismos dentro del tubo de cultivo es de gran importancia, ya que se ha demostrado que se necesita una concentración celular específica, para que sea evidente el crecimiento en un volumen dado y en un tiempo establecido. Por ejemplo: Se necesitan por lo menos 10 *Escherichia Coli* por mililitro de caldo de cultivo para poder producir turbidez en el tubo. Sin embargo, por razones que no se conocen, el crecimiento microbiano cesa cuando una población se aproxima a mil millones de células por mililitro de medio de cultivo<sup>24</sup>.

Cuando se examina un tubo con medio de cultivo para observar si existe desarrollo microbiano, deberá ser observado de cerca y colocado contra un fondo oscuro ó a contraluz para acentuar la turbidez, si es que existe. Dicha turbidez indicará que existe crecimiento bacterial y se considerará que está positivo; en cambio, si el medio de cultivo permanece transparente, significará que está estéril y no hubo crecimiento bacterial por lo que se considerará cultivo negativo.

En los casos que exista duda, se colocará junto al tubo incubado, otro que contenga el medio de cultivo estéril para compararlos y no emitir un juicio falso<sup>25</sup>.

El tubo de ensaye que muestre un crecimiento bacterial denso y espumoso en la superficie del medio, suele indicar una contaminación exógena por bacterias del aire. Incluso en los casos que no haya crecimiento alrededor de las puntas de los instrumentos, pero exista crecimiento nebuloso en la parte superior del medio, el cultivo se considerará positivo, ya que las bacterias del aire crecen rápidamente y terminan con los elementos nutritivos del medio, con lo que inhiben el crecimiento de las bacterias patógenas que existen en el instrumental.

A veces suele formarse un precipitado blanco en el fondo del tubo mientras que el resto del medio permanece claro, lo que indicará que existe crecimiento bacteriano, ya que si se agita el tubo ligeramente, se enturbiará todo el medio de cultivo.

Siempre hay que tener presente, en la interpretación de los cultivos, que la intensidad del enturbiamiento del medio líquido, no orienta mucho sobre el número de gérmenes presentes, ya que algunas bacterias crecen más lentamente que otras, además de que el examen macroscópico por sí solo, no permite determinar los tipos de microorganismos que se hallen presentes. No obstante, en el caso de emplear los medios de cultivo sólidos ó semisólidos, como ya se mencionó anteriormente, las colonias bacterianas no se dispersan sino que permanecen compactas y aisladas, lo que nos permite observar las características de éstas en cuanto a su forma, tamaño, elevación, superficie, transparencia, estructura, borde, color, consistencia, etc.<sup>7</sup>, lo que nos dará una guía para conocer el tipo de microorganismos existentes, aunque la forma más confiable para conocer el tipo bacteriano presente, es el estudio microscópico de las colonias por medio de lo frotis con colorantes y con "resiembras" sucesivas de la colonia por estudiar para obtener cultivos "puros", a los cuales se les someten a las técnicas microbiológicas para aislamiento e identificación de microorganismos<sup>1-3-11</sup>.

#### IV. METODOS Y PROCEDIMIENTOS EMPLEADOS:

Esta investigación se llevó a cabo en instrumental previamente uti-lizado en paciente, lo cual comprobó la eficacia del método de esterilización estudiado como descontaminante de las bacterias presentes en el canal radicular, y se comparó su acción con un método de esterilización ya conocido como es el calor seco.

El material utilizado se compuso de: Material de cristalería, olla de presión empleada como autoclave, mechero de gas, estufa de cultivo, medios de cultivo, instrumental para conductos radiculares, agua destilada, nitrito de sodio, yoduro de almidón, guantes de cirujano, pinzas de disección, papel aluminio y cámara fotográfica.

El material de cristalería consta de: 2 frascos de boca ancha chicos, 3 frascos de boca ancha de 200 ml. de capacidad, 3 probetas, 3 agitadores de vidrio y 10 tubos de ensaye (FOTO 7); todos los cuales se lavaron y limpiaron de acuerdo a las reglas establecidas para cualquier trabajo en microbiología<sup>8</sup>.



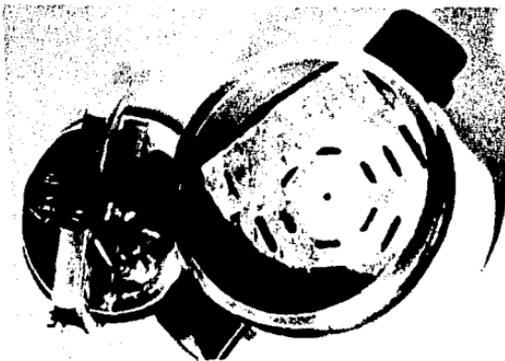
—FOTO 7.— Parte del material empleado: 3 probetas, 3 frascos de boca ancha y 1 lt. de agua destilada.

La olla de presión empleada como autoclave es una de tipo doméstico (FOTO 8), utilizada de acuerdo a las precauciones de uso de éstos aparatos en bacteriología<sup>8-25</sup>, y a la cual se le adaptó una parrilla metálica a cierta altura (FOTO 9), para que solamente el vapor de agua estuviera en contacto con los tubos de ensaye por esterilizar. Además se utilizaron tiras de papel impregnados con una solución de yodo en suspensión en engrudo de almidón (también llamado yoduro de almidón)<sup>22</sup>, como papeles testigos de la esterilización.



—FOTO 8.— Olla de presión doméstica usada como autoclave.

FOTO 9 —————  
Parrilla interior de la olla de presión.



El mechero de gas ó de Bunsen se empleó adaptándolo a un tanque de lámpara de gas de 4 kilos de capacidad (FOTO 10), por medio de una conexión para estufa de gas y cuidando que no hubiera fugas en ninguna conexión.



FOTO 10.— Mechero de bunsen con su tanque de gas.

Los medios de cultivo que se emplearon para verificar la presencia ó ausencia de microorganismos viables sobre los instrumentos después de la esterilización y, por lo tanto, comprobar la eficacia esterilizante de los métodos empleados fueron los siguientes:

- 1) Agar infusión cerebro-corazón
- 2) Medio fluido de Tioglicolato
- 3) Caldo líquido de Sabouraud

Dichos medios de cultivo se escogieron ya que el Agar infusión cerebro-corazón es el medio más comúnmente empleado para el crecimiento de los microorganismos del canal radicular<sup>9</sup>, también por tener una consistencia semisólida por el agar existe crecimiento microbiano evitando la competencia, además que es un medio recomendado<sup>15</sup> para la cultivación de bacterias patógenas difíciles de cultivar como estreptococos, neumococos, hongos y muchos otros microorganismos.

# TESIS DONADA POR D. G. B. - UNAM

Los otros dos medios de cultivo (FOTO 11) forman parte de la lista de medios usados para pruebas de esterilidad, especificados por el NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH en su circular "Culture media for the sterility test"<sup>15</sup>, y nos servirán para cubrir la totalidad de los microorganismos patógenos que son de importancia para producir una contaminación cruzada, a excepción de los virus, ya que el Medio fluido de Tio-glicolato es recomendado como un medio líquido para la cultivación de anaerobios y unos cuantos aerobios sin precauciones especiales de incubación, y el Medio líquido de Sabouraud es recomendado como un medio líquido para la cultivación de hongos, levaduras y bacterias acidófilas, aunque particularmente es usado para la detección de hongos en pruebas de esterilidad.



FOTO 11.— Medios de cultivo deshidratados, yoduro de almidón, nitrito de sodio, pinnas, agitadores de vidrio y una cucharilla metálica.

Estos medios de cultivo se expenden comercialmente en forma deshidratada y pulverizada, por lo que deberá rehidratarse el medio de cultivo en la proporción que indica el fabricante; en éste caso, se utilizaron medios DIFCO empleándose para su hidratación solo agua destilada y siguiendo las especificaciones incluidas en el "DIFCO Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures"<sup>15</sup> en cuanto a proporción de agua, condiciones para la rehidratación y esterilización del medio de cultivo. Se prepararon

6 tubos de ensayo con 10 ml. de cada medio de cultivo, a excepción de los de Tioglicolato que contenían 15 ml. de medio cada tubo de ensayo.

Se emplearon para éste estudio, instrumental para conductos radiculares nuevos, de marcas que se expenden comercialmente como son "MICRO MEGA" y "COLORINOX"; se utilizaron 42 instrumentos divididos en 24 limas tipo K y 18 ensanchadores, ya que son los tipos de instrumental más utilizados en la terapia radicular.

Este instrumental se utilizó en 2 pacientes para la preparación biomecánica de un conducto radicular en cada uno con necrosis pulpar, y siguiendo el método usual de tratamiento<sup>9</sup>.

Una vez utilizado, cada instrumento se depositó en un frasco chico de boca ancha con tapa de cierre hermético que fué desinfectado su interior con un algodón impregnado con alcohol, y conteniendo una esponja humedecida en agua destilada para mantener la humedad. Cuando se tuvieron los 42 instrumentos, se procedió a lavarlos durante 20 seg. cada uno con un cepillo con jabón y enjuagándolos con agua corriente.

Posteriormente se dividieron en 3 grupos, procurando que cada grupo contuviera instrumental utilizado de cada uno de los pacientes: El primer grupo estuvo formado por 6 instrumentos que se utilizaron como grupo control, el segundo y tercer grupo se compusieron de 18 instrumentos cada uno que se esterilizaron en el método de prueba (esterilizador de lentes de contacto) y en el método de referencia (esterilizador de calor seco), después de lo cual se realizó el estudio dividido en dos fases:

FASE I. Para obtener tubos de ensayo control:

A) Se procedió a tomar al azar un tubo de ensayo de cada uno de los medios de cultivo ya preparados, el cual se incubó en la estufa de cultivo a 37°C. por 7 días para comprobar la esterilidad del medio, ya que en caso de existir crecimiento bacteriano en todos los tubos de ensayo, puede deberse a que está contaminado el medio de cultivo.

B) Utilizando unos guantes y pinzas estériles, se tomaron cuidadosamente los 6 instrumentos (3 de cada paciente) del primer grupo de instrumentos y se introdujeron, en presencia de un medio ambiente estéril, dos en un tubo de cada medio de cultivo, los cuales se incubaron igualmente a 37°C. por 7 días y sirvieron para verificar la contaminación presente en el instrumental, porque, en caso de no existir crecimiento microbiano en ningún tubo de ensaye, pudo deberse a que el instrumental no estuvo lo suficientemente contaminado como para producir crecimiento macroscópico, ó que el medio de cultivo no sea favorable para el crecimiento bacteriano por algún defecto ó error en su fabricación ó rehidratación.

#### FASE II. Determinación de la eficacia y tiempo óptimo para la esterilización:

Empleando también unos guantes de cirujano estériles al igual que las pinzas, se tomaron cuidadosamente los instrumentos restantes y se esterilizaron de la siguiente manera:

A) CON CALOR SECO.- Se envolvieron los 18 instrumentos (9 de cada paciente) del segundo grupo cuidadosamente en papel de envoltura, en paquetes separados (de 2 instrumentos c/u.) y cubiertos con una pequeña toalla para que no hubiera contaminación posterior, colocándose en un esterilizador de calor seco CAISA a una temperatura de 150°C. Se retiraron 9 instrumentos a intervalos de 30 y 60 min. marcándose como grupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> respectivamente.

B) CON CALOR HUMEDO.- Se colocaron los restantes 18 instrumentos del tercer grupo dentro del estuche hermético con que cuenta el esterilizador para lentes de contacto DURASOFT, el cual es de funcionamiento automático durante 30 min. y añadiendo en lugar de agua simple, una solución de agua destilada con 1% de nitrito de sodio para evitar la oxidación. Se retiraron 9 instrumentos al término de uno y dos períodos automáticos de esterilización, marcándose como grupos B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> res-

pectivamente.

Posteriormente se transfirieron los instrumentos asépticamente a los tubos de ensayo que contenían los medios de cultivo estériles, introduciendo 3 instrumentos del mismo grupo por tubo, ya que se consideró que poniendo 2 ó más instrumentos en los tubos, se aumentan las probabilidades de que existan microorganismos en cualquiera de los instrumentos y sean más válidos los resultados.

Para transferirlos asépticamente, se llevó a cabo en varias etapas que se pueden resumir en las siguientes<sup>d</sup>:

- 1) Se toma con una mano el tubo con el medio de cultivo y con la otra unas pinzas de disección estériles.(FOTO 12).



—FOTO 12.

- 2) Se quita la envoltura de papel aluminio que cubre la boca del tubo sin quitar el algodón con que está tapado, al tiempo que se flama la punta de las pinzas de disección estériles (FOTO 13).
- 3) Con las pinzas se toma el instrumento que se vaya a sembrar de los paquetes (grupo A) ó del estuche (grupo B) donde permanece, procurando mantenerlo cerca de la flama sin quemarlo (FOTO 14).

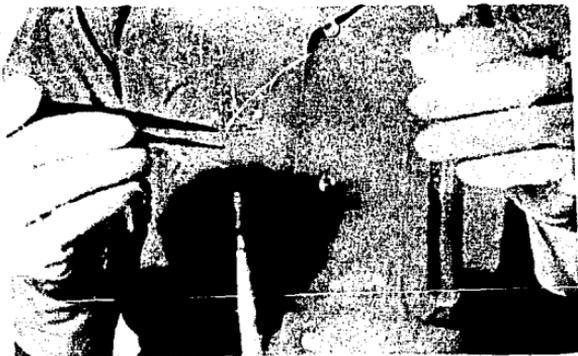


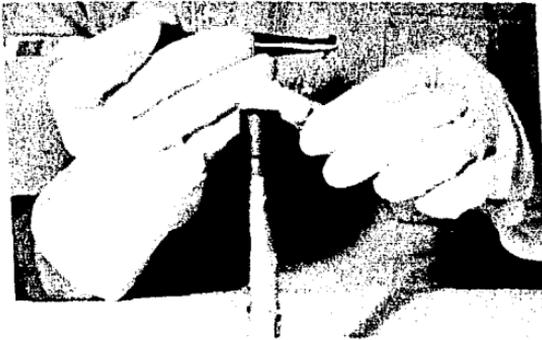
FOTO 13



FOTO 14

- 4) Con la misma mano que sostiene la pinza, se destapa el tubo de ensaye tomando el tapón con los dedos anular y meñique ó el meñique y la palma de la mano, flameando la boca del tubo (FOTO 15).
- 5) Se introduce el instrumento al tubo de ensaye procurando que caiga hasta el medio de cultivo (FOTO 16).
- 6) Se flama ligeramente el tapón de algodón y la boca del tubo de ensaye (FOTO 17), después de lo cual se tapa con el algodón (FO

TO 18).



— FOTO 15

FOTO 16 —



— FOTO 17

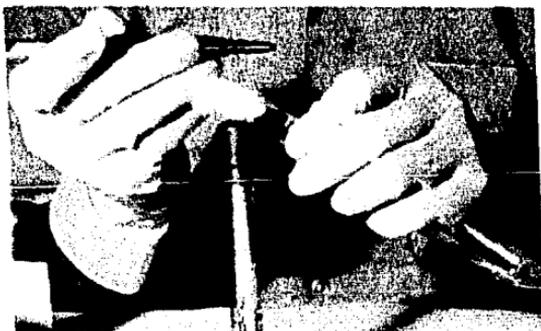


FOTO 18

- 7) Todos los pasos mencionados se deben procurar hacer lo más rápidamente posible y lo mas cerca de la flama del mechero, pero procurando no quemar los tapones de algodón ni las manos, ni dejar caer los tapones a la mesa ó al suelo (FOTO 19).



FOTO 19.-  
Instrumentos depositados en el medio de cultivo.

Para evitar un poco más la contaminación externa, se volvió a cubrir las bocas de los tubos de ensaye con papel de aluminio estéril, etiquetando cada tubo de acuerdo al tipo de medio de cultivo utilizado y al grupo de instrumental introducido en él.

Una vez "sembrados" todos los tubos de ensaye, se colocaron en la estufa de cultivo a una temperatura de 37°C. durante 7 días (FOTO 20), donde se observó si existían ó no, bacterias que continuaron viables después de la esterilización.

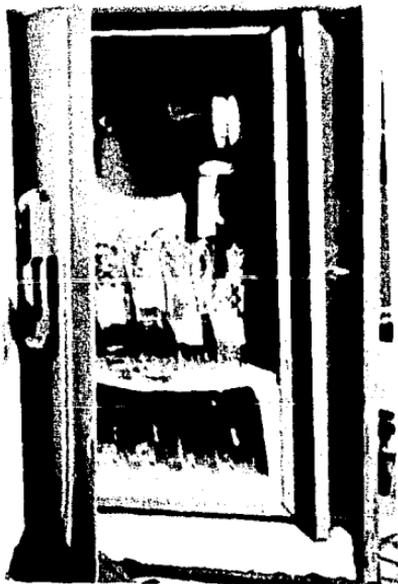


FOTO 20.- Tubos de ensaye, con medios de cultivo con el instrumental, colocados en la estufa de cultivo.

## V. RESULTADOS :

Los tubos, una vez colocados en la estufa de cultivo, se observaron diariamente para encontrar en que tubos de ensaye hubo crecimiento y en cuales no lo hubo.

Los tubos de ensaye que contenían los medios de cultivo preparados para esta investigación dejados sin sembrar, y que fueron usados como tubos control del medio, permanecieron transparentes y sin crecimiento bacteriano durante los 7 días de incubación, lo que comprueba la esterilidad del medio de cultivo.

A su vez, los tubos con medio de cultivo en los cuales se introdujeron instrumentos contaminados sin esterilizar, y que fueron utilizados como tubos control de la contaminación del instrumental, demostraron crecimiento bacteriano macroscópico en todos los casos y desde el primer día de incubación, demostrándose la contaminación del instrumental y la capacidad del medio de cultivo para favorecer el crecimiento bacteriano.

El crecimiento demostrado por los demas tubos de cultivo durante el transcurso de los 7 días de incubación se expone en la tabla I.

T A B L A I.

		24 HRS.				48 HRS.			
		CAISA		DURASOPT		CAISA		DURASOPT	
medio de cultivo	tiempo	30	60	30	60	30	60	30	60
SACCHARUM		-	-	-	-	-	-	+	-
TIOGLICOLATO		+	-	-	-	+	-	+	+
CEREBRO-CORAZON		-	-	+	-	-	-	+	-

		72 HRS.				96 HRS.			
		CAISA		DURASOPT		CAISA		DURASOPT	
medio de cultivo	tiempo	30	60	30	60	30	60	30	60
SACCHARUM		-	-	+	-	-	-	+	-
TIOGLICOLATO		+	-	++	+	+	-	+++	+
CEREBRO-CORAZON		-	-	+	-	-	-	++	-

120 HRS.

medio de cultivo	tiempo	CAISA		DURASOFT	
		30	60	30	60
SAFOURAUD		-	-	+	-
TIOGLICOLATO		+	-	+++	+
CEREBRO-CORAZON		-	-	++	-

144 HRS.

medio de cultivo	tiempo	CAISA		DURASOFT	
		30	60	30	60
SAFOURAUD		-	-	+	-
TIOGLICOLATO		+	-	+++	+
CEREBRO-CORAZON		-	-	++	-

168 HRS.

medio de cultivo	tiempo	CAISA		DURASOFT	
		30	60	30	60
SAFOURAUD		-	-	+	-
TIOGLICOLATO		+	-	+++	+
CEREBRO-CORAZON		-	-	++	-

DONDE:

- = No hubo crecimiento
- + = Ligero crecimiento
- ++ = Moderado crecimiento
- +++ = Abundante crecimiento

El efecto de los métodos de esterilización utilizados (POTOS 21, 22 y 23), tanto el método de prueba (calor húmedo) como el método de referencia (calor seco) sobre el crecimiento microbiano, queda demostrado en la tabla II.

TABLA II.

medio de cultivo	efecto	GRUPO A <sub>1</sub>		GRUPO A <sub>2</sub>	
		CRECIMIENTO	NO CRECIMIENTO	CRECIMIENTO	NO CRECIMIENTO
SAFOURAUD			+		+
TIOGLICOLATO		+			+
CEREBRO-CORAZON			+		+

medio de cultivo	efecto	GRUPO B <sub>1</sub>		GRUPO B <sub>2</sub>	
		CRECIMIENTO	NO CRECIMIENTO	CRECIMIENTO	NO CRECIMIENTO
SAFOURAUD		+			+
TIOGLICOLATO		+		+	
CEREBRO-CORAZON		+			+

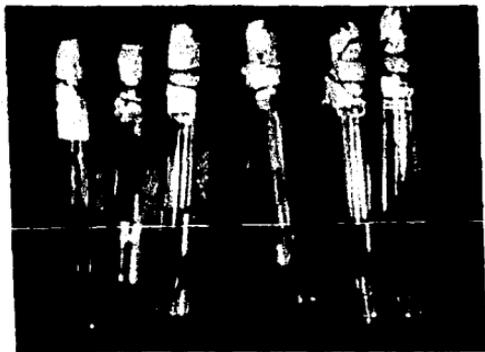


FOTO 21.- Caldo líquido de Sabouraud después de 7 días de incubación. De izquierda a derecha: Tubo control del medio, control de contaminación, Durasoft 60 min., Durasoft 30 min., Caixa 60 min., Caixa 30 min.

FOTO 22 —  
Medio fluido de Trioglicolato después de 7 días de incubación. De izquierda a derecha: Control del medio, control de la contaminación, Caixa 60 min., Caixa 30 min., Durasoft 30 min., Durasoft 60 min.



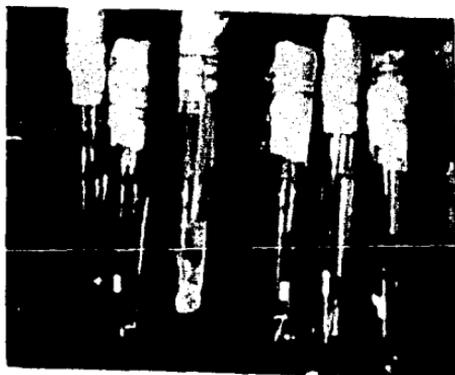


FOTO 23.- Agar infusión cerebro-corazón después de 7 días de incubación. De izq. a der: Control del medio, control de contaminación, Durasoft 30 min., Caísa 30 min., Caísa 60 min.

La eficacia de los métodos esterilizantes empleados sobre los microorganismos presentes en el canal radicular, quedó establecida en la tabla III.

T A B L A I I I .

	INSTRUMENTOS UTILIZADOS	TUROS INCUBADOS	RESULTADOS		PORCENTAJE DE EFICACIA
			NO CRECIMIENTO	CRECIMIENTO	
CAISA 30 min.	9	3	2	1	66.66%
CAISA 60 min.	9	3	3	0	100 %
DURASOFT 30min	9	3	0	3	0 %
DURASOFT 60min	9	3	2	1	66.66%

## VI. CONCLUSIONES Y COMENTARIOS:

Se encontró que el método esterilizante estudiado que emplea un esterilizador de lentes de contacto, a pesar de tener las ventajas de su fácil manipulación y bajo costo, no es recomendable para utilizarse como método de rutina en la esterilización de instrumental para conductos radiculares, ya que después de 60 min. en éste esterilizador, se comprobó la existencia de microorganismos viables sobre el instrumental, con lo que se podría ocasionar una infección cruzada entre nuestros pacientes.

Se apreció también que los microorganismos encontrados en mayor cantidad y que resistían por más tiempo el método de esterilización, son las bacterias anaerobias seguidas en número por las bacterias aerobias, siendo por último observado poco crecimiento en los tubos específicos para los hongos, de lo que se deduce que el tipo de bacterias que se encontraron en mayor número en éste caso de infección focal, son las anaerobias seguidas por las aerobias, y en poco número los hongos y levaduras.

Este estudio, confirma algunos resultados obtenidos en trabajos anteriores en cuanto a la efectividad del calor seco, porque se comprobó que es efectivo hasta los 60 min. de aplicación para el instrumental de conductos radiculares, ya que a los 30 min. todavía existen microorganismos viables sobre los instrumentos, encontrándose que a éste tiempo tiene la misma eficacia que el esterilizador de lentes de contacto usado durante 60 min.

Sería conveniente que se hiciera una investigación de éste método usándolo durante 90 min. ó más, para conocer el tiempo óptimo en el cual realiza una esterilización efectiva, pudiendo usarse el tipo de contaminación utilizado en éste trabajo (de una infección focal), ó

bien, cepas de bacterias conocidas con las cuales se contamine el instrumental, para que todos los instrumentos tengan el mismo grado de contaminación y siempre con el mismo tipo de bacterias.

El instrumental esterilizado en el método de prueba (esterilizador de lentes de contacto) no mostró señales de oxidación al término del período esterilizante (30 y 60 min), aunque para saber con certeza si es por efecto del nitrito de sodio usado como antioxidante, son necesarios estudios adicionales a éste respecto.

No se considera que la adición del nitrito de sodio haya causado una disminución en la eficacia esterilizante del "DURASOFT", ya que al contrario, se ha comprobado que aumentando la densidad del agua al agregar un electrolito al agua hirviendo, se aumenta la temperatura de ebullición de ésta, con lo que se aumentan las posibilidades de una buena esterilización. Sin embargo, si se crea necesario, puede utilizarse agua simple ó agua destilada en el estuche del esterilizador y verificar los resultados de la presente investigación.

La causa por la cual se considera que éste esterilizador "DURASOFT" no realiza una esterilización efectiva a pesar de que es un pequeño autoclave con vapor de agua a presión, en base a los antecedentes teóricos expuestos es porque, al tener un estuche herméticamente cerrado sin válvula de salida, el aire contenido en ella no sale para dejar espacio al vapor de agua, con lo que se crea una falsa presión y, como ya se ha comprobado, cuando existe aire en la cámara de la autoclave, la temperatura del vapor baja proporcionalmente a la cantidad de aire mezclado en él según la presión existente<sup>15</sup>, por lo que la temperatura real que existe en el estuche del esterilizador no es lo suficientemente alta para lograr la esterilización. Esta hipótesis podría verificarse en posteriores estudios.

Por otra parte, con respecto al tiempo de incubación óptimo para las bacterias del canal radicular, se encontró que el crecimiento empe

taba a partir de las 24 horas de incubación, alcanzando su máximo crecimiento a las 96 horas, después de las cuales, se mantuvo en un nivel constante la población bacteriana.

Este trabajo, a pesar de sus limitaciones, sobre todo en cuanto se refiere a los pocos medios de cultivo usados y el variable tipo de contaminación empleado, sirvió para demostrar la poca efectividad del esterilizador de lentes de contacto para usarse durante 30 y 60 min. con el instrumental de conductos radiculares. Aunque se comprueba que a 90 min. ó mas tiempo, el esterilizador "MURKHOFT" sí logre una esterilización efectiva, es mucho tiempo de empleo para que sea recomendado como un método de esterilización de rutina, sobre todo si se cuenta con métodos más rápidos y más seguros para realizarla.

## VII. B I B L I O G R A F I A :

- 1.- APPLETON, J.L.T. "Bacterial Infección".  
third edition. Lea & Febiger. Philadelphia. 1944 pp. 58-63,70-74
- 2.- ARDINES LIMONCHI, Pedro. "Seminario de Endodoncia"  
Curso de Educación Continua. Facultad de Odontología, UNAM.  
Agosto 1978.
- 3.- BURNETT, George W. "Oral Microbiology and Infectious Disease"  
third edition. The William & Wilkins Company. Baltimore. 1968  
pp. 136-139.
- 4.- Council on Dental Therapeutics "Quaternary amonium compounds  
not acceptable for disinfection of instruments and environmental  
surfaces in dentistry". J.A.D.A. 97: 855-857; Nov. 1978.
- 5.- CHAMFORD, J. "New light on the transmissibility of viral hepa-  
titis in dental practice and its control". J.A.D.A. 91: 829-835  
October 1975.
- 6.- CHARBENSAU, G.T. "A simple and effective autoclave method of  
handpiece and instrument sterilization without corrosion".  
J.A.D.A. 59: 732-737; Oct. 1959.
- 7.- FARRS, Emilio "bacteriología". Tercera edición.  
El Ateneo. Buenos Aires. 1959. pp. 39-44, 106.
- 8.- GAVIÑO, Gonzalo y otros. "Técnicas biológicas selectas de labo-  
ratorio y de campo". Primera Reimpresión. Limusa. México. 1974  
pp. 22-24, 45-52.
- 9.- GROSSMAN, Louis I. "Práctica Endodóntica".  
Segunda Edición. Progenital. Buenos Aires. 1963. pp. 167-173,  
308-318.
- 10.- GROSSMAN, Louis y APPLETON, J.L.T. "Reste-rilization of dental  
instruments by the use of alcohol and flaming". J.A.D.A.

27: 1632-1634: Oct. 1940

- 11.- JAWETZ, Ernest "Manual de Microbiología Médica".  
Quinta edición. El Manual Moderno. México. 1973. pp.81-86,189.
- 12.- KOEHLER, Henry and HEFFERHEN, John "Time-temperature relation  
of dental instruments heated in root-canal instrument sterilizers".  
J.D.Rev. 41: 182-195: Jan-Feb. 1962.
- 13.- LASALA, Angel "Endodoncia". Segunda Edición.  
Cromotip. Caracas. 1971. pp. 172-177, 413-414.
- 14.- LUCAS, R.E. "Bacteriología aplicada a la Odontología".  
Segunda Edición. Mundi. Buenos Aires. 1962. pp.86-97,33-40.
- 15.- "Manual DIFCO of dehydrated culture media and reagents for  
microbiological and clinical laboratory procedures". Ninth  
Edition. Difco Laboratories. Detroit. 1974. pp.16-22,90,195-201
- 16.- MAURICE, Charles G. "A critical survey of the methods of  
instrument disinfection and sterilization". J.A.D.A. 55: 527-  
544: Oct. 1957.
- 17.- MONTGOMERY, Steve "Chemical descontamination of gutta-percha  
cones with polyvinylpyrrolidone-iodine". Oral Surg. Med. &  
Pat. 31: 258-265: Feb. 1971.
- 18.- NEUGEBOREN, Neil and others "Control of cross-contamination".  
J.A.D.A. 85: 123-127: July 1972.
- 19.- NOLTE, William A. "Microbiología Odontológica". Primera Edi-  
ción. Interamericana. México. 1971 pp. 245-253, 259-265.
- 20.- NOLTE, William and ANNIK, Lumtur "Sterilization, lubrication  
and rustproofing of dental instruments and handpieces with a  
water-oil emulsion: laboratory and clinical study". J.A.D.A.  
50: 133-146: Feb. 1955.
- 21.- OLIET, Seymour "Evaluation of methods for sterilizing root  
canal instruments". Oral Surg. Med. & Pat. 9:666-673: June 1956
- 22.- PALACIO GONZALEZ, Alberto "Técnicas quirúrgicas de cabeza y cue-

llo". Primera Edición. Interamericana. México. 1967.

pp. 41-47.

23.- SENIA, Steve E. and others "Cold sterilization of gutta-percha cones with formocresol vapors". J.A.D.A. 94: 887-890, May. 1977

24.- SIMON, Harold J. "Microbios y Hombres". Primera Edición.

ACME. Serie divulgación No. 617. Buenos Aires. 1969. .

pp. 73-81, 199-200.

25.- SOMMER, Halp Frederick y otros. "Endodoncia Clínica".

Edición Española. Labor. Barcelona. 1975. pp. 81-96, 177-186.