



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

OZONIZACIÓN COMO AUXILIAR DE DESINFECCIÓN
AMBIENTAL EN EL CONSULTORIO DENTAL.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

MEDARDA ZÁRATE GARCÍA

TUTORA: Mtra. DULCE MARÍA DEL CARMEN OLVERA
MAZARIEGOS

MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

En primer lugar a dios por darme la oportunidad de aprender cada día de mi vida.

A mi padre por sus consejos, enseñanzas y comprensión que aunque no es nada fácil y chocamos mucho en carácter sé que quieres lo mejor para mí.

A mi madre por su apoyo, cariño y confianza, a lo largo de todo el camino recorrido. Y por todo el esfuerzo que ha puesto en superarse cada día, gracias mami.

A la familia Salcido Amezcua, por permitirme ser parte de ustedes; Gracias Sra. Lucy, Sr. Alfredo, Gaby, Adriana, Adrián, Alex, Yázmin.

A Oscar Morales Alcantar por su amistad y por estar siempre con nosotros regañándonos como buen hermano adoptivo.

¡Y a ti horrible! Gracias Feyos por sacarme de mi rutina, y enseñarme que con un empujoncito se pueden hacer muchas cosas.

Gracias a todos, por todo.

INDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	4
2.	ANTECEDENTES.....	6
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
4.	JUSTIFICACIÓN.....	28
5.	OBJETIVOS	28
5.1	General.....	28
5.2	Específicos.....	28
6.	METODOLOGÍA.....	29
	6.1 Material y método.....	29
	6.2 Tipo de estudio.....	39
	6.3 Población de estudio.....	39
	6.4 Muestra.....	39
	6.5 Criterios de inclusión.....	39
	6.6 Criterios de exclusión.....	40
	6.7 Variables de estudio.....	40
	6.8 Variable independiente y variable dependiente.....	40
	6.9 Análisis de la información.....	40
7.	Resultados.....	41
8.	Conclusiones.....	41
9.	Referencias Bibliográficas.....	42

1. INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevos métodos terapéuticos en el campo de la Odontología es un proceso constante. Junto con los significativos éxitos alcanzados en el ámbito de la farmacoterapia, se utilizan ampliamente los métodos terapéuticos que no emplean medicamentos, como la fisioterapia, la acupuntura, la hidroterapia. El uso de la mezcla de ozono y oxígeno es una de esas terapias conservadoras y respetuosas con el organismo que permiten aplicar una solución cualitativamente novedosa a problemas terapéuticos actuales de muchas enfermedades que posiblemente no encuentran respuestas adecuadas en los tratamientos convencionales. La ozonoterapia es una solución cualitativamente novedosa a problemas terapéuticos actuales de muchas enfermedades. Las aplicaciones médicas del ozono se basan en aprovechar su alta capacidad oxidante frente a las biomoléculas, generando un estrés controlado que activa respuestas antioxidantes endógenas. Siendo la ozonoterapia una herramienta terapéutica simple y barata para restablecer la salud de nuestros pacientes, el presente estudio influirá positivamente dentro de la sociedad ya que se va a disponer de una alternativa dentro de la Odontología, donde el paciente va a mostrar una recuperación temprana y también los costos serán accesibles para nuestra economía y como resultado principal tendremos pacientes en mejores condiciones de salud.

Los efectos fisiológicos del ozono en el cuerpo humano son:

- Acción directa, en la aplicación local, de tipo desinfectante y tóxico.
- Efecto sistémico antibacteriano y antiviral debido a la discreta formación de peróxidos.
- Modulación del Sistema Inmunitario.

- Aumento en la flexibilidad de los glóbulos rojos.
- Aumento de la producción, a nivel de glóbulos rojos, del 2-3 difosfoglicerato, responsable de la liberación del O₂ en los tejidos.
- Mejora de la microcirculación por acción vaso reguladora sobre el endotelio

El ozono en medicina

En el uso médico se utiliza una mezcla de oxígeno y ozono denominada Ozono Médico en el que el ozono (O₃) se encuentra presente en concentraciones (1 a 80 µg/mililitro de oxígeno) 30 veces inferiores con respecto al uso industrial.

Las concentraciones superiores a 2 µg/l. son tóxicas por vía inhalatoria. La ausencia de efectividad sistémica de las concentraciones menores de esta cifra y el alto riesgo de complicaciones llevó a la prohibición de la vía inhalatoria. Por este motivo, el Ozono Médico no es considerado como un Gas Medicinal.

Las superiores a 100 µg/ml. son tóxicas por vía parenteral, aumentando las posibles complicaciones según se sube la concentración. Los diferentes tejidos tienen un nivel máximo de toxicidad que depende de las propiedades antioxidantes de los mismos.

A las concentraciones utilizadas se ha demostrado ausencia de efectos teratógenos y cancerígenos en animales de experimentación y voluntarios humanos sanos y enfermos. Tampoco los estudios clínicos han referido complicaciones de importancia, salvo casos aislados de mala praxis médica, de ahí la importancia de una buena formación en ozonoterapia.

2. ANTECEDENTES

El ozono (O₃) es un gas descubierto en la mitad del siglo XIX formado por una molécula compuesta por tres átomos de oxígeno en una estructura dinámica inestable debido a la presencia de estados mesoméricos. Aunque el ozono tiene efectos peligrosos, los investigadores creen que tiene muchos efectos terapéuticos. La terapia de ozono ha estado en uso desde la década de 1800; Y en 1896 el genio Nikola Tesla patentó el primer generador de O₃ en los EE.UU, más tarde la formación de la “Tesla Ozono Compañía” Durante la primera guerra mundial (1914-1918) impulso a médicos familiarizados con las propiedades antibacterianas, y con algunos otros recursos médicos a poder aplicarlo tópicamente en heridas infectadas con lo que se descubrió que no sólo la infección se remediaba sino también tenía propiedades hemodinámicas y anti-inflamatorias. A finales de 1980, los informes habían sugerido que los médicos alemanes estaban tratando con éxito a pacientes de VIH con Ozono Auto hemoterapia. No había entonces ningún tratamiento farmacológico para el VIH y la pandemia se temía, por lo que las autoridades canadienses autorizaron el estudio para probar la seguridad y eficacia de este nuevo tratamiento.¹

La ozonoterapia se caracteriza por la simplicidad de su aplicación, alta efectividad, buena tolerancia, y con prácticamente ausencia de efectos colaterales. Sus efectos son probados, consistentes, seguros y con efectos secundarios mínimos y prevenibles. En el área médica el ozono (O₃) se utiliza para desinfectar y tratar enfermedades. Su principal mecanismo de acción es por la inactivación de bacterias, virus, hongos, levaduras y protozoos, la estimulación del metabolismo del oxígeno, y la activación del sistema inmune.²

El ozono es usado para diversas aplicaciones terapéuticas como antimicrobiano, antihipóxico, analgésico, inmuno-estimulante, bactericida, y fungicida. En aplicaciones locales como en el tratamiento de heridas externas, su aplicación es en forma transcutánea, es decir un baño de gas el cual se ha establecido como el método más práctico y útil. Agua ozonizada, cuyo uso es especialmente conocido en la medicina dental, se aplica de manera óptima como un spray o una compresa.

Las enfermedades más tratadas con este método son: heridas infectadas, trastornos circulatorios, enfermedades geriátricas, degeneración macular, enfermedades virales, reumatismo, artritis, cáncer.²

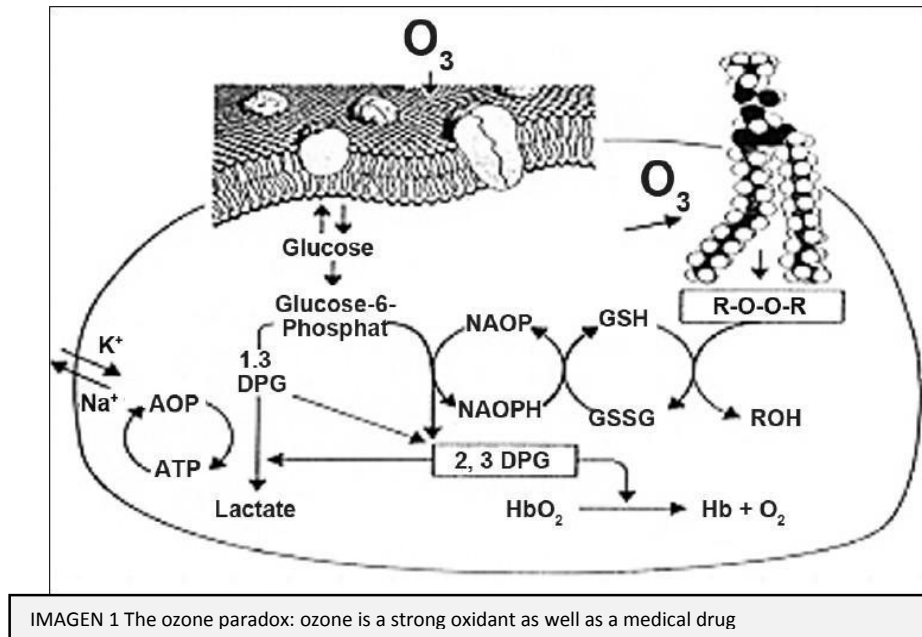
Ha habido varios informes sobre los efectos benéficos del ozono en la odontología, en áreas como periodoncia, odontología infantil, cirugía oral, y endodoncia. Su uso como tratamiento dental estándar es menos conocido, sobre todo porque se ha utilizado de manera empírica y sin base racional y controles apropiados. El ozono se está discutiendo actualmente en odontología como un posible agente antiséptico alternativo. Su alto poder antimicrobiano sin el desarrollo de resistencia a los medicamentos se ha observado en la purificación del agua y en Investigaciones recientes han informado de efectos antimicrobianos sobre patógenos orales.²

Mecanismo de acción

La inactivación de bacterias, virus, hongos, levaduras y protozoos: La terapia de ozono altera la integridad de la envoltura celular bacteriana través de la oxidación de los fosfolípidos y lipoproteínas. En los hongos, el ozono inhibe el crecimiento celular en ciertas etapas. Con los virus daña la cápside viral y

altera el ciclo reproductivo al interrumpir el contacto de virus a la célula con la peroxidación. Los recubrimientos de la enzima en las células débiles que los hacen vulnerables a la invasión por los virus hacen susceptibles a la oxidación y eliminación del cuerpo, que luego se los reemplaza con células sanas.³

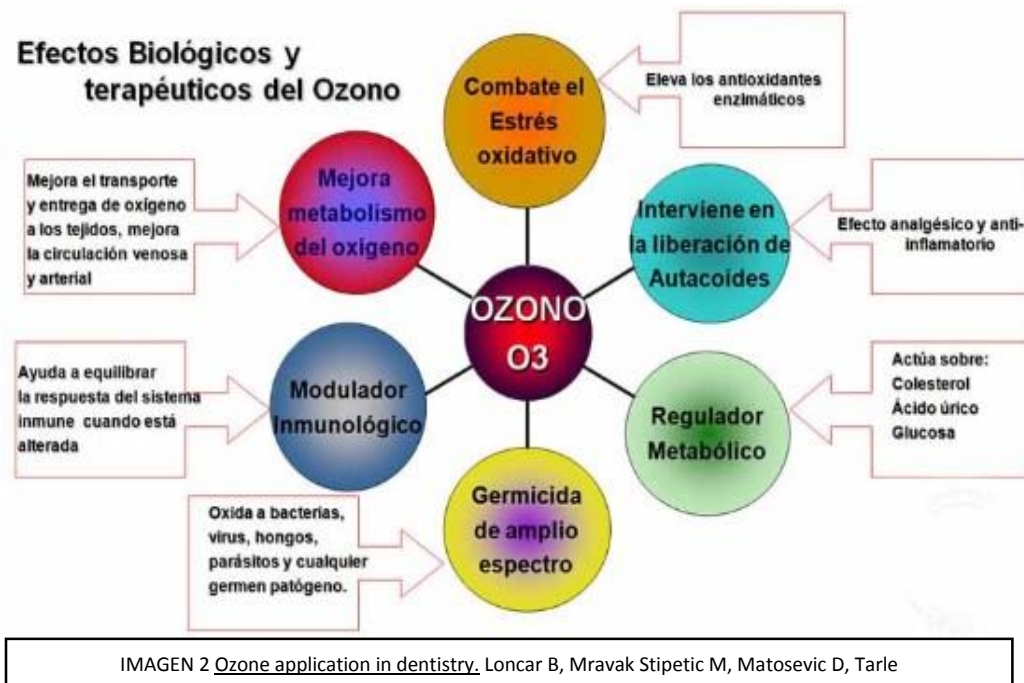
IMAGEN 1



El ozono se utiliza eficazmente como un agente antibacteriano para el tratamiento de infecciones orales causadas por *Actinomyces naeslundii*, *Lactobacillus casei* y *Streptococcus mutans*. La exposición de aproximadamente 60 segundos demostró eficiencia de 99,9%, pero la exposición durante un período tan largo mostró degradación de proteínas de la saliva. Así que la exposición por 10 seg a 30seg ha demostrado su eficacia, disminuyendo el tiempo pero no la efectividad para matar un número significativo de bacterias.⁶

Las primeras aplicaciones del ozono en el ámbito de la medicina iban encaminadas hacia la desinfección de las heridas y el instrumental quirúrgico, aprovechando sus propiedades intensamente oxidantes. En 1915, A. Wolf emplea las propiedades germicidas del ozono en el campo de la medicina. Las aplicaciones iniciales iban dirigidas al tratamiento local de las heridas infectadas. Posteriormente, tras el descubrimiento de los materiales plásticos resistentes a la reacción con el ozono, fue posible el tratamiento local con ozono gaseoso de extremidades sépticas, introduciéndolas en bolsas de plástico de fácil producción y adquisición. Con el progresivo desarrollo de la ozonoterapia, Werkmeister introduce en 1976 el tratamiento con sistemas de baja presión (subatmosférica).⁴

En un estudio in vitro, se observó que el O₃ es muy eficaz en la reducción de las concentraciones de Acinetobacter baumannii, Clostridium, Staphylococcus aureus en seco así como muestras húmedas, por lo tanto, se puede utilizar como un desinfectante.⁵ IMAGEN 2



Generador de Ozono

“Para poder generar una mezcla de ozono-oxígeno medicamente utilizable, el aparato de ozono debe cargarse con oxígeno químicamente puro y no con aire, ya que este contiene un 85% de nitrógeno”⁸

El nitrógeno molecular (N₂), al ser expuesto a las descargas de alta tensión, se disgregaría atómicamente y favorecería la formación de óxidos nitrosos altamente tóxicos”

La ozonoterapia utiliza una mezcla de un 5% de ozono como máximo con un 99% de oxígeno; es el llamado “ozono médico”. La mayor parte de los generadores de ozono se fundamentan en el principio del generador de Von Siemens (1857) que al producir descargas eléctricas de alto voltaje (alrededor de 4000 voltios) en el interior de un flujo de oxígeno, produce la escisión de sus moléculas. La combinación de una molécula de oxígeno con un átomo de oxígeno es lo que dará lugar a la formación del ozono en una cantidad aproximada de un 5% suficiente para la respuesta terapéutica de la ozonoterapia.

El ozono es un gas muy inestable debido a su alto nivel de energía. Por ello; esta tecnología necesita de equipos para su generación, conducción y dosificación, así como instrumentos y procedimientos para su manejo y administración.⁷

Los generadores de ozono médico deben poseer características específicas:

- Elaborado a partir de oxígeno con el 99.9% de pureza, con el fin de no formar nitritos.
- Poder ajustar los niveles de concentración en tiempo real entre 1 y 100 microgramos

- Mantener la homogeneidad de la mezcla O₂/O₃ constante
- Destruir el ozono sobrante de las terapias

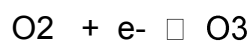
La concentración de ozono queda determinada por tres parámetros:

- Voltaje: La concentración de ozono se incrementa con la tensión eléctrica, aunque de forma no proporcional
- El espacio entre los electrodos: Sirve para modular un incremento gradual de la concentración de ozono.
- El flujo de oxígeno: la concentración final de ozono es inversamente proporcional al flujo de oxígeno. Por lo tanto, entre más oxígeno fluye, más baja la concentración de ozono y viceversa.

Obtención del ozono

El ozono se forma en todos los procesos que acompañan a la aparición de oxígeno atómico. Puede obtenerse mediante el paso de la corriente eléctrica a través del oxígeno.

FORMULA DE LA OBTENCION DEL OZONO ATRAVEZ DE LA CORRIENTE ELECTRICA



En laboratorios e industrias, el ozono se obtiene en ozonizadores por la acción de una descarga eléctrica silente sobre el oxígeno. Los principales tipos de ozonizadores industriales poseen una cámara de descarga plana o en forma de tubo, en calidad de materiales dieléctricos se emplean el vidrio o la cerámica. Los electrodos se fabrican de aluminio o cobre. La potencia del ozonizador es proporcional a la frecuencia de la corriente.¹²

El ozono se forma también por la aplicación de luz ultravioleta al oxígeno. En este principio se basa la síntesis del ozono en la naturaleza por la acción de los rayos ultravioleta con longitud de onda < 200 nm, y también la aparición de este gas al encender una lámpara bacteriológica o durante el tiempo de trabajo de una lámpara ultravioleta.¹⁵

Propiedades físico-químicas del ozono

El ozono, conocido como oxígeno naciente por los investigadores franceses y denominado súper oxígeno en otros ámbitos, aun cuando sea el mismo elemento químico que el oxígeno, al poseer un átomo más presenta una forma molecular diferente resultando trimolecular.

Se origina en el aire por la acción eléctrica de los rayos de las tormentas y sobre todo por la actividad de los rayos ultravioletas solares sobre el oxígeno presente en la atmósfera. Resulta el mejor instrumento que posee la naturaleza para limpiar el medio ambiente. Ozono, gas incoloro, de olor penetrante y muy inestable (a 30° y después de 60 minutos la concentración de ozono es de alrededor del 20%. A 25°C al cabo de 20 minutos la concentración se sitúa entre el 60 y el 70% de la concentración inicial). Por eso, es preciso producirlo en el mismo instante en que va a ser utilizado. Agente fuertemente oxidante, su potencial de oxidación resulta únicamente

inferior al del flúor. Es muy reactivo a todos los productos biológicos: trementina (produce gases corrosivos y explosivos).

Fórmula molecular:

O₃-Oxígeno triatómico, modificación metaestable del oxígeno.

Peso molecular:

O₃ = 48 gr.; O₂ = 32 gr.; Aire = 29 gr.

Densidad absoluta:

2,144 gr./litro.

Densidad relativa.

1,658 (aire = 1).

Potencial de oxidación:

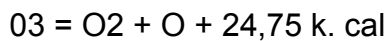
EO = 2,07 V.

En terapia médica nunca se utiliza en su forma pura, sino con una mezcla de oxígeno en la que la parte activa está constituida por el ozono en cantidades mínimas (microgramos /ml.).

Para generarlo es preciso provocar la ruptura de los átomos de oxígeno a fin de disociarlos y formar su molécula. Esta operación requiere una energía que

queda acumulada a la molécula de O₃, siendo producida la reacción por la descarga silenciosa de la alta tensión dentro del generador.

Al ser introducido en el organismo, la energía acumulada en la molécula del ozono se descompone rápidamente:



El O₂ re-obtenido de la rotura del equilibrio resulta oxígeno nascente ionizado negativamente, que es transportado por el caudal sanguíneo a todo el complejo celular.

El átomo de O monoatómico consecuencia de la descomposición, es el que confiere al ozono su específica acción antiinfecciosa, antiviral, antifúngica, antitóxica, antiparasitaria y activante de la circulación sanguínea.

Las 24,75 k. calorías liberadas en la disgregación poseen una acción de elevación de la temperatura y, por tanto, un efecto vasodilatador periférico muy significativo.

Mecanismos básicos para el uso clínico de la ozonoterapia, acción bactericida, viricida y fungicida del ozono.

Entre los efectos biológicos del ozono, el primer lugar lo ocupa tradicionalmente el efecto bactericida, viricida y fungicida. Esta acción directa del ozono se manifiesta de forma general cuando se aplica por una vía externa, siguiendo las diversas modalidades terapéuticas, principalmente en concentraciones elevadas. A diferencia de muchos antisépticos conocidos, el ozono no irrita ni

destruye los tejidos protectores de las personas, debido a que, a diferencia de los microorganismos, el organismo multicelular del ser humano posee un potente sistema antioxidante de defensa. El primer objetivo del ozono son las membranas plasmáticas de las células. Las modificaciones inducidas por el ozono en el contenido intracelular (oxidación de proteínas citoplásmicas, alteración de las funciones de los orgánulos) se producen probablemente por la acción de los oxidantes secundarios, productos de la ozonólisis de los lípidos de las membranas. La acción del ozono en las membranas se dirige en primer lugar a las partes más polares, algo que no está relacionado con la mayor similitud del ozono con ellas, sino con su mayor accesibilidad desde el lado de la fase acuosa en el exterior de la célula. La causa directa de la destrucción de las bacterias por la acción del ozono es el deterioro local de las membranas plasmáticas, lo que hace que las células bacterianas pierdan la capacidad de vivir, la capacidad de reproducirse o ambas. En las levaduras, la causa fundamental es la alteración de la homeostasis en el interior celular como consecuencia de la alteración de las propiedades de barrera de las membranas plasmáticas. Mediante estudios con microscopía electrónica, se ha descubierto la formación de suturas transversales proteína - proteína y proteína -lípido durante la oxidación lipídica (OLP) bajo la acción del ozono. Uno de los agentes suturantes puede ser el malonildialdehído, algo que se

confirma por el hecho de que, con dosis letales para *Candida albicans*, las fisuras longitudinales son sustituidas por fisuras transversales, lo que conlleva una rápida variación en las ultra estructuras de las membranas plasmáticas. Es importante señalar que las moléculas de ozono no sólo interactúan con los componentes de la superficie de las membranas, sino que, al variar su permeabilidad, producen la destrucción de los orgánulos intracelulares en 10 - 20 minutos. No se puede descartar tampoco el mecanismo que los organismos vivos emplean para eliminar los antígenos extraños, que consiste en la acción de los radicales libres de oxígeno que se forman con la descomposición del ozono en un medio acuoso. La presencia del radical OH, de gran reactividad, explica precisamente la acción letal del ozono sobre la mayoría de los microorganismos. Según los datos obtenidos a partir de estudios microbiológicos in vitro, el ozono es capaz de destruir todos los tipos conocidos de bacterias gram positivas y gram negativas, entre ellos *Pseudomonas aeruginosa* y legionela, todos los virus hidrófilos y lipófilos, entre ellos los virus de las hepatitis A, B Y C, las esporas y las formas vegetativas de todos los hongos patógenos y protozoos conocidos. Según los datos proporcionados por diversos autores, en concentraciones que oscilan entre 1 ug/ml y 5 ug/ml, el ozono destruye el 99,9% de *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Cryptosporidium parvum*, *Varavium* y otros, en un intervalo de 4-20 minutos. Con una concentración de 0,1ug/ml, se necesitan 15-20 minutos incluso para la destrucción de las esporas muy resistentes de *Penicillium notatum*. La experimentación sobre las propiedades bactericidas in vitro del agua destilada ozonizada con una concentración de ozono de 4 ug/ml ha demostrado que se produce la inhibición total del crecimiento de las colonias de estafilococos, bacilos intestinales, y *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* y *Klebsiella* con concentraciones de microorganismos de 10³-10⁴ UFC/ml. Con concentraciones mayores 30 de microorganismos (cerca de 10⁵-10⁷ UFC/ml)) se observa una inactivación incompleta de los mismos.

Contraindicaciones y efectos adversos de la ozonoterapia

No se han descrito efectos secundarios sistémicos provocados por el ozono, los efectos secundarios detectados normalmente han sido derivados de la técnica de transfusión. En 1982 un estudio alemán con 384,775 pacientes a los que les aplicaron 5.779.238 tratamientos con ozono se observó solo un 0,0007% de efectos adversos.

Contraindicaciones

- Hipertiroidismo
- Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (favismo)
- Intolerancia al ozono

Efectos secundarios

Trastornos circulatorios como vértigo, sofoco, etc.

Reacciones alérgicas (generalmente suelen ser provocadas por medicamentos coadyuvantes o anticoagulantes utilizados)

Los efectos fisiológicos del ozono en el cuerpo humano son:

- Acción directa, en la aplicación local, de tipo desinfectante y trófico.
- Efecto sistémico antibacteriano y antiviral debido a la discreta formación de peróxidos.
- Modulación del Sistema Inmunitario.
- Aumento en la flexibilidad de los glóbulos rojos.
- Aumento de la producción, a nivel de glóbulos rojos, del 2-3 difosfoglicerato, responsable de la liberación del O₂ en los tejidos.
- Mejora de la microcirculación por acción vaso reguladora sobre el endotelio

En el uso médico se utiliza una mezcla de oxígeno y ozono denominada Ozono Médico en el que el ozono (O₃) se encuentra presente en concentraciones (1 a 80 µg/mililitro de oxígeno) 30 veces inferiores con respecto al uso industrial.⁵

Las concentraciones superiores a 2 µg/l. son tóxicas por vía inhalatoria.

Las superiores a 100 µg/ml. son tóxicas por vía parenteral, aumentando las posibles complicaciones según se sube la concentración. Los diferentes tejidos tienen un nivel máximo de toxicidad que depende de las propiedades antioxidantes de los mismos.

A las concentraciones utilizadas se ha demostrado ausencia de efectos teratógenos y cancerígenos en animales de experimentación y voluntarios humanos sanos y enfermos. Tampoco los estudios clínicos han referido

complicaciones de importancia, salvo casos aislados de mala praxis médica, de ahí la importancia de una buena formación en ozonoterapia.⁸

Debe quedar claro que para que la práctica de la ozonoterapia sea segura se debe:

- 1) Usar un generador preciso. Dentro de la Unión Europea el generador debe poseer el marcado CE.
- 2) Manejar dosis, volúmenes y concentraciones precisas y bien definidas. La dosis total se calcula multiplicando la concentración por el volumen. Conociendo la dosis óptima se logra un efecto terapéutico sin toxicidad alguna.
- 3) Asegurar que el médico tenga una buena formación en la terapia por entidades reconocidas y competentes.
- 4) Disponer por parte de las autoridades sanitarias las regulaciones del caso que permitan tanto al paciente como al terapeuta recibir y trabajar bajo normas de seguridad.
- 5) Disponer de fondos para la investigación continuada.⁷

Medio de cultivo

El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el Medio de Cultivo y el crecimiento de los microorganismos es el Cultivo. Se han preparado más de 10.000 medios de cultivo diferentes.

Para que las bacterias crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones como son: temperatura, grado de

humedad y presión de oxígeno adecuado, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. Un medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante.

La mayoría de las bacterias patógenas requieren nutrientes complejos similares en composición a los líquidos orgánicos del cuerpo humano. Por eso, la base de muchos medios de cultivo es una infusión de extractos de carne y Peptona a la que se añadirán otros ingredientes.

El agar es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo. Se licúa completamente a la temperatura del agua hirviendo y se solidifica al enfriarse a 40 grados. Con mínimas excepciones no tiene efecto sobre el crecimiento de las bacterias y no es atacado por aquellas que crecen en él.

La Gelatina es otro agente solidificante pero se emplea mucho menos ya que bastantes bacterias provocan su licuación.

En los diferentes medios de cultivo se encuentran numerosos materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc. Los hidratos de Carbono se adicionan por dos motivos fundamentales: para incrementar el valor nutritivo del medio y para detectar reacciones de fermentación de los microorganismos que ayuden a identificarlos. El suero y la sangre completa se añaden para promover el crecimiento de los microorganismos menos resistentes.²⁴

También se añaden colorantes que actúan como indicadores para detectar, por ejemplo, la formación de ácido o como inhibidores del crecimiento de unas bacterias y no de otras (el Rojo Fenol se usa como indicador ya que es rojo en pH básico y amarillo en pH ácido. La Violeta de Genciana se usa como inhibidor ya que impide el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram-positivas).

Condiciones generales para el cultivo de microorganismos

El desarrollo adecuado de los microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia y que, en algunos casos, son ajenos por completo al propio medio.

1- disponibilidad de nutrientes adecuados

Un medio de cultivo adecuado para la investigación microbiológica ha de contener, como mínimo, carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas. En muchos casos serán necesarias ciertas vitaminas y otras sustancias inductoras del crecimiento. Siempre han de estar presentes las sustancias adecuadas para ejercer de donantes o captadores de electrones para las reacciones químicas que tengan lugar.

Todas estas sustancias se suministraban originalmente en forma de infusiones de carne, extractos de carne o extractos de levadura. Sin embargo, la preparación de estas sustancias para su aplicación a los medios de cultivo provocan la pérdida de los factores nutritivos lábiles.²⁰

Actualmente, la forma más extendida de aportar estas sustancias a los medios es utilizar peptona que, además, representa una fuente fácilmente asequible de nitrógeno y carbón ya que la mayoría de los microorganismos, que no suelen utilizar directamente las proteínas naturales, tienen capacidad de atacar los aminoácidos y otros compuestos más simples de nitrógeno presentes en la peptona.

Ciertas bacterias tienen necesidades nutritivas específicas por lo que se añade a muchos medios sustancias como suero, sangre, líquido ascítico, etc. Igualmente pueden ser necesarios ciertos carbohidratos y sales minerales como las de calcio, magnesio, manganeso, sodio o potasio y sustancias promotoras del crecimiento, generalmente de naturaleza vitamínica.

Muy a menudo se añaden al medio de cultivo ciertos colorantes, bien como indicadores de ciertas actividades metabólicas o bien por sus capacidades de ejercer de inhibidores selectivos de ciertos microorganismos.

2- consistencia adecuada del medio

Partiendo de un medio líquido podemos modificar su consistencia añadiendo productos como albúmina, gelatina o agar, con lo que obtendremos medios en estado semisólido o sólido.

Los medios solidificados con gelatina tienen el gran inconveniente de que muchos microorganismos no se desarrollan adecuadamente a temperaturas inferiores al punto de fusión de este solidificante y de que otros tienen la capacidad de licuarla.

Actualmente los medios sólidos son de uso universal, por su versatilidad y comodidad, pero hay también gran cantidad de medios líquidos cuyo uso está ampliamente extendido en el laboratorio.¹⁵

3- presencia (o ausencia) de oxígeno y otros gases

Gran cantidad de bacterias pueden crecer en una atmósfera con tensión de oxígeno normal. Algunas pueden obtener el oxígeno directamente de variados sustratos. Pero los microorganismos anaerobios estrictos sólo se desarrollarán adecuadamente en una atmósfera sin oxígeno ambiental. En un punto intermedio, los microorganismos microaerófilos crecen mejor en condiciones atmosféricas parcialmente anaerobias (tensión de oxígeno muy reducida), mientras los anaerobios facultativos tienen un metabolismo capaz de adaptarse a cualquiera de las citadas condiciones.¹⁵

4- condiciones adecuadas de humedad

Un nivel mínimo de humedad, tanto en el medio como en la atmósfera, es imprescindible para un buen desarrollo de las células vegetativas microbianas en los cultivos. Hay que prever el mantenimiento de estas condiciones mínimas en las estufas de cultivo a 35-37°C proporcionando una fuente adecuada de agua que mantenga la humedad necesaria para el crecimiento de los cultivos y evitar así que se deseque el medio.

5- Luz ambiental

La mayoría de los microorganismos crecen mucho mejor en la oscuridad que en presencia de luz solar. Hay excepciones evidentes como sería el caso de los microorganismos fotosintéticos.

6- pH

La concentración de iones hidrógeno es muy importante para el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de ellos se desarrollan mejor en medios con un pH neutro, aunque los hay que requieren medios más o menos ácidos. No se debe olvidar que la presencia de ácidos o bases en cantidades que no impiden el crecimiento bacteriano pueden sin embargo inhibirlo o incluso alterar sus procesos metabólicos normales.

7- Temperatura

Los microorganismos mesófilos crecen de forma óptima a temperaturas entre 15 y 43°C. Otros como los psicrófilos crecen a 0°C y los termófilos a 80°C o incluso a temperaturas superiores (hipertemófilos). En líneas generales, los patógenos humanos crecen en rangos de temperatura mucho más cortos, alrededor de 37°C, y los saprofitos tienen rangos más amplios.

8- Esterilidad del medio

Todos los medios de cultivo han de estar perfectamente estériles para evitar la aparición de formas de vida que puedan alterar, enmascarar o incluso impedir el crecimiento microbiano normal del o de los especímenes inoculados en dichos medios. El sistema clásico para esterilizar los medios de cultivo es el autoclave (que utiliza vapor de agua a presión como agente esterilizante)

Trypteina Soya Agar

Medio utilizado para propósitos generales, favorece el desarrollo y aislamiento de una gran variedad de microorganismos aerobios, y anaerobios facultativos y estrictos.

El agregado de sangre, permite el aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes y la observación de reacciones de hemólisis.

También, este medio de cultivo, puede utilizarse como medio base para preparar el medio agar chocolate.

Fundamento

La tripteína y la peptona de soya aportan nutrientes ricos en péptidos, aminoácidos libres, bases púricas y pirimídicas, minerales y vitaminas. La peptona de soya aporta también carbohidratos que estimulan el crecimiento de muchos microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

Adicionado con 5-10 % sangre, se logra un medio enriquecido y adecuado para observar reacciones de hemólisis.

Cuando se prepara como agar chocolate, es útil para el cultivo de *Neisseria* spp., *Haemophilus influenzae* y microorganismos exigentes similares. Incubado en forma anaerobia, permite el crecimiento de *Clostridium* spp. y anaerobios no esporulados. Es un medio adecuado para cultivar y mantener cepas de *Aeromonas*, y aumentando el porcentaje de cloruro de sodio, para mantener cepas de algunos *Vibrios* (excepto *V. cholerae*).

Instrucciones

Disolver 40 g de polvo deshidratado por litro de agua destilada. Mezclar y dejar reposar 5 minutos. Calentar suavemente agitando y hervir durante 1 o 2 minutos hasta su disolución. Distribuir y esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 118-121°C.

Siembra

Por inoculación directa del material en estudio, sobre la superficie del medio de cultivo.

Incubación

Las condiciones de temperatura, tiempo y atmósfera de incubación, serán acuerdo al material a estudiar.

Características del medio

Medio preparado: ámbar.

Medio preparado con 5% de sangre: rojo cereza.

Almacenamiento

Medio deshidratado: a 10-35 °C.

Medio preparado: a 2-8 °C.

Unidades Formadoras de Colonias.

El valor de UFC por metro cúbico (UFC/m³), indica el grado de contaminación microbiológica de un ambiente. Es un valor que expresa el número relativo de microorganismos de un taxón determinado en un volumen de un metro cúbico de agua.

Las "Unidades Formadoras de Colonias" (ufc) se miden en diferentes volúmenes, y uno de los más usados para las analíticas son ufc/100ml. Se encuentra esta medida en cualquier analítica para la potabilidad del agua.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando al consultorio dental como un área quirúrgica, donde se realizan diversos tratamientos en los cuales se involucran fluidos humanos, como sangre y saliva, se debe tener en cuenta que debe haber una asepsia controlada en superficies, y también realizarla en el ambiente del consultorio, para así evitar infecciones cruzadas y tener mejores resultados en los tratamientos del paciente. ¿Puede el ozono ambiental influir en la purificación del aire ambiental en el consultorio dental?

4. JUSTIFICACIÓN

Al realizar el presente estudio permitió corroborar e identificar los efectos del ozono ambiental presentando evidencia clínica en el uso bactericida y bacteriostático del ozono, en las cajas Petri colocadas en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México y en consultorios privados.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Determinar la presencia de población microbiana en cultivos de soya tripticaseína expuestos a efectos de ozono terapia por medio de conteo de colonias y cultivos expuestos a un medio ambiente crítico como lo es la facultad de odontología.

Conocer los usos y beneficios del ozono aplicado a la Odontología, mediante revisión bibliográfica y artículos.

5.2 ESPECIFICOS

Determinar la presencia de población Microbiana en cajas Petri expuestas en Clínica #11 de Preventiva de la Facultad de Odontología de la UNAM

Determinar población microbiana en cajas Petri expuestas a un medio con ozono ambiental en consultorio dental

Identificar si hay diferencia clínica del número de colonias presente en cajas de Petri sometidas a diferentes medios

Analizar la información y datos específicos para explicar los usos del ozono en la odontología, enfocado en la desinfección ambiental, del consultorio dental.

6. METODOLOGÍA

6.1 MATERIAL Y MÉTODO

Métodos

Los métodos que se utilizaron en el desarrollo del presente tema de tesis fueron:

- Método visual
- Laboratorio
- Método conteo de colonias

Material

- Cajas Petri agar Soya Trypticaseina
- Ozonizadores (generadores de ozono ambiental)
- Clínica #11 de la Facultad Odontología UNAM
- Consultorios dentales con sistema de ozono ambiental

Se colocaron dos cajas Petri en la clínica #11 de la Facultad de Odontología al centro de la clínica, sin que nadie las tocara durante 1 hora. Por igual se colocaron dos cajas Petri en el consultorio de la Doctora Dulce María del Carmen Olvera Mazariegos, el cual cuenta con ozono, las cajas se colocaron donde no fueran movidas por igual durante 1 hora.



Se cuenta con el consentimiento de las clínicas de preventiva de la Facultad De Odontología y de los consultorios de la doctora Dulce María del Carmen Olvera Mazariegos.

Procedimiento

Incubación

-El tiempo, la temperatura, y la atmósfera de incubación, dependerán del microorganismo que se quiera recuperar.

En general se recomienda:

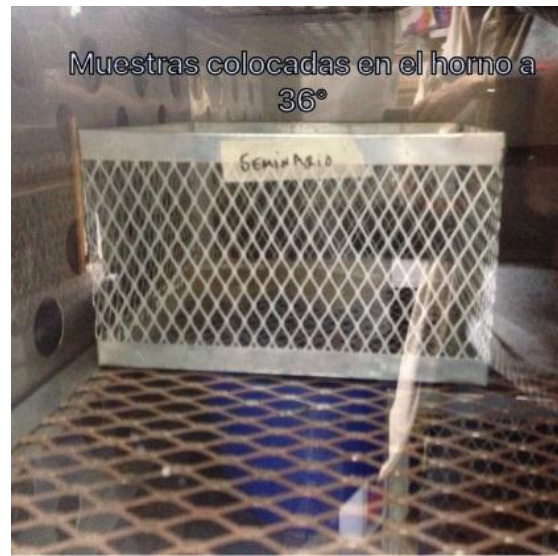
Bacterias de fácil crecimiento: en aerobiosis, a 35-37 ° C durante 18 a 24 horas.



Se retiraron del refrigerador 4 cajas Petri de cultivo agar soya tripticaseina, para ser llevadas 2 a la clínica # 11 de la Facultad de Odontología UNAM y 2 al consultorio de la Dra. Dulce María del Carmen Olvera Mazariegos; Las cajas Petri fueron transportadas en una hielera para así evitar contaminación de las muestras, y el cambio de temperatura en el agar. Al llegar al sitio de recolección se eligió un lugar céntrico y donde no fueran movidas durante 1 hora. Al terminar el tiempo de exposición, se colocaron sus tapas, se rotularon con día, fecha y hora, se llevaron en la hielera, para su trasportación al laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la UNAM, para ser colocadas en el horno a 36° Centígrados.



Temperatura del horno

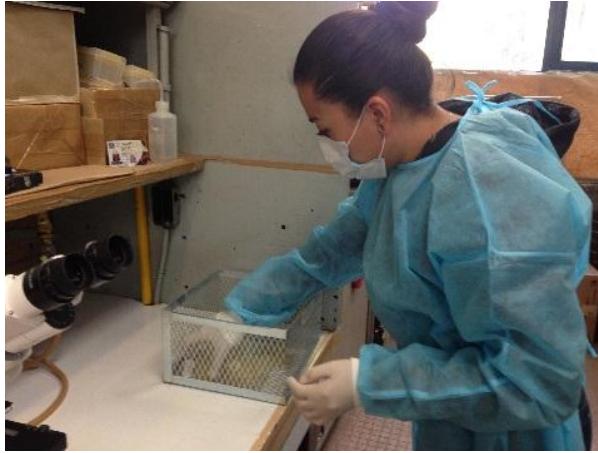


Muestras colocadas en el horno a 36°

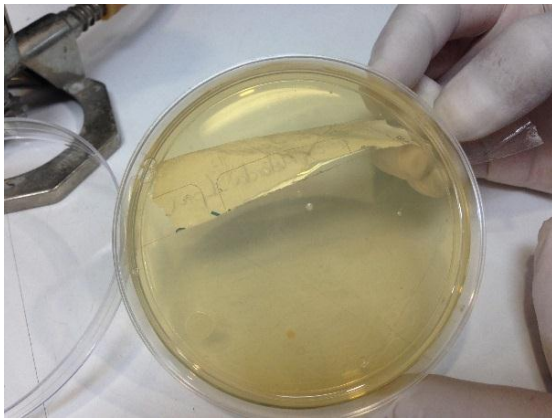
Las muestras fueron revisadas a las 24,48 y 72 horas para para monitorear la formación de colonias bacterianas.

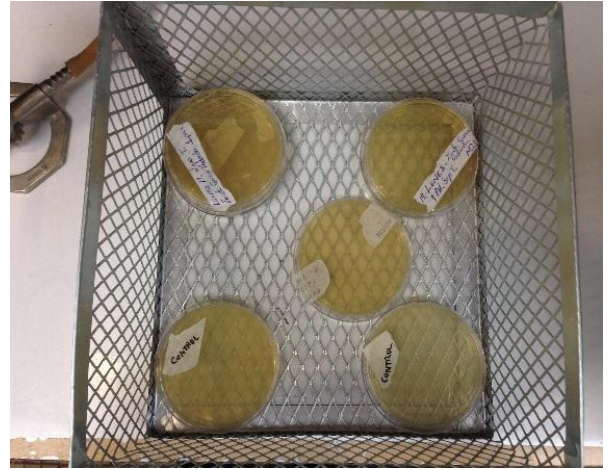
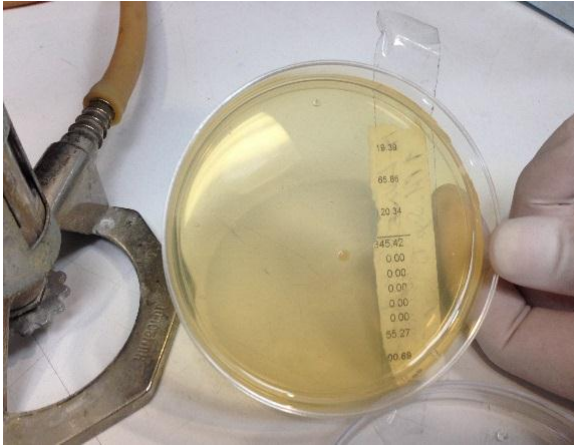
Las revisiones se realizaron con mechero encendido para el control del ambiente y evitar contaminación de los medios de cultivo, y con las barreras de protección necesarias, guantes, cubrebocas y bata desechable.





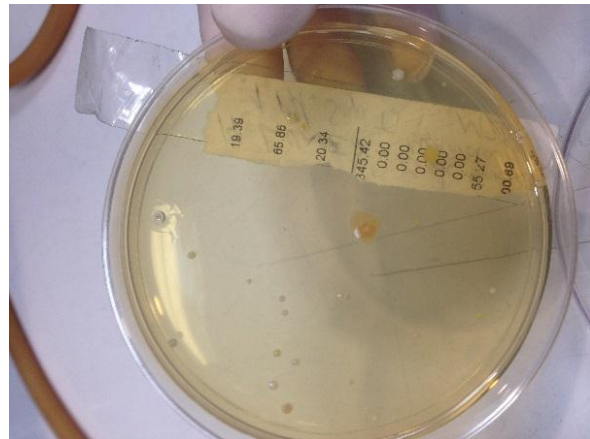
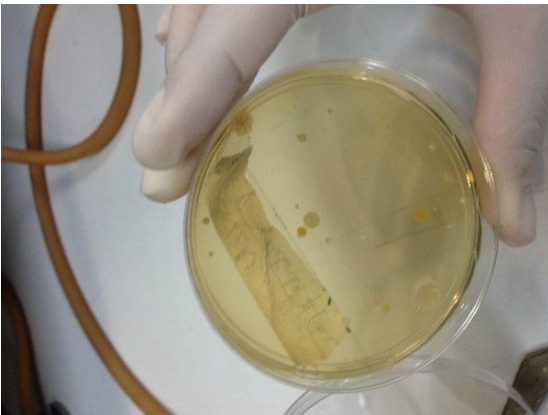
24 Horas



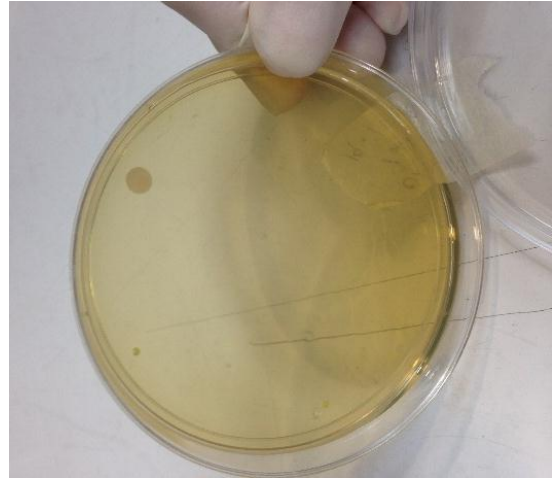


48 Horas

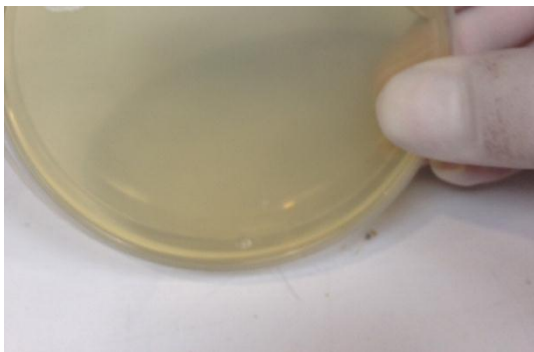
Clínica #11 Facultad de Odontología UNAM



Consultorio Dra. Dulce María del Carmen Olvera Mazariegos

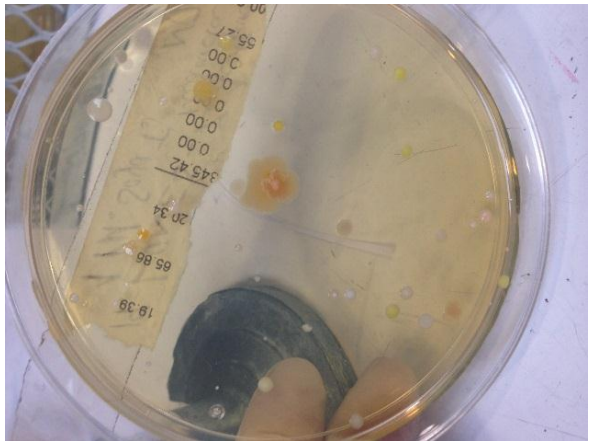
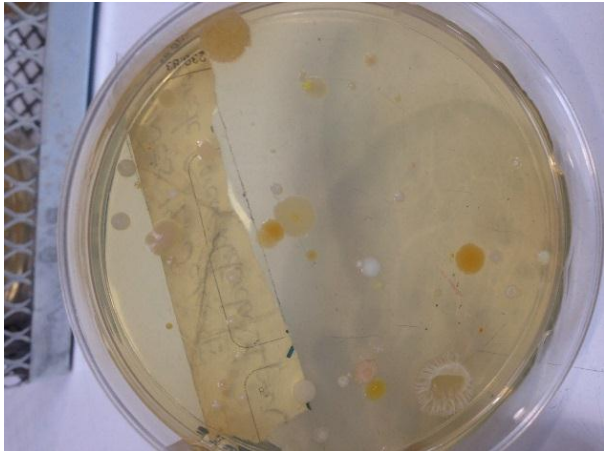


Control

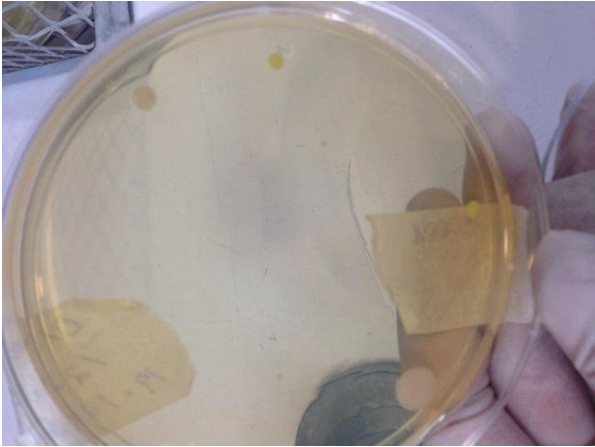


72 Horas

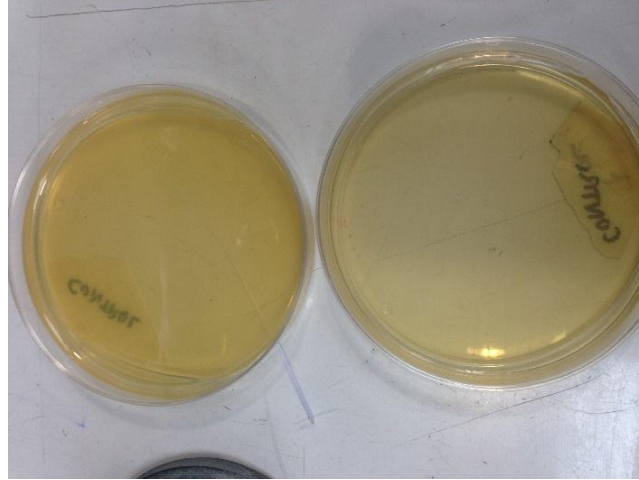
Clínica #11 Facultad de Odontología UNAM



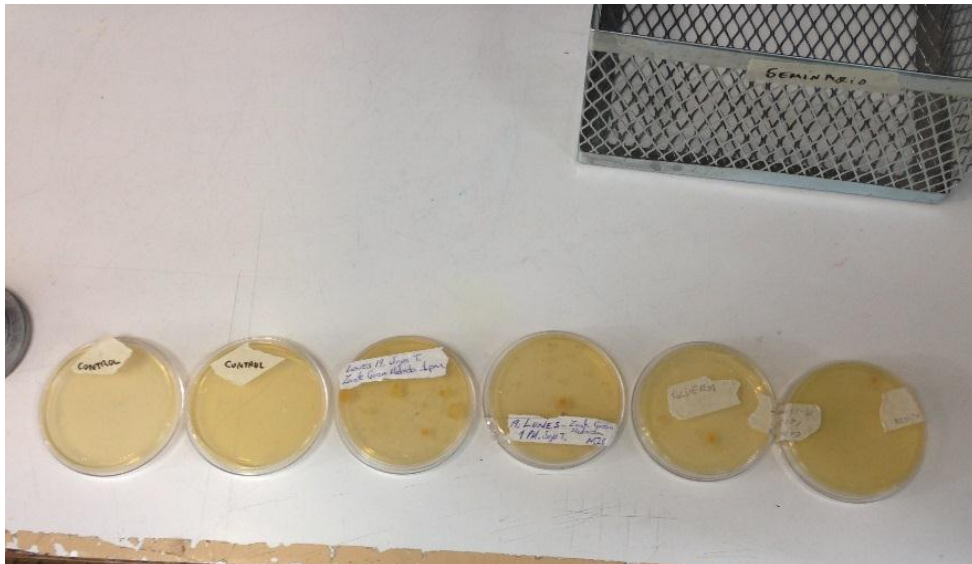
Consultorio Dra. Dulce María del Carmen Olvera Mazariegos



Control



Después de las 72 horas de incubación, las cajas Petri fueron desechadas, y serán esterilizadas en autoclave en el laboratorio de microbiología.





6.2 TIPO DE ESTUDIO

Estudio experimental

6.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Agentes microbianos presentes en el ambiente contaminado de la clínica # 11 de la facultad de odontología UNAM, y en el consultorio de la Dra. Dulce María del Carmen Olvera Mazariegos

6.4 MUESTRA

6 cajas Petri con Agar Soya Trypticaseina estériles.

6.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, agrietamiento o cualquier otro signo de deterioro. La reducción excesiva de este medio debido a la deshidratación puede causar resultados de sensibilidad falsos

Las cajas Petri deben ser estériles, de agar soya tripticaseina

6.6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Clínicas de la facultad de odontología sin ozono ambiental.

Consultorio dental con ozono ambiental.

6.7 VARIABLES DE ESTUDIO:

- Presencia de población microbiana en las cajas Petri
- Capacidad bactericida y bacteriostática de la ozonoterapia

6.8 VARIABLE INDEPENDIENTE Y VARIABLE DEPENDIENTE

Tipo de exposición a contaminación microbiana

6.9 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

La información obtenida se analizará mediante evidencia clínica como presente o ausente y se determinará la proporción de crecimiento de colonias de microorganismos en cajas Petri con evidencia de contaminación.

7. RESULTADOS

A la revisión de las muestras obtenidas de la clínica #11 de la Facultad de Odontología UNAM, se observó crecimiento bacteriano abundante, lo cual indica el ambiente crítico en el cual se pueden presentar constantes infecciones cruzadas y del consultorio de la Dra. Dulce María del Carmen Olvera Mazariegos, las cajas Petri mostraron un crecimiento mínimo por el uso de ozono ambiental y los controles se mantuvieron estériles sin muestra alguna de crecimiento.

8. CONCLUSIONES

La ozonoterapia es un tratamiento alternativo muy eficaz para determinadas patologías en forma mínimamente invasiva, sin riesgos quirúrgicos y de aplicación sencilla sin necesidad de internación.

Con la ozonoterapia se puede disminuir en forma significativa la carga bacteriana de ambientes críticos, para una mejor atención y mejores resultados en los tratamientos de los pacientes.

REFERENCIAS

- 1.- AM Elvis, JS Ekta, Ozone therapy: A clinical review, Viveknand Education Society's, College of Pharmacy, Mumbai, India, Year : 2011, Volume : 2 Issue : 1, Page : 66-70.
- 2.- Kshitish D1, Laxman VK, The use of ozonated water and 0.2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: a clinical and microbiologic study, Indian J Dent Res. 2010 Jul-Sep;21(3):341-8. doi: 10.4103/0970-9290.70796.
- 3.- Why consider ozone therapy/oxygen Spa as alternative treatment dallas fort worth? Available from: http://www.holisticbodyworker.com/ozone_therapy_documentation.html. [cited in 2010]
- 4.- Viebahn-Hänsler R. The use of ozone in medicine: Mechanisms of action. Munich May 23-25, 2003. Available from: <http://www.oxidationtherapy.com/pdfs/MechanismofAction.pdf>. [cited in 2003].
- 5.- Sharma M, Hudson JB. Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. Am J Infect Control 2008;36:559-63
- 6.- Johansson E, Claesson R, van Dijken JW. Antibacterial effect of ozone on cariogenic bacterial species. J Dent 2009; 37:449-53
- 7.- Martínez-Sánchez, G. Revista Española de Ozonoterapia, vol. 2, nº 1. pp. 163-198, 2012 Schwartz, A
- 8.- DIGGIE GAGE- Brit J Indus Med. 12:60, 1995

- 9.- VIEBAHN Haensler, The apparatus required for the preparation of a medical ozone mixture,1999.
- 10.- SCHWARTZ Adriana, "Guía Para El Uso Médico Del Ozono". Edición Aepromo2011, España
- 11.- Yokomizo A, Kanimoto Y, Okamura T, Ozono S, Koga H, Iwamura M, Tanaka H, Takahashi S, Tsushima T, Kanayama HO, Akaza H, Shinohara N, Mugiya S, Nomata K, Nakamura T, Naito
- 12.- Microbiota of the indoor environment: a meta-analysis.Adams RI, Bateman AC, Bik HM, Meadow JF.Microbiome.
- 13.- The effects of bedroom air quality on sleep and next-day performance. Strøm-Tejsen P, Zukowska D, Wargocki P, Wyon DP.
- 14.- Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. Ghosh B, Lal H, Srivastava A.
- 15.- Humans differ in their personal microbial cloud.Meadow JF, Altrichter AE, Bateman AC, Stenson J, Brown GZ, Green JL, Bohannan BJ.
- 16.- Microbiome interplay: plants alter microbial abundance and diversity within the built environment. Mahnert A, Moissl-Eichinger C, Berg G.
- 17.- Comparison of the Effects of Low-Level Laser Therapy and Ozone Therapy on Bone Healing. Alan H, Vardi N, Özgür C, Hüseyin A, Yolcu Ü, Doğan DO
- 18.- Ozone therapy in dentistry. A brief review for physicians. Domb WC.
- 19- Role of ozone therapy in minimal intervention dentistry and endodontics - a review.A SR, Reddy N, Dinapadu S, Reddy M, Pasari S.
- 20.- Evaluation of the clinical and antimicrobial effects of the Er:YAG laser or topical gaseous ozone as adjuncts to initial periodontal therapy.Yılmaz S, Algan S, Gursoy H, Noyan U, Kuru BE, Kadir T.

- 21.- Efficacy of ozone on microorganisms in the tooth root canal. Halbauer K, Prskalo K, Janković B, Tarle Z, Pandurić V, Kalenić S
- 22.- Antibacterial efficacy of prophylactic ozone treatment on patients with fixed orthodontic appliances. Aykut-Yetkiner A, Eden E, Ertuğrul F, Ergin E, Ateş M.
- 23.- Ozone therapy in dentistry: A strategic review. Saini R.
- 24.- Effectiveness of ozone against periodontal pathogenic microorganisms. Huth KC, Quirling M, Lenzke S, Paschos E, Kamereck K, Brand K, Hickel R, Ilie N
- 25.- The antibacterial effect of gas ozone after 2 months of in vitro evaluation. Polydorou O, Halili A, Wittmer A, Pelz K, Hahn P.
- 26.- Ozone in dentistry: microbiological effects of gas action depending on the method and the time of application using the ozonytron device. Experimental study. Wilczyńska-Borawska M, Leszczyńska K, Nowosielski C, Stokowska W.
- 27.- Outdoor air pollutants and patient health. Laumbach RJ.
- 28.- Ozone application in dentistry. Loncar B, Mravak Stipetic M, Matosevic D, Tarle
- 29.- The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardil
- 30.- Ozone therapy in medicine and dentistry. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL.
- 31.- Benito F.J y Rovira. G. La ozonoterapia tópica como alternativa al injerto cutáneo en los retrasos de cicatrización post-cirugía. Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana; 20 (1): 53-57; 1994.