



UNAM

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA.  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO.

ESPECIALIZACIÓN EN ORTODONCIA.

## **“EFICACIA DE LOS RAYOS ULTRAVIOLETA PARA LA ESTERILIZACIÓN DE ADITAMENTOS E INSTRUMENTAL UTILIZADOS EN ORTODONCIA”.**

Reporte de Investigación que presenta:

**C.D. Isaac García González.**

Para obtener el Título de Especialista en Ortodoncia en la modalidad  
de Tesis de Investigación.

Tutores: Dr. Eduardo Llamosas Hernández.

Asesor: Dra. Margarita Canales Martínez.

Los Reyes Iztacala, Edo de Mexico, 2016



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.

## Índice

Portada.....	I
Índice.....	II
Resumen.....	1
Introducción.....	3
Planteamiento del Problema.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos particulares.....	4
Preguntas de la investigación.....	4
Justificación.....	4
Marco Teórico.....	6
Esterilización.....	6
Desinfección.....	6
Criterios de indicación para la desinfección o esterilización.....	6
Esterilización en el Consultorio Odontológico.....	7
Instrumentos dentales.....	8
Factores que afectan la eficacia de los procesos de esterilización.....	8
Métodos físicos de esterilización.....	9
Calor Seco.....	10
Calor húmedo.....	10
Radiación ultravioleta (UV).....	11
Cloroxilenol, solución jabonosa.....	15
Cloruro de alquildimetilbencilamonio.....	16
Campana de flujo laminar.....	17
Microorganismos patógenos.....	17
<i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
<i>Candida albicans</i> .....	19
<b>Medios de cultivo.....</b>	<b>19</b>
<b>Agar Patata Dextrosa.....</b>	<b>20</b>
Müeller Hinton Agar.....	20

Hipótesis.....	21
Método Experimental.....	22
Diseño experimental.....	22
Método a emplear.....	23
Cuantificación de las bacterias y levaduras.....	28
Interpretación de resultados.....	29
Resultados .....	30
Discusión .....	33
Conclusiones .....	35
Apéndice .....	36
Referencias Bibliográficas .....	52

-Resumen.

Introducción: Las infecciones en clínicas, consultorios y hospitales constituyen un tema de extraordinaria actualidad por su frecuencia, gravedad y la repercusión humana y económica. Por ello es importante la prevención de las infecciones para poder otorgar un servicio médico/odontológico de calidad. Una opción para la esterilización de instrumental son las radiaciones ionizantes con luz ultravioleta (UV) que tienen una longitud de onda capaz de inactivar y/o eliminar microorganismos patógenos. Con este estudio se propone introducir los Rayos UV, como un proceso eficaz, al uso clínico para esterilizar aditamentos e instrumental ortodóntico.

Método: se inocularon 45 bandas metálicas estériles de ortodoncia con *Staphylococcus aureus* y 45 más con *Candida albicans* por 24hrs a 36°C. Se establecieron 9 subgrupos de 5 bandas cada uno y cada subgrupo fue sometido a diversos procesos de desinfección y esterilización. El subgrupo 1 (SG1) fue el grupo testigo y se mantuvo contaminado, el SG2 es el control negativo se esterilizó en calor húmedo, el SG3 fue esterilizado con calor seco, el SG4 fue lavado con agua y jabón líquido a base de cloroxilenol, el SG5 fue lavado y sometido al tallado con toallas desinfectantes de cloruro de benzalconio, los subgrupos 6-7-8 fueron lavados y sometidos a un abanico de radiaciones ionizantes con luz UV de 10, 20 y 30 minutos siendo volteadas a los 5-10-15 minutos respectivamente, el SG9 fue inoculado con saliva, fue enjuagado y lavado con jabón líquido y expuesto con rayos UV por 5 minutos de un lado y 5 minutos por el otro. Se cultivaron las bandas en caldo Muller Hinton y PDA por 24hrs a 36°C. Para contar el número de micoorganismos sobrevivientes se diluyeron los caldos 2 veces en NaCL 0.9%, se colocaron en cajas Petri de 3 divisiones y se incubaron por 24 hrs. A 36°C. Al final se contaron las unidades formadoras de colonias de cada muestra para conocer la concentración real de bacterias y levaduras de cada muestra.

Resultados y discusión: Tomando en cuenta que se utilizaron concentraciones inmensas de cepas tanto de *S. aureus* y *C. albicans*, una muestra limpia de agar Muller-Hinton o PDA significa que el proceso utilizado para la esterilización de bandas metálicas es efectivo. Así lo mostraron los siguientes subgrupos: SG-2 calor húmedo, SG-3calor seco, SG-5 toalla desinfectante a base de cloruro de alquildimetilbencilamonio, SG-6 rayos UV 10”, SG-7 rayos UV 20” y SG-8 rayos UV 30”.

El subgrupo inoculado con saliva SG-9 contiene una concentración menor de cepas bacterianas y de levaduras. Esta concentración es la que habitualmente encontramos en la cavidad bucal, por lo tanto los 10 minutos de rayos UV que se le administraron a las bandas metálicas fue suficiente para librarlas de ambos microorganismos. El lavado con agua y jabón (cloroxilenol) para remover la materia orgánica de las bandas es una parte fundamental para su desinfección seguido por su esterilización. Cualquier vestigio de materia orgánica es un riesgo de que el microorganismo prolifere; en especial si el tamaño de las bacterias (con un tamaño de  $1\mu\text{m}$ ) y levaduras (con un tamaño de  $10\mu\text{m}$ ) las hace adherirse a los espacios y hendiduras de los instrumentos dentales con mayor facilidad. Esto se pudo comprobar en la muestra 2 del SG8 ( $4 \times 10^4$  en *S. aureus*) y la muestra 4 del SG 5 ( $1.104 \times 10^7$  en *S. aureus*).

Las radiaciones ionizantes de los rayos ultravioleta resultaron eficaces en la esterilización de aditamentos metálicos utilizados en ortodoncia (bandas) en un tiempo de exposición de 10 minutos (5 minutos por el frente y 5 minutos por el reverso). El tiempo de esterilización fue reducido de 45 minutos del calor húmedo y 60 minutos del calor seco a tan sólo 10 minutos con rayos UV.

Para que la esterilización por medio de radiaciones ionizantes de luz ultravioleta sea posible, es necesario que se exponga en su totalidad la superficie de la banda metálica. De no ser así y si algún vestigio de unidades formadoras de colonias de bacterias o levaduras se encontrara presente, estas se reproducirán con el tiempo.

Conclusiones: Diez minutos de rayos ultravioleta, 5 minutos de un lado y 5 minutos del otro, fue tiempo suficiente para librar totalmente de microorganismos las bandas metálicas en concentraciones normales de cavidad bucal y en concentraciones mayores. El lavado y tallado mecánico es un paso fundamental para cualquier método de esterilización. Es necesario que los rayos UV alcancen a cubrir en su totalidad el área de los instrumentos que se requieran esterilizar.

-Introducción.

La limpieza, desinfección y esterilización constituyen los elementos primarios y más eficaces para romper la cadena epidemiológica de las infecciones dañinas para el ser humano. Para comprender la relevancia de estos factores en relación con la aparición de una variedad de infecciones es preciso comprender cómo se desarrolla y cuáles son sus determinantes.<sup>4</sup>

Las infecciones en clínicas, consultorios y hospitales constituyen un tema de extraordinaria actualidad por su frecuencia, gravedad, la repercusión humana y económica. Por ello es importante la prevención de las infecciones para poder otorgar un servicio médico/odontológico de calidad.<sup>7</sup>

Una infección está condicionada por tres determinantes principales: el huésped, el agente patógeno y el propio ambiente. Las medidas para la prevención y control de infecciones en odontología son la desinfección y la esterilización.<sup>2</sup>

La desinfección es un proceso físico y/o químico que mata o inactiva agentes patógenos tales como: bacterias, virus y hongos. Impidiendo el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa que se encuentren en objetos inertes.

Se entiende por esterilización el proceso mediante el cual se alcanza la muerte de todas las formas de vida microbianas, incluyendo bacterias, hongos y virus, lo que se lleva a cabo generalmente por medios físicos. En odontología comúnmente se utiliza calor seco o calor húmedo; siendo el tiempo de espera su mayor desventaja.<sup>7</sup>

Una opción para la esterilización de instrumental son las radiaciones ionizantes con luz ultravioleta (UV) que tienen una longitud de onda capaz de inactivar y/o eliminar microorganismos patógenos. La muerte de los microorganismos a causa de la luz UV implica mutaciones letales o modificaciones químicas en el DNA lo suficientemente eficaces como para interferir en replicaciones posteriores del microorganismo.

Con este estudio se propone introducir los Rayos UV, como un proceso eficaz, al uso clínico para esterilizar aditamentos e instrumental ortodóntico.<sup>9, 10</sup>

-Planteamiento del problema.

-Objetivos.

### General

Comprobar la eficacia de las radiaciones ionizantes con Rayos UV como método eficaz para esterilizar aditamentos e instrumental ortodóntico.

### Particulares

Comprobar si la esterilización con radiaciones ionizantes de rayos UV es un método más rápido que los métodos de esterilización comúnmente utilizado en aditamentos e instrumental ortodóntico.

Decretar la viabilidad de introducir la esterilización con rayos ultravioletas en la práctica ortodóntica.

-Preguntas de investigación.

-¿Serán los rayos ultravioleta, una opción eficaz para esterilizar instrumental ortodóntico?

-¿Podrán los rayos ultravioletas ser una alternativa más rápida a comparación de los métodos cotidianos para la esterilización de instrumental ortodóntico?

-Justificación.

Los practicantes de la odontología se ven constantemente expuestos a situaciones en las que diferentes agentes patógenos podrían ocasionarles daños. No solo a la salud del odontólogo sino también a la de sus pacientes y personal; es por ello que es necesaria una práctica adecuada en la desinfección y esterilización del instrumental para que sea seguro para todos.

Existen varias especialidades en la odontología y una de ellas es la ortodoncia la cual no está excluida de los riesgos, por lo que es importante tomar en consideración cada uno de los puntos de bioseguridad. En la actualidad uno de los problemas más importantes dentro de la consulta es el control de las infecciones cruzadas. Hoy en día se dispone de tecnología suficiente para desinfectar y esterilizar el instrumental. Es por eso que es importante estudiar las diferentes alternativas para el control bacteriano de los instrumentos utilizados en ortodoncia para evitar la contaminación cruzada.



Un factor importante a considerar es el tiempo en los procesos de esterilización del instrumental, los cuales oscilan entre los 45-80min en calor húmedo y seco. Un método más rápido de esterilización sería óptimo en clínicas y hospitales, dado el gran número de pacientes que se atienden en estos recintos. Por ello se propone el uso de radiaciones ionizantes de rayos ultravioleta como una alternativa en la desinfección y esterilización de instrumental semicrítico odontológico.

-Marco teórico

### Esterilización

Definición: Proceso de destrucción o muerte de microorganismos que se hallan en forma vegetativa y esporulada.

La esterilización puede realizarse por métodos químicos (germicidas) o físicos (calor seco, calor húmedo, desecación, ósmosis, filtros y radiación con rayos X, ultravioleta y gama). El método más eficaz y cotidiano es el calor húmedo (autoclave a 115°C/15 min). Si se aplica calor seco es necesario conseguir temperaturas más elevadas (170°C) y un tiempo de exposición mayor (60 min.) cuando los materiales que se desea esterilizar no soportan dichas temperaturas se recurre a vapores desinfectantes como el formol, el óxido de etileno o a la radiación gamma o ultravioleta.<sup>1</sup>

### Desinfección

Definición: Proceso físico o químico que mata o inactiva agentes patógenos tales como bacterias, virus y protozoos.

Impidiendo el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa que se encuentren en objetos inertes.

Los desinfectantes reducen los organismos nocivos a un nivel que no dañan la salud ni la calidad de los bienes perecederos. Algunos, como los compuestos fenólicos, pueden actuar también como antisépticos.

Los desinfectantes se aplican sobre objetos inanimados, como instrumentos y superficies, para tratar y prevenir las infecciones. Se deben distinguir los desinfectantes de los sanitizantes que son sustancias que reducen el número de microorganismos a un nivel seguro.<sup>2</sup>

### Criterios de indicación para la desinfección o esterilización.

En 1968, Earl Spaulding estableció el primer criterio para la desinfección con el objetivo de racionalizar las indicaciones del procesamiento de los materiales médicos y del instrumental. Spaulding consideró el grado de riesgo de infección que existe con el empleo de estos artículos y los clasificó de la siguiente manera<sup>2</sup>:

1. Artículos críticos: Son aquellos instrumentos que entran en contacto con cavidades o tejidos estériles incluyendo el sistema vascular. Estos artículos representan un alto riesgo de infección si están contaminados con cualquier microorganismo por lo que deben ser siempre estériles. Por ejemplo, el instrumental quirúrgico, las sondas cardíacas, los catéteres y las prótesis.
2. Artículos semicríticos: Son aquellos instrumentos que entran en contacto con la mucosa de los tractos respiratorios, genitourinario y con la piel que no se encuentra intacta. Aunque las mucosas son generalmente resistentes a las infecciones por esporas bacterianas, pueden presentar infección cuando se contaminan con otras formas microbianas. Por tal razón deben ser estériles, o bien mínimamente, deben ser sometidos a Desinfección de Alto Nivel (DAN) con formaldehído, glutaraldehído, peróxido de hidrógeno. Por ejemplo, los equipos de asistencia respiratoria, anestesia, así como los equipos endoscópicos.
3. Artículos no críticos: Son todos los instrumentos que sólo tienen contacto con la piel intacta. En este caso, la piel sana actúa como una barrera efectiva para evitar el ingreso de la mayoría de los microorganismos y por lo tanto el nivel de desinfección requiere ser menor. En general, sólo exige limpieza adecuada, secado y en algunas ocasiones desinfección de nivel intermedio o de bajo nivel. Como ejemplo podemos citar la ropa de cama, las incubadoras, los colchones y los muebles en general.<sup>3</sup>

#### Esterilización en el Consultorio Odontológico.

La correcta aplicación de los métodos de esterilización es fundamental para la prevención de la infección cruzada en el consultorio odontológico. Lo ideal sería que todos los elementos usados sean estériles.<sup>4</sup>

Los procedimientos de esterilización deben reunir ciertos requisitos, los cuales son:

1. Deben ser simples pero eficaces.
2. Deben ser de corta duración para que sea posible disponer rápidamente de los instrumentos y los materiales estériles.
3. No deben alterar el instrumental ni los materiales.

4. No deben contaminar el ambiente.

Por estos motivos la temperatura y el tiempo de esterilización son muy importantes, dado que ambos factores determinan la eficacia del método de esterilización empleado.<sup>5</sup>

Instrumentos dentales.

Los artículos científicos y la publicidad incrementada acerca de la potencial transmisión de agentes infecciosos en la práctica odontológica, focalizó la atención de los profesionales de esta disciplina sobre los instrumentos dentales como posibles agentes de transmisión de enfermedades.

La ADA (American Dental Association), establece que todo elemento quirúrgico o que normalmente penetre en algún tejido blando o hueso (fórceps, escalpelos, elementos de aspiración quirúrgica, tallador de huesos, etcétera) están clasificados como crítico y recomienda que sea esterilizado o descartado entre usos.

Los instrumentos que no penetran en los tejidos o el hueso (condensador de amalgama, jeringa de aire/agua, etcétera), pero que están en contacto con la cavidad oral, son considerados semicríticos, y también deben ser esterilizados entre cada uso. Las piezas de mano que no toleran altas temperaturas deben ser reemplazadas por otras que sí se pueden exponer al calor.<sup>6</sup>

Factores que afectan la eficacia de los procesos de esterilización.

Los factores que afectan la eficacia de los procesos de esterilización son:

- Número de microorganismos.
- Materia orgánica.
- Tiempo.
- Temperatura.
- Humedad relativa.
- Estandarización de la carga.

Keene (1996) y Rutala (1993) describieron estos factores, que deben tenerse muy en cuenta a fin de realizar un adecuado proceso de esterilización.<sup>7</sup>

- a. Número de microorganismos. Este es un factor fundamental ya que es uno de los dos factores que miden la efectividad de los diferentes procesos de esterilización.
- b. Materia orgánica. La presencia de materia orgánica dificulta la eliminación de los microorganismos pero es uno de los factores fácilmente modificables.

\*Estos dos factores justifican la importancia de la limpieza antes de la esterilización, para garantizar siempre una disminución de riesgos que afecten dicho proceso.

- c. Tiempo. Por medio del tiempo se evalúa la función de los métodos de esterilización.
- d. Temperatura. Al aumentar la temperatura durante un proceso específico de esterilización, su efectividad aumenta pues cuando ésta es superior a la temperatura óptima de crecimiento de un microorganismo generalmente provoca la muerte del mismo.
- e. Humedad relativa. Se define como la fracción de presión de vapor de agua en un sistema con respecto a otro sistema con la máxima presión (saturado 100%) y a la misma temperatura. A mayor humedad relativa, mayor contenido de agua en las células o esporas y mejor resultado final de esterilización. Es decir, más rápido.
- f. Estandarización de la carga. La carga a esterilizarse es muy variable, puede cambiar con respecto al número de instrumentos, volumen de carga, tamaño de los instrumentos y contenido de los paquetes. Es importante estandarizar los procesos de esterilización según los diferentes artículos de la carga ya que la efectividad del método puede variar en función de los artículos.

Métodos físicos de esterilización.

La esterilización se puede llevar a cabo por altas temperaturas, bajas temperaturas, radiaciones, filtración y desecación. Las altas temperaturas combinadas con un alto grado de humedad son uno de los métodos más efectivos para destruir microorganismos.<sup>5</sup>

Hay que distinguir entre calor húmedo y calor seco. El calor húmedo mata a los microorganismos porque coagula sus proteínas siendo más rápido y efectivo que el calor seco que los destruye al oxidar sus constituyentes químicos.

#### Calor Seco.

La esterilización por calor seco produce la destrucción de los microorganismos por oxidación de sus componentes celulares.<sup>5</sup> Éste es un proceso menos eficiente que la esterilización por calor húmedo, porque los microorganismos mueren con mayor rapidez cuando se encuentran en presencia de agua, ya que éste permite que se altere con mayor facilidad la configuración de sus proteínas y proporciona un medio para distribuir el calor uniformemente en toda la cámara interna del equipo de esterilización. Se necesitan temperaturas más elevadas y tiempos más prolongados de calentamiento y mantenimiento.

Los esterilizadores con calor seco funcionan entre 160 y 190° C, según el tipo de aparato. La principal ventaja del calor seco es que el instrumental de acero al carbono no se corroe, como ocurre con la esterilización por vapor.<sup>5</sup>

El calor seco produce desecación de la célula, efectos tóxicos por niveles elevados de electrolitos, procesos oxidativos y fusión de membranas. Estos efectos se deben a la transferencia de calor desde los materiales a los microorganismos que están en contacto con éstos.

El aire es mal conductor del calor y el aire caliente penetra más lentamente que el vapor de agua en materiales porosos. La acción destructiva del calor sobre proteínas y lípidos requiere mayor temperatura cuando el material está seco o la actividad de agua del medio es baja. Esto se debe a que las proteínas se estabilizan mediante uniones puente de hidrógeno intramoleculares que son más difíciles de romper por el calor seco. Por esta razón, para lograr la esterilización del material empleando el calor seco, se deben aplicar temperaturas más altas durante mayor tiempo.<sup>8</sup>

#### Calor húmedo.

El calor húmedo es el método de elección y el más común para la esterilización del instrumental odontológico. Se trata de un método muy eficaz, porque el vapor de agua

tiene buena penetración en la célula, por lo tanto el tiempo de esterilización es más corto y se requiere menor temperatura a comparación del calor seco.

Una esterilización segura con calor húmedo requiere temperaturas mayores a las del punto de ebullición del agua. Estas temperaturas son comúnmente alcanzadas por el vapor bajo presiones elevadas en un autoclave. Cuando la presión de un gas aumenta, la temperatura del gas aumenta proporcionalmente. Como el vapor de agua es un gas, el aumentar su presión en un sistema cerrado aumentará su temperatura. Como las moléculas de agua están más energizadas, su penetración aumenta sustancialmente.

El calor húmedo mata microorganismos a través de la desnaturalización de sus proteínas, lo que es causado por la ruptura de puentes de hidrógeno que mantienen a las proteínas en su forma tridimensional, las proteínas por lo tanto regresan a su estructura secundaria, se coagulan y se convierten en proteínas no funcionales.

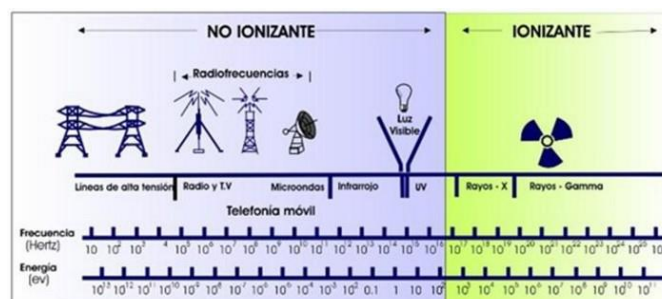
Actualmente se recomiendan dos combinaciones diferentes de temperaturas y tiempos que posibilitan un ciclo de esterilización correcto en autoclave. A estos tiempos hay que sumarles el tiempo de calentamiento y el tiempo de refrigeración.

Se programan a 134°C a 2 atm o 30 PSI (Pounds Square Inch) durante 18 minutos y 121°C a 1 atm o 15 PSI durante 20 minutos.

Existen ciclos rápidos o flash a 134° C durante 3 o 10 minutos, dependiendo si el instrumental esté desenvuelto o envuelto. Existen distintos tipos de autoclaves automáticos para consultorio: pequeños, de carga frontal y de cassette.<sup>5</sup>

#### Radiación ultravioleta (UV).

Se denomina radiación ultravioleta o radiación UV a la radiación electromagnética cuya longitud de onda está comprendida aproximadamente entre los 400 nm y los 15 nm. Su nombre proviene de su rango, el cual empieza desde longitudes de onda más cortas de lo que los humanos identificamos como el color violeta. Esta radiación es parte integrante de los rayos solares y produce varios efectos en la salud.<sup>9</sup>



La muerte de los microorganismos a causa de la luz UV implica mutaciones letales o modificaciones químicas en el DNA suficientes como para causar la muerte del microorganismo, ya que interfieren sobre las replicaciones posteriores. Estas radiaciones pueden producirse artificialmente con lámparas de mercurio, pero su energía es baja y su poder de penetración es muy escaso. No atraviesan los materiales empaquetados ni tampoco el vidrio y el plástico.<sup>5</sup>

El descubrimiento de la radiación ultravioleta está asociado a la experimentación del oscurecimiento de las sales de plata al ser expuestas a la luz solar.

El físico alemán Johann Wilhelm Ritter descubrió en 1801 que los rayos invisibles situados justo detrás del extremo violeta del espectro visible eran especialmente efectivos oscureciendo el papel impregnado con cloruro de plata. Denominó a estos rayos "rayos desoxidantes" para enfatizar su reactividad química y para distinguirlos de los "rayos calóricos" (descubiertos por William Herschel) que se encontraban al otro lado del espectro visible. Poco después se adoptó el término "rayos químicos". Estos dos términos, "rayos calóricos" y "rayos químicos" permanecieron siendo bastante populares a lo largo del siglo XIX. Finalmente estos términos fueron dando paso a los más modernos de radiación infrarroja y ultravioleta respectivamente.

La luz ultravioleta tiene diversas aplicaciones. Una de las aplicaciones de los rayos ultravioleta es como forma de esterilización, pueden eliminar toda clase de bacterias y virus sin dejar residuos, a diferencia de los productos químicos.<sup>9</sup>

La radiación ultravioleta solar está constituida de cuatro rangos de longitud de onda:

1. UV Vacío (10 - 200 nm), absorbido por el Ozono a 35KM de altura.
2. UV-C (200 - 300 nm), Germicida, onda corta.
3. UV-B (280-315 nm), quemaduras y cáncer de piel.
4. UV-A (315-400 nm), Luz negra, onda larga.

Se sabe que los microorganismos tienen la máxima absorción de luz UV a 260 nm. Basado en este conocimiento se construyó en Suiza (1910) el primer prototipo de lámpara de radiación ultravioleta que resultó eficaz para la destrucción de microorganismos tales como: bacterias, levaduras y mohos. A partir de los años 40 se perfeccionó la fabricación de las lámparas UV-C y en 1955 se obtuvieron las primeras lámparas construidas en



cuarzo y con longitudes de onda de 253.7 nm, las cuales resultaron realmente efectivas. Las aplicaciones que se realizaron fueron principalmente para esterilizar agua.<sup>10</sup>

Los Rayos UV pueden ocasionar daño al ser humano, la radiación UV-C (la más perjudicial para la vida) no llega a la tierra al ser absorbida por el oxígeno y el ozono de la atmósfera; la radiación UVB es parcialmente absorbida por el ozono y sólo llega a la superficie de la tierra en un porcentaje mínimo, pese a lo que puede producir daños en la piel. Entre los daños que los rayos ultravioleta pueden provocar se incluyen el cáncer de piel, envejecimiento de ésta, irritación, arrugas, manchas o pérdida de elasticidad, así como afecciones a nivel ocular. También pueden desencadenar lupus eritematoso sistémico.<sup>10</sup>

La radiación UV-C, o germicida, es generada por el sol pero no es manejable por el hombre, por lo que debe ser producida artificialmente. Ella se genera mediante las lámparas UV, conocidas como germicidas, que son similares en diseño a las fluorescentes. La Luz UV es emitida como resultado de un flujo de corriente (arco foto voltaico), a través de vapor de mercurio a baja presión, entre los electrodos de la lámpara, produciendo la mayor parte de su emisión a 253,7 nanómetros.

La lámpara germicida tiene un envoltorio de cuarzo puro. Ésta es la principal diferencia con una lámpara fluorescente corriente. Este cuarzo puro es altamente transmisible a la luz UV. En cambio, la lámpara fluorescente tiene un vidrio con una película interior de fósforo, la cual convierte la luz UV en luz visible. El tubo de cuarzo de la lámpara UV transmite  $\pm$  95% de la energía UV, en cambio un vidrio emite no más de un 65% y se solariza rápidamente.

Hemos visto que el efecto destructivo de la luz UV sobre bacterias, hongos, virus y otros organismos unicelulares está en función de la longitud de onda. La más efectiva es la de 253.7 nanómetros. Los microorganismos difieren en su forma y en sus ciclos de vida, aunque son similares en su constitución nuclear.<sup>17</sup>

Los microorganismos son destruidos por la penetración de la radiación UV. Ésta es absorbida por el ácido nucleico (ADN) causando una modificación en sus componentes que alteran su reproducción genética quedando inhabilitados para replicarse, es decir, quedan estériles.<sup>10</sup>

La máxima absorción de luz UV, por parte del ácido nucleico de los microorganismos ocurre a una longitud de onda de 253.7 nm. Puesto que las lámparas germicidas emiten en una longitud de 254 nm, el resultado de la luz UV es óptimo.<sup>13</sup>

Los daños inducidos por los rayos UV en los sistemas biológicos, tradicionalmente se ha atribuido a la absorción directa de fotones UV por los ácidos nucleicos, resultando en lesiones que bloquean la replicación del ADN y la transcripción del ARN, esto conlleva a la muerte celular.<sup>17</sup>

Adicionalmente el daño también puede surgir a través de procesos de fotosensibilización que implica la absorción de luz UV por un fotosensibilizador endógeno o exógeno. El sensibilizador excitado electrónicamente entra en un proceso de desintegración o puede dañar otro material celular a través de reactivos oxidativos.<sup>17</sup>

El daño celular por fotosensibilización puede ocurrir por dos grandes vías, a menudo llamados mecanismos tipo I y tipo II. En el tipo I, el sensibilizador excitado electrónicamente reacciona directamente con el componente celular, restando un electrón o átomo de hidrógeno del núcleo celular, resultando en la formación de radicales libres (por ejemplo, iones superóxido y radicales hidroxilo) que inicia reacciones en cadena.

El mecanismo de Tipo II implica la transferencia de energía desde el sensibilizador al oxígeno molecular con la consiguiente formación de un estado oxidativo. Como consecuencia de fotosensibilización, varias reacciones citotóxicas son desencadenadas en las células, incluyendo la interrupción de transporte de la membrana celular, la inactivación de diferentes enzimas y el daño del ADN que puede, finalmente, conducir a la muerte celular.<sup>11</sup>

La efectividad alcanza a un 100%. Por esta razón es utilizada en destruir la *E. coli*, (presente en las heces humanas la que es usada como patrón de medida). Los equipos de UV son a menudo llamados esterilizadores debido a su alta eficiencia. Los microorganismos difieren en la sensibilidad al efecto de la luz UV. Esta variación se debe a la estructura de la pared celular, la composición química, la presencia de proteínas o la diferencia en la estructura del ácido nucleico mismo.

Tang Z. y Sillanpää M. en Finlandia 2015 crearon un índice de inhibición de bacterias a partir de la *E. coli* utilizando luz ultravioleta como medio desinfectante a diferentes dosis, reportadas anteriormente por diversas publicaciones científicas. Siendo la más precisa la de “C.W. McKinney y A. Pruden, “Ultraviolet disinfection of antibiotic resistant bacteria and their antibiotic resistance genes in water and wastewater, Environ. Sci. Technol. 46 (24) (2012) 13393–13400.”<sup>12</sup>

Para desinfectar, o mejor dicho, esterilizar a los microorganismos es necesario aplicar ciertas dosis de radiación ultravioleta. La dosis de radiación UV se obtiene por el producto entre la intensidad y el tiempo de reacción.

Chen A., Dong W. y Xiaoyan H. en China 2014 descubrieron que la luz ultravioleta pulsante tiene mejor efectividad en la inhibición reproductiva de las bacterias a comparación de una dosis constante de luz UV ambas a la misma longitud de onda 253.7 nm.<sup>13</sup>

La intensidad es la cantidad de energía UV por unidad de área medida en microwatts por centímetro cuadrado. El tiempo de reacción o contacto es la cantidad de tiempo que el fluido es expuesto a la luz UV en el foto reactor (medido en segundos). La dosis de UV es expresada en microwatts segundo por centímetro cuadrado.<sup>9</sup>

En un estudio para la esterilización de implantes dentales, realizado en Genua, Italia 2005. Riley D. Bavastrello V. se realizó la esterilización de los implantes dentales con Rayos UV al momento de la cirugía, esto ayudó a reducir el riesgo de que el paciente presente peri-implantitis. Demostraron que la luz ultravioleta aplicada durante un minuto sobre el implante, era capaz de inhibir 650 millones U.F.C. (unidades formadoras de colonias) por centímetro cuadrado del área del implante. Además en cortes histológicos, descubrieron que los implantes a los que se les aplicaron rayos UV tenía una mejor osteointegración en el hueso alveolar.<sup>14</sup>

Cloroxilenol, solución jabonosa.

El cloroxilenol es un desinfectante y antiséptico derivado del fenol, cuyo halógeno en posición para, y ambos metilos, en posición meta, le brindan menor toxicidad, mayor

potencia y una acción bactericida 35 veces mayor a la del fenol, por lo cual es muy útil y efectivo para la desinfección general y para el uso externo local.

Sus propiedades germicidas se deben a su elevado coeficiente de partición, por lo cual penetra con facilidad a través de las membranas celulares de las bacterias, se combina con las proteínas protoplasmáticas, las desnaturaliza y las precipita. Esta unión cloroxilenol-proteína no es estable, el cloroxilenol se libera y difunde por los tejidos como un veneno plasmático, sin afectarse significativamente por la presencia de materia orgánica. En concentraciones menores, la acción germicida se atribuye a la inactivación de sistemas enzimáticos bacterianos vitales. Es muy poco soluble en agua, fácilmente soluble en alcohol, terpenos, aceites no volátiles y en soluciones alcalinas. Su preparación en un medio jabonoso alcalino, a partir de aceites naturales (ricino, oleico, terpineol), favorece la estabilidad de la droga, la penetración y la persistencia de su acción en las superficies y/o sobre los tejidos. El cloroxilenol se absorbe a través de la piel desnuda y de las mucosas, pero muy poco por la piel intacta. En soluciones, o suspensiones, acuosas este derivado fenólico es poco irritante.

#### Cloruro de alquildimetilbencilamonio.

El cloruro de benzalconio es un desinfectante, bactericida e inhibidor de la actividad viral, utilizado como sanitizante y desinfectante. Se utiliza como antiséptico de la piel, membranas mucosas y heridas. Es bacteriostático a dosis bajas y bactericida a dosis altas, pero solamente es activo contra bacterias “Gram positivas”. La solución presenta una baja tensión superficial y propiedades detergentes y emulgentes. También tiene propiedades como astringente suave. Las pastillas conteniendo cloruro de benzalconio se usan para el tratamiento de infecciones superficiales de la boca y la garganta. Se usa también como espermicida. Se emplea mucho en soluciones oftálmicas. No obstante, no es adecuado en aquellas que contienen anestésicos locales, ya que acelera los efectos deshidratantes de éstos.

Mecanismo de acción: su acción se ha atribuido a la inactivación de las enzimas productoras de energía, desnaturalización de las proteínas celulares esenciales y la ruptura de la membrana celular. Tienen acción bactericida a tres niveles: alteración de la membrana celular, desnaturalización de proteínas e inactivación enzimática. Son activos contra bacterias y algunos virus, hongos y protozoos. Estos mecanismos de acción

parecen ser debidos a su estructura anfipática; gracias a las cadenas carbonadas (hidrófobas) penetra en las membranas, mientras que a través del nitrógeno catiónico (hidrófilo) interacciona con los fosfatos de los fosfolípidos. Por esta alteración se produce una salida del material citoplasmático hacia el exterior y la alteración celular. Son activos a cualquier pH, pero su pH óptimo de actuación es el alcalino. Su actividad se refuerza por los alcoholes.

Tiene propiedades fungicidas, específicamente sobre los géneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Candida*. Las soluciones de cloruro benzalconio son agentes biocidas de rápida acción con una moderadamente larga duración de acción. Las esporas bacterianas son consideradas resistentes.

Las soluciones son bacteriostáticos o bactericidas en función de su concentración. Las bacterias Gram-positivas son generalmente más susceptibles que los Gram-negativas. La actividad no se ve muy afectada por el pH, pero aumenta considerablemente en temperaturas más altas y tiempos de exposición prolongados.

#### Campana de flujo laminar.

Es un recinto que emplea un ventilador para forzar el paso de aire a través de un filtro de alta eficiencia de arresto molecular (HEPA por sus siglas en inglés) la cual proporciona aire limpio a la zona de trabajo, libre de partículas de hasta 0.1 micras. Este tipo de equipos se fabrican en forma generalmente prismática con una única cara libre (la frontal) que da acceso al interior, donde se localiza la superficie de trabajo, que normalmente permanece limpia y estéril.

#### Microorganismos patógenos.

Es importante conocer los microorganismos utilizados en el estudio para conocer el daño y grado de patogenicidad que estos pueden alcanzar a desarrollar en el ser humano y así justificar la importancia de erradicarlos en los aditamentos e instrumental ortodóntico.

*Staphylococcus aureus.*

Es una bacteria anaerobia facultativa, Gram positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella.

Puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, tales como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica secretada por la bacteria.<sup>15</sup>

En la actualidad, este microorganismo se encuentra como el principal causante de las infecciones nosocomiales. Esta situación se ve favorecida por el hecho de que esta especie habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario, con un objeto contaminado o incluso con otro paciente.

Las cepas habituales de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la penicilina, dejando como los antibióticos más eficaces para combatirlos a los aminoglucósidos, las cefalosporinas, la oxacilina o la nafcilina. Además de la administración del tratamiento antimicrobiano correspondiente, puede ser conveniente, en función del caso, la eliminación de puertas de entradas como catéteres venosos permanentes o drenajes quirúrgicos.

Prevenir la transmisión horizontal de estafilococos de una persona a otra es sumamente difícil, no obstante, seguir medidas como una buena técnica aséptica, difundir el correcto lavado de manos (no solo a nivel hospitalario) y la cobertura de las superficies de piel expuestas son buenas medidas para prevenir infecciones por este y otros microorganismos.<sup>16</sup>

### *Candida albicans.*

Es un hongo diploide asexual (forma de levadura) saprófito de la familia de los Sacaromicetos. Normalmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Está envuelta en un rol relevante en la digestión de los azúcares mediante un proceso de fermentación.

La *C. albicans* puede asumir patogeneidad provocando la candidiasis; en ese caso se presenta como una afección vaginal, cavidad oral, intestino y en piel.<sup>6</sup>

La *C. albicans* es una levadura diploide que causa infecciones oportunistas en el ser humano. Aunque existen variaciones genéticas de acuerdo a su especie, estudios han demostrado que el organismo se reproduce principalmente por propagación de clonación con bajos niveles de recombinación; se le da el nombre de ciclo parasexual. La recombinación homóloga, en la reproducción parasexual, juega un papel importante en la diversificación genética ya que recombina los alelos del mismo cromosoma o combina alelos de diferentes cromosomas. La recombinación homóloga es crucial para la *C. albicans* ya que se encarga de la reparación del DNA dañado. La recombinación homóloga utiliza proteínas de los cromosomas Rad52 y Rad 59 para su proceso. La luz ultravioleta ha reportado ser dañina a las proteínas de Rad51 , Rad52 y Rad59, lo que afecta directamente a la reproducción parasexual de la levadura.<sup>17</sup>

En un huésped debilitado, inmunodeprimido o convaleciente de un larga cura antibiótica, la *C. albicans* se multiplica en modo anómalo y atraviesa el intestino, para entrar al torrente sanguíneo, donde libera sus propias toxinas provocando la candidemia. Este fenómeno da lugar a algunos síntomas abdominales: mala digestión, gases e inflamación, molestias intestinales (estreñimiento o diarrea), intolerancia alimentaria, irritabilidad, insomnio, pérdida de la memoria, dolores de cabeza y depresión.

La candidosis induce también una disminución de la absorción de las sustancias nutritivas por lo que se podría producir un estado de malnutrición.<sup>18</sup>

### Medios de cultivo.

Un medio de cultivo consta de un gel o una solución que cuenta con los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento

de virus, microorganismos, células, tejidos vegetales o incluso pequeñas plantas. Según lo que se quiera hacer crecer, el medio requerirá unas u otras condiciones.

#### Agar Patata Dextrosa.

El agar de patata y dextrosa (APD1 ) y el caldo de patata y dextrosa son medios comunes de cultivo microbiológico que se preparan a partir de infusión de patata y dextrosa. El agar de patata y dextrosa es el medio más utilizado para el crecimiento de hongos y levaduras que atacan a las plantas vivas o materia vegetal muerta en descomposición. El agar de patata y dextrosa puede ser suplementado con antibióticos o ácidos para inhibir el crecimiento bacteriano. Este medio es recomendado para realizar el recuento colonial. También puede ser utilizado para promover el crecimiento de hongos y levaduras de importancia clínica.<sup>19</sup>

La base del medio es altamente nutritiva y permite la esporulación y la producción de pigmentos en algunos dermatofitos. Algunos procedimientos señalan bajar el pH del medio a  $3.5 \pm 0.1$  con ácido tartárico al 10 %, para inhibir el crecimiento bacteriano. La infusión de patata promueve un crecimiento abundante de los hongos y levaduras y el agar es adicionado como agente solidificante.

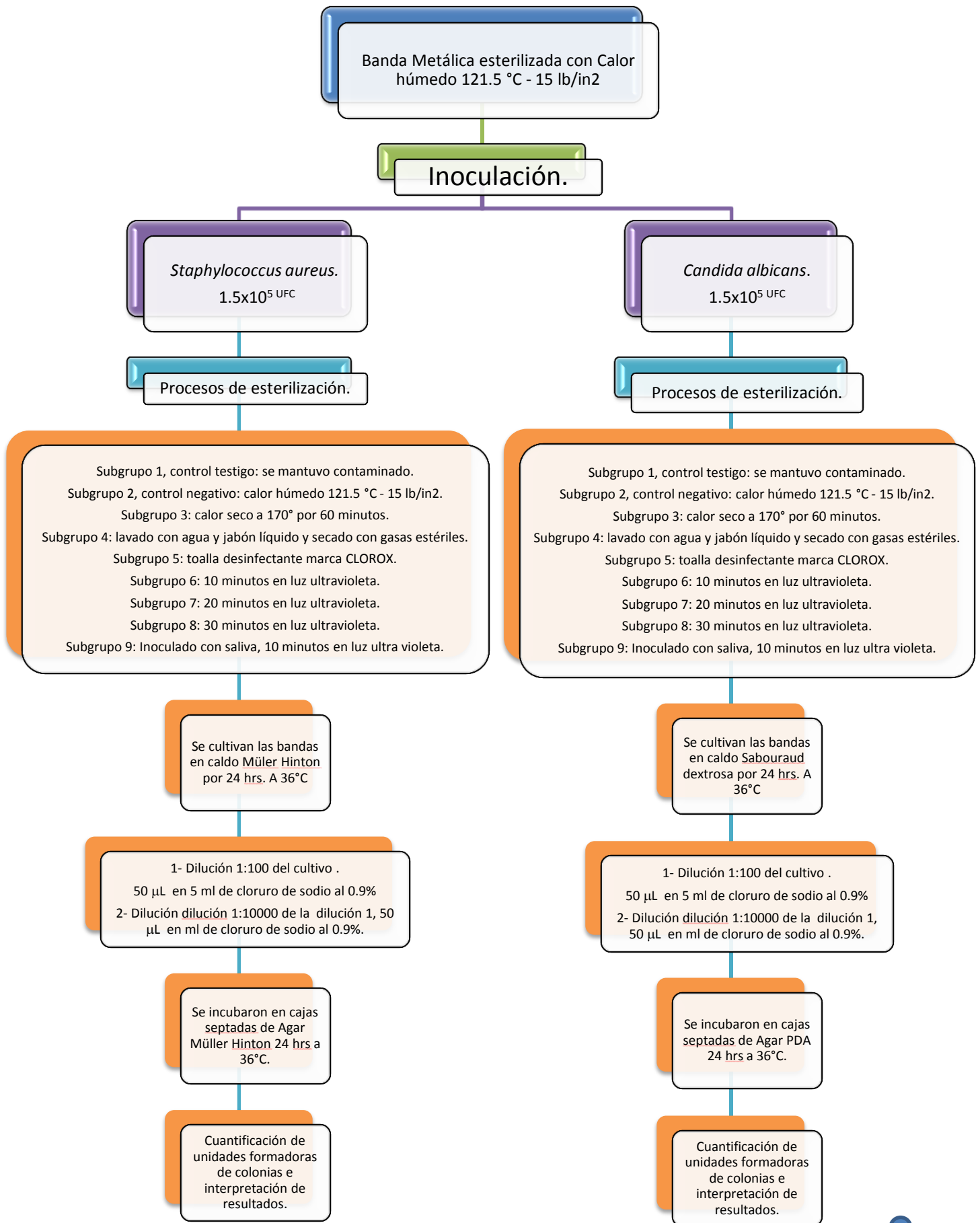
#### Müller Hinton Agar.

Es un medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) antiguamente llamado National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a que presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos adicionales que han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo. Cuando se suplementa con sangre de carnero al 5%, permite realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos. También, con el agregado de sangre puede utilizarse para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes.<sup>20</sup>



-Hipótesis.

Se ha demostrado que las irradiaciones ionizantes con rayos ultravioleta son capaces de inhibir la reproducción de bacterias y levaduras, por ello es un método seguro y eficaz que se puede aplicar en instrumental ortodóntico para reducir el tiempo de esterilización en comparación con métodos de esterilización convencionales.



-Método experimental.

Se realizó un estudio experimental, prospectivo, comparativo con post-prueba y grupo control.

Para la presente investigación se utilizaron bandas metálicas para ortodoncia y fueron contaminadas con 2 microorganismos, una bacteria y una levadura:

1. *Staphylococcus aureus*.

2. *Candida albicans*.

Por cada microorganismo, se formaron 9 subgrupos con 5 bandas cada uno. Estas bandas fueron preparadas, mediante un proceso de lavado y cepillado con agua y jabón líquido(imagen 9), secado(imagen 10), divididas por grupo en bolsas para esterilizar en autoclave marca Eco-Shell model CVQ-B50L y sometidas al proceso de esterilización con calor húmedo (imagen 1).

Se trabajó en una campana de flujo laminar y cada banda se manipuló con instrumental y guantes estériles para asegurar su estado estéril (imagen 2). Las bandas se transportaron en bolsas estériles para autoclave. Posteriormente se contaminaron los 2 grupos de bandas con el microorganismo correspondiente (imagen 6).



Imagen- 1 Autoclave



Imagen- 2 Campana de flujo laminar.

Medio de cultivo.

Se utilizó como medio de cultivo estándar el agar y caldo Müller-Hinton para la cepa bacterianas(imagen 3 y 4), caldo Sabouraud y papa dextrosa agar (PDA) para la cepa de levadura. Es importante que el medio de cultivo alcance en la placa un espesor uniforme de 4 mm para facilitar el crecimiento de la cepa.



Imagen- 3 Preparación del Agar en parrilla eléctrica.



Imagen- 4 Preparación de caldo de cultivo en parrilla eléctrica.

Inóculo.

Con un asa de siembra se tocaron las superficies convexas de 4 o 5 colonias (imagen 5). Se sumergió el asa en 10 mL de caldo Müller-Hinton (bacterias) o caldo Sabouraud (levaduras), se enjuagó bien en el líquido para descargar todo el material y luego se retiró el asa, el tubo de cultivo se incubó a 36°C durante aproximadamente 18 a 24 horas (imagen 7 y 8), o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar N° 0.5 de MacFarland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL. El estándar 0.5 de MacFarland se prepara añadiendo 0.5 mL de sulfato de bario a 99.5 ml de  $H_2SO_4$  0.36 N.



Imagen- 5 UFC (unidades formadoras de colonia) *Staphylococcus aureus*

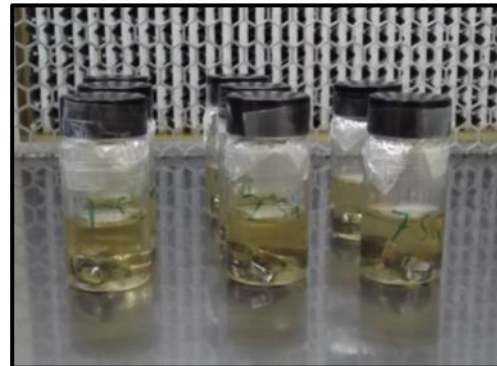


Imagen- 6 Inoculación de bandas metálicas en caldo de cultivo.

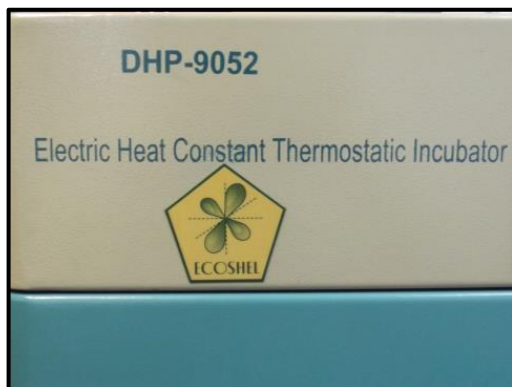


Imagen- 7 Incubadora termostática de temperatura constante.

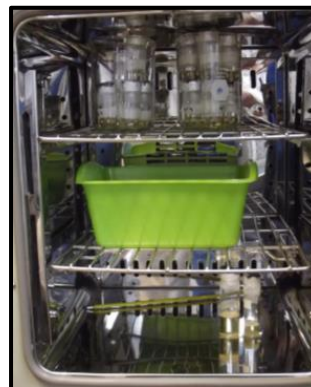


Imagen- 8 Incubación a 36°C por 24 hrs.

Una vez que se cuenta con los cultivos con  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL, se tomaron 50  $\mu$ L de estos cultivos y se colocaron en frascos viales con 5mL de caldo y se utilizaron para sumergir las bandas metálicas de ortodoncia (imagen 6) y se cultivaron a 36°C durante 24 horas. Las bandas infectadas se sometieron a los procesos respectivos de esterilización. Un subgrupo de bandas fue inoculado con saliva en caldo Muller Hinton de 18-24 horas.

Después de ser inoculados, cada uno de los grupos fue sometido a los siguientes procesos donde se utilizaron guantes y pinzas estériles para evitar cualquier contaminación cruzada.

Sub-grupo	Descripción.
1	Control testigo: se mantuvo contaminado, solamente se enjuagó en agua destilada para remover el exceso de cepas en la superficie de las bandas.
2	Control negativo: se enjuagó en agua destilada y fue sometido al proceso de lavado con agua jabón líquido, secado y sometido a esterilización con calor húmedo (autoclave) (imagen 1).
3	Se enjuagó en agua destilada y sometido al proceso de lavado con agua y jabón líquido y secado con gasas estériles. Posteriormente se sometió al proceso de esterilización en un horno de calor seco a 170° por 60 minutos (imagen 12).
4	Se enjuagó en agua destilada y sometido al proceso de lavado con agua y jabón líquido marca Axió tricolor con cloroxilenol y secado con gasas estériles (imagen 9 y 10).
5	Se enjuagó en agua destilada y sometido al proceso de lavado con agua y jabón líquido y secado con gasas estériles. Cada banda fue tallada con una toalla desinfectante marca CLOROX a base de cloruro de benzalconio (imagen 13 y 14).

6	Se enjuagó en agua destilada y sometido al proceso de lavado con agua y jabón líquido y secado con gasas estériles. Posteriormente fue expuesto 5 minutos a luz ultra violeta. Se voltearon las bandas y fue expuesto 5 minutos más a la luz ultravioleta (imagen 15). Se utilizó un equipo esterilizador de luz ultravioleta serie:D14591 de la marca: Industrias B.G.
7	Se enjuagó en agua destilada y sometido al proceso de lavado con agua y jabón líquido y secado con gasas estériles. Posteriormente fue expuesto 10 minutos a luz ultra violeta. Se voltearon las bandas y fue expuesto 10 minutos más a la luz ultravioleta.
8	Se enjuagó en agua destilada y sometido al proceso de lavado con agua y jabón líquido y secado con gasas estériles. Posteriormente fue expuesto 15 minutos luz ultra violeta. Se voltearon las bandas y fue expuesto 15 minutos más a la luz ultravioleta.
9	Fue inoculado con saliva y se enjuagó en agua destilada y sometido al proceso de lavado con agua y jabón líquido y secado con gasas estériles. Posteriormente fue expuesto 5 minutos a luz ultra violeta. Se voltearon las bandas y fue expuesto 5 minutos más a la luz ultravioleta (imagen 16).



Imagen- 9 Enjuague con agua destilada y lavado con jabón líquido marca Axion tricolor.

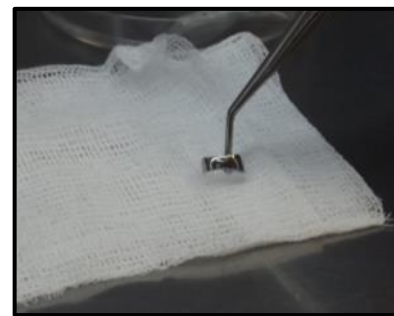


Imagen- 10 Secado con gasa estéril.

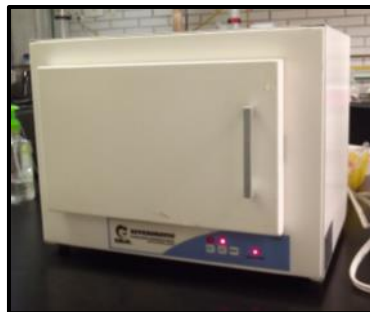


Imagen- 11 Autoclave. Imagen- 12 Horno de calor seco. Imagen- 13 Toallas desinfectantes con cloruro de Benzalconio.



Imagen- 14 Lavado y tallado con Toallas desinfectantes.



Imagen- 15 Esterilizador de Rayos UV.

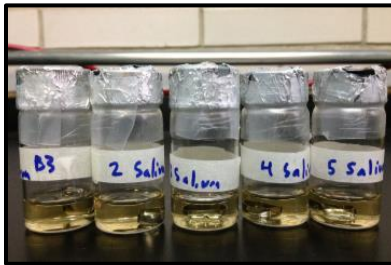


Imagen- 16 Bandas metálicas inoculadas con saliva.

Posteriormente las bandas se colocaron en tubos con 5 mL de caldo (**imagen 17**) y se colocaron en una incubadora a 36 °C, sin mayor tensión de CO<sub>2</sub>. Es preciso evitar presión de CO<sub>2</sub> debido a que se puede formar ácido carbónico en la superficie humedecida del agar, provocando un descenso de pH. El desarrollo de algunos microorganismos es debido al pH ácido, lo cual tiende a estrechar falsamente la zona de inhibición.

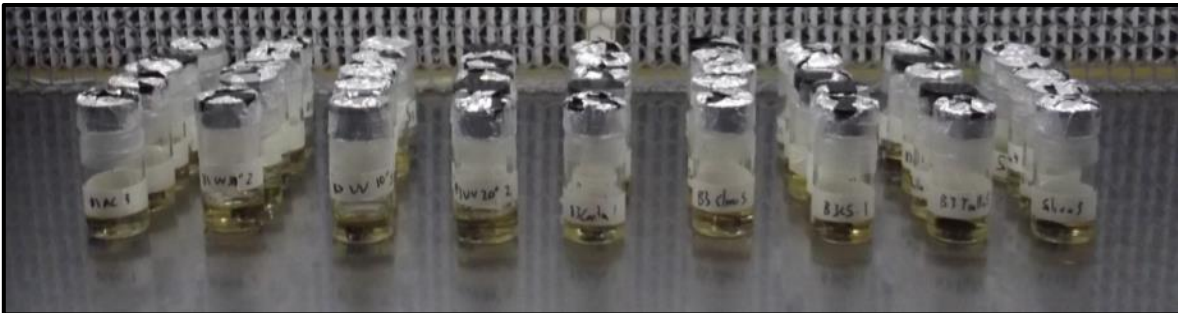


Imagen- 17 Cada una de las bandas metálicas se distribuyeron cada una en un vial con caldo de cultivo, listas para introducirse en la incubadora termostática de temperatura constante a 36°C por 24 hrs.

### Cuantificación de las bacterias y levaduras.

Para contar el número de microorganismos sobrevivientes se realizó lo siguiente, tanto al material que se deje en contacto con el cultivo, así como al material que sea sometido a los diversos procesos de desinfección y/o esterilización. Se tomó una muestra, del tubo donde se colocó la banda y pasadas las 24 horas en incubación, de 50  $\mu$ L y se colocaron en una caja de tres divisiones con agar en la división marcada como A; se realizó una dilución 1:100 del cultivo, para lo cual se tomaron otros 50  $\mu$ L que se colocaron en un frasco vial con 5 mL de cloruro de sodio al 0.9% estéril, de esta dilución se tomaron 50  $\mu$ L y se colocaron en la división marcada como B; finalmente se realizará una dilución 1:10000, para lo cual de la dilución 1:100 se tomarán otros 50  $\mu$ L que se colocaron en un frasco vial con 5 mL de cloruro de sodio al 0.9% estéril, de esta dilución se tomaron 50  $\mu$ L y se colocaron en la división marcada como C. Las cajas se incubaron por 24 horas a 36°C. (imagen 18)

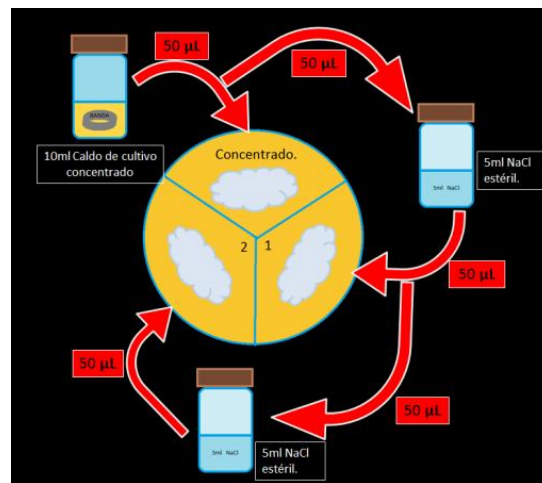


Imagen- 18 Proceso de dilución del caldo de cultivo concentrado y siembra en Agar.



Imagen- 19 Material utilizado en la siembra del caldo de cultivo en Agar.



### Interpretación de resultados.

Se contaron las colonias de cada concentración y dilución en cada división del agar correspondiente. Se le asignó el 100% de sobrevivencia al grupo testigo (**imagen 20**), el cual se tomó como referencia para evaluar la actividad del protocolo de esterilización de las bandas con la lámpara de luz UV y los demás procesos de esterilización.

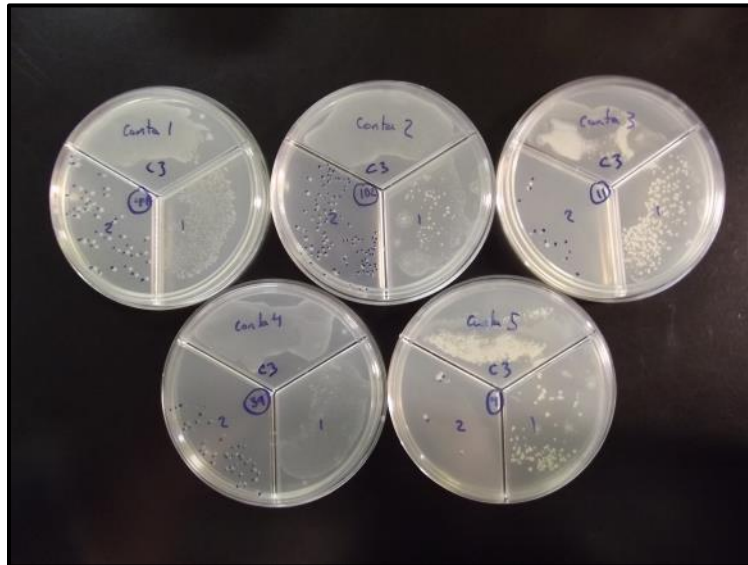


Imagen- 20 Cuantificación de las UFB del subgrupo contaminado después de incubarse en Agar 24 hrs. a 36°C.

**-Resultados.**

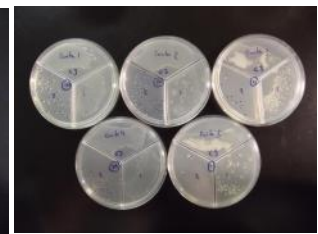
Los resultados obtenidos en cada uno de los subgrupos estudiados se presentan en los siguientes cuadros.

1. Los valores numéricos se interpretan como Unidades Formadoras de Colonias (U.F.C.) y fueron contadas para determinar la población de cepas que crecieron dentro del caldo de cultivo donde se colocó la banda metálica a la cual se le había realizado los procesos mencionados en el método experimental.
2. El símbolo  $\infty$  (infinito) representa la existencia de un número muy elevado de unidades formadoras de colonias, las cuales hacen imposible cuantificar la muestra, pero se sabe que hay crecimiento de cepas.

Subgrupo 1. Control positivo - Contaminado.		
Muestra	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	$\infty$	$4.4 \times 10^7$
2	$\infty$	$1.02 \times 10^8$
3	$\infty$	$1.1 \times 10^7$
4	$\infty$	$3.4 \times 10^7$
5	$\infty$	$4 \times 10^6$



*S. aureus.*

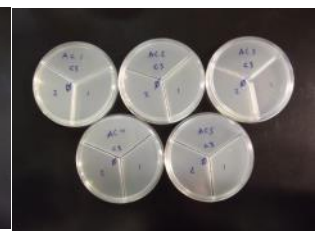


*C. albicans*

Subgrupo 2. Control negativo - calor húmedo.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0

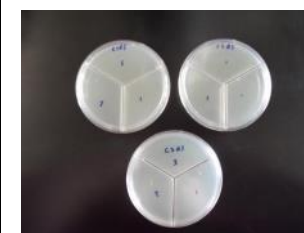


*S. aureus.*

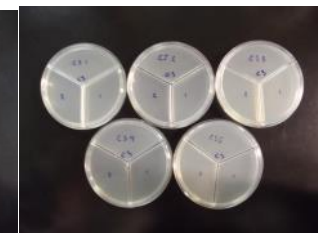


*C. albicans*

Subgrupo 3. Calor seco.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0

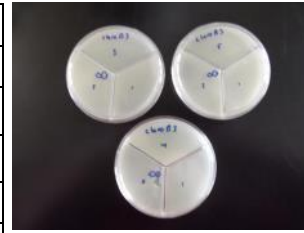


*S. aureus.*

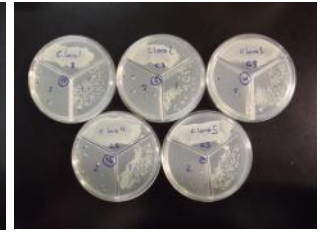


*C. albicans*

Subgrupo 4. cloroxilenol.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	∞	1x10 <sup>7</sup>
2	∞	5x10 <sup>6</sup>
3	∞	4x10 <sup>6</sup>
4	∞	1.6x10 <sup>7</sup>
5	∞	2x10 <sup>6</sup>



*S. aureus.*

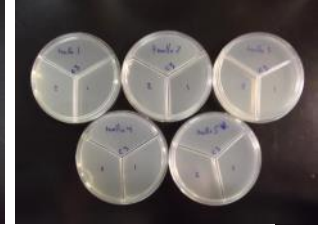


*C. albicans*

Subgrupo 5. Toalla desinfectante con benzalconio.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	1.104x10 <sup>7</sup>	0
5	0	0



*S. aureus.*

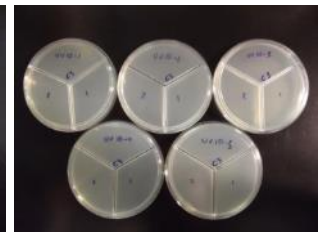


*C. albicans*

Subgrupo 6. Rayos UV 10 minutos.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0

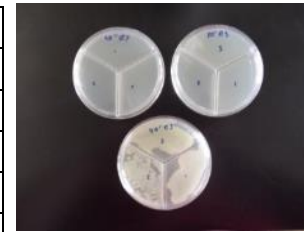


*S. aureus.*

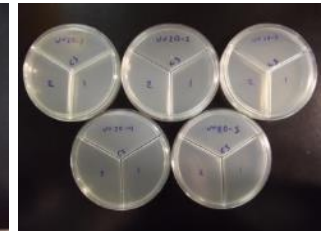


*C. albicans*

Subgrupo 7. Rayos UV 20 minutos.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	∞	0



*S. aureus.*

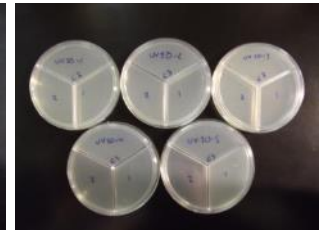


*C. albicans*

Subgrupo 8. Rayos UV 30 minutos.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	0	0
2	4x10 <sup>4</sup>	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0

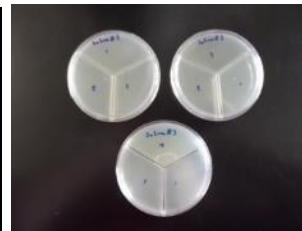


*S. aureus.*

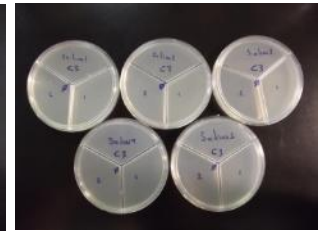


*C. albicans*

Subgrupo 9. Saliva - Rayos UV 10 minutos.		
Muestra.	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Candida albicans.</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0

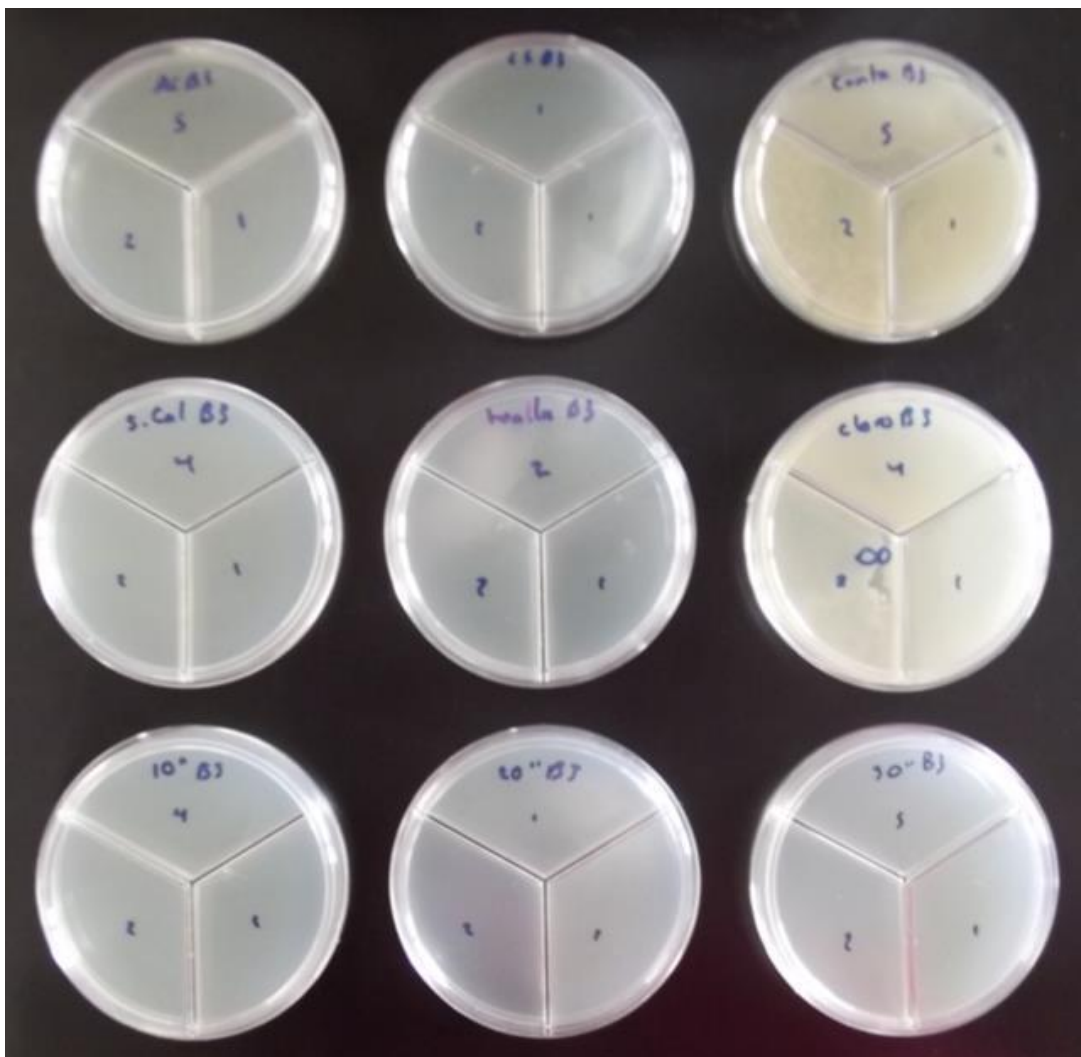


*S. aureus.*



*C. albicans*

Comparación de muestras en Agar Müller Hinton de *S aureus.*



-Discusión.

Los datos obtenidos en este experimento, determinaron que el equipo esterilizador de luz ultravioleta serie: D14591 de la marca: Industrias B.G. es efectivo como medio de esterilización para cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* y cepas de levadura de *Candida albicans*.

Los microorganismos son destruidos por la penetración de la radiación UV. Ésta es absorbida por el ácido nucleico (ADN) causando una modificación en sus componentes que alteran su reproducción genética quedando inhabilitados para replicarse, es decir, quedan estériles.<sup>10</sup>

La *C. albicans* es una levadura diploide que causa infecciones oportunistas en el ser humano. Aunque existen variaciones genéticas de acuerdo a su especie, estudios han demostrado que el organismo se reproduce principalmente por propagación de clonación con bajos niveles de recombinación; se le da el nombre de ciclo parasexual. La recombinación homóloga, en la reproducción parasexual, juega un papel importante en la diversificación genética; ya que recombina los alelos del mismo cromosoma o combina alelos de diferentes cromosomas. La recombinación homóloga es crucial para la *C. albicans* ya que se encarga de la reparación del DNA dañado. La recombinación homóloga utiliza proteínas de los cromosomas Rad52 y Rad 59 para su proceso. La luz ultravioleta ha reportado ser dañina a las proteínas de Rad51 , Rad52 y Rad59, lo que afecta directamente a la reproducción parasexual de la levadura.<sup>17</sup>

Tomando en cuenta que se utilizaron concentraciones inmensas de cepas tanto de *S. aureus* y *C. albicans*, una muestra limpia de agar Muller-Hinton o PDA significa que el proceso utilizado para la esterilización de bandas metálicas es efectivo. Así lo mostraron los siguientes subgrupos: calor húmedo, calor seco, toalla desinfectante a base de cloruro de alquil-dimetil-bencil-amonio, rayos UV 10”, rayos UV 20” y rayos UV 30”.

El subgrupo inoculado con saliva contiene una concentración menor de cepas bacterianas y de levaduras. Esta concentración es la que habitualmente encontramos en la cavidad bucal, por lo tanto los 10 minutos de rayos UV que se le administraron a las bandas metálicas fue más que suficiente para librarlas de ambos microorganismos.

Se encontró que las toallas desinfectantes a base de cloruro de benzalconio (n-alkil dimetil benzil amonio clorado) tuvieron buenos resultados al desinfectar por completo las

bandas metálicas. Una clave fundamental para esta desinfección fue el cuidado en el tallado mecánico de cada banda. En cambio el cloroxilenol en solución jabonosa no tuvo la eficacia en la desinfección ya que las bandas solamente se enjuagaron en una dilución al 10 % en agua destilada y no se llevó a cabo un cepillado mecánico por evitar que la muestra se fuera a contaminar con microorganismos alojados en el cepillo.

El lavado con agua y jabón (cloroxilenol) para remover la materia orgánica de las bandas es una parte fundamental para su desinfección seguido por su esterilización. Cualquier vestigio de materia orgánica es un riesgo de que el microorganismo prolifere; en especial si el tamaño de las bacterias (con un tamaño de  $1\mu\text{m}$ ) y levaduras (con un tamaño de  $10\mu\text{m}$ ) las hace adherirse a los espacios y hendiduras de los instrumentos dentales con mayor facilidad. Esto se pudo comprobar en la muestra 2 del subgrupo 8 ( $4 \times 10^4$  en *S. aureus*). y la muestra 4 del subgrupo 5 ( $1.104 \times 10^7$  en *S. aureus*).

Las radiaciones ionizantes de los rayos ultravioleta resultaron eficaces en la esterilización de aditamentos metálicos utilizados en ortodoncia (bandas) en un tiempo de exposición de 10 minutos (5 minutos por el frente y 5 minutos por el reverso). El tiempo de esterilización fue reducido de 45 minutos del calor húmedo y 60 minutos del calor seco a tan sólo 10 minutos con rayos UV.

Para que la esterilización por medio de radiaciones ionizantes de luz ultravioleta sea posible, es necesario que se exponga en su totalidad la superficie de la banda metálica. De no ser así y si algún vestigio de unidades formadoras de colonias de bacterias o levaduras se encontrara presente, estas se reproducirán con el tiempo.

Un paso crítico en este proceso de esterilización con rayos ultravioleta es la previa desinfección con remoción de materia orgánica de los aditamentos que se llevó a cabo con lavado con agua y cloroxilenol en solución jabonosa o toallas desinfectantes con cloruro de benzalconio (n-alkil dimetil benzil amonio clorado). Por ello se propone una combinación de ambos procesos, desinfección con tallado mecánico y esterilización con rayos UV, aplicados en los aditamentos e instrumental semicrítico que se ocupa en la práctica ortodóntica.

-Conclusiones

1. Diez minutos de rayos ultravioleta, 5 minutos de un lado y 5 minutos del otro, fue tiempo suficiente para librar totalmente de microorganismos las bandas metálicas en concentraciones normales de cavidad bucal y en concentraciones mayores.
2. El lavado y tallado mecánico previo, es un paso fundamental para cualquier método de esterilización.
3. Las toallas desinfectantes a base de cloruro de benzalconio (n-alquil dimetil benzil amonio clorado) son efectivas tanto en cepas bacterianas de *S.aureus* y cepas de levadura *C.albicans*, siempre y cuando se ocupen de forma precisa y adecuada.
4. Es necesario que los rayos UV alcancen a cubrir en su totalidad el área de los instrumentos que se requieran esterilizar.

-Apéndice.

La luz.

En el siglo XVII, Newton consideraba la luz como una corriente rectilínea de pequeñas partículas materiales emitidas por los cuerpos luminosos. Ello explicaba la propagación rectilínea de la luz. También explicaba la reflexión mediante rebote de esas partículas sobre la superficie.

A principios del siglo XIX se confirmó la teoría de que la luz se comportaba como una onda. Había un problema, ¿cómo se transmitía por el vacío si el sonido - que era otra onda - no lo hacía? Esto fue "resuelto" suponiendo que se transportaban en un medio invisible llamado éter.

Actualmente se acepta que la luz tiene doble naturaleza: se comporta como materia en movimiento (tiene naturaleza de partícula) y como onda que marcha asociada a la materia (tiene naturaleza ondulatoria). El carácter material de la luz ha sido confirmado por numerosos experimentos, como el "efecto fotoeléctrico" de Einstein, el cual llamó fotones a las partículas de luz. Esta teoría explica el por qué la luz se puede transmitir por el vacío, mediante movimiento de los fotones.

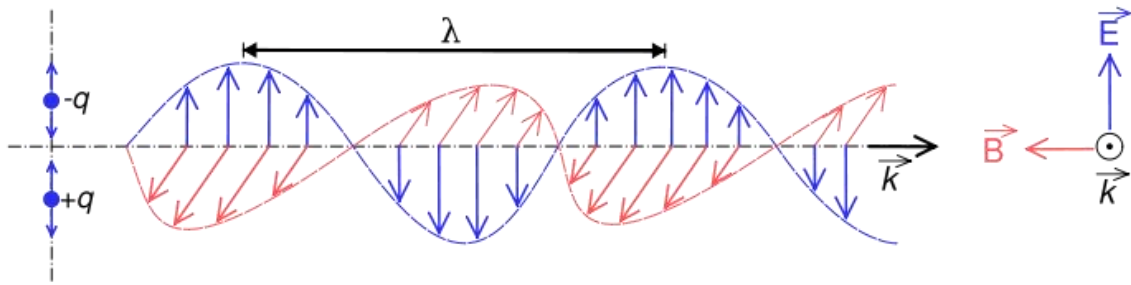
Naturaleza de la luz

La luz es una forma de energía emitida por los cuerpos y que nos permite percibirlos mediante la vista. Los objetos visibles pueden ser de dos tipos: Objetos luminosos y Objetos iluminados. La luz que procede de un objeto visible se transmite mediante un movimiento ondulatorio hasta llegar a nuestros ojos. Desde allí se envía un estímulo al cerebro que lo interpreta como una imagen.

La luz consiste en una forma de energía, emitida por los objetos luminosos, que se transmite mediante ondas electromagnéticas y es capaz de estimular el sentido de la vista. Las ondas electromagnéticas son transversales, pues las vibraciones de los campos eléctrico y magnético se producen en dirección perpendicular a la dirección de propagación.

Las ondas electromagnéticas no requieren medio material para su propagación. Por eso, la luz del Sol llega a la Tierra después de recorrer una gran distancia en el vacío.





### Propagación de la luz.

La luz se puede propagar en el vacío o en otros medios. La velocidad a la que se propaga depende del medio. En el vacío (o en el aire) es de  $3 \cdot 10^8$  m/s; en cualquier otro medio su valor es menor. Esta velocidad viene dada por una magnitud llamada índice de refracción,  $n$ , que es la relación entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad en ese medio. No tiene unidades y su valor es siempre mayor que 1.

$$n = \frac{c}{v}$$

“ $n$ ” es el índice de refracción, “ $c$ ” es la velocidad de la luz en el vacío y “ $v$ ” es la velocidad de la luz en el medio (ambas en m/s).

Según su comportamiento ante la luz, los medios se pueden clasificar en: transparentes, opacos y translúcidos.

### Reflexión de la luz

A menudo observamos nuestra imagen reflejada sobre la superficie del agua o sobre superficies metálicas pulidas. Este fenómeno se conoce como reflexión. Es como si la luz rebotara al llegar a la superficie y volviera a través del medio original.

Para explicar este fenómeno se emplean las leyes de la reflexión:

- 1.- El rayo incidente, el rayo reflejado y la normal están en el mismo plano.
- 2.- El ángulo de incidencia es igual al ángulo de reflexión:  $i = r$ .

- Rayo incidente: rayo que llega a la superficie.
- Rayo reflejado: rayo que refleja la superficie.
- Normal: es la perpendicular a la superficie del espejo en el punto donde toca el rayo incidente.
- i: ángulo de incidencia, el que forma el rayo incidente con la normal.
- r: ángulo de reflexión, el que forma el rayo reflejado con la normal.

#### Refracción de la luz

Cuando la luz pasa de un medio a otro, su velocidad cambia. Eso hace que pueda variar la dirección del rayo (si no incide de forma perpendicular). El fenómeno se llama refracción. La dirección del rayo en el nuevo medio se explica mediante las leyes de la refracción:

- 1.- El rayo incidente, el rayo refractado y la normal están en el mismo plano.
- 2.- Ley de Snell:

$$n_1 \cdot \operatorname{sen} i = n_2 \cdot \operatorname{sen} r$$

$n_1$  es el índice de refracción del primer medio y  $n_2$  del segundo,  $i$  es el ángulo de incidencia y  $r$  el de refracción. Si la luz pasa de un medio de menor índice de refracción a otro de mayor índice de refracción (por ejemplo, del aire al agua) se acerca a la normal, y cuando la luz pasa de un medio de mayor índice de refracción a otro de menor índice de refracción (por ejemplo, del agua al aire) se aleja de la normal.

#### Dispersión de la luz

Conocemos como luz blanca a la que proviene del Sol. En algunas circunstancias, esa luz se descompone en varias franjas de colores llamadas arco iris. En realidad la luz blanca está formada por toda una gama de longitudes de onda, cada una correspondiente a un color, que van desde el rojo hasta el violeta.

Como el índice de refracción de un material depende de la longitud de onda de la radiación incidente, si un rayo de luz blanca incide sobre un prisma óptico, cada radiación simple se refracta con un ángulo diferente. La dispersión de la luz consiste en la separación de la luz en sus colores componentes por efecto de la refracción.

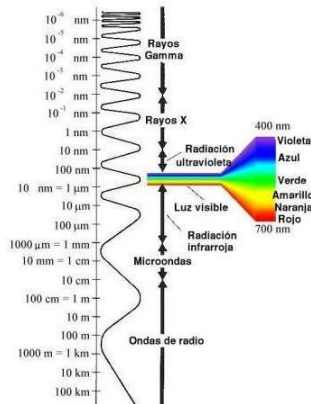
Así, las distintas radiaciones que componen la luz blanca emergen separadas del prisma formando una sucesión continua de colores que denominamos espectro de la luz blanca.

### El espectro electromagnético

El espectro es el análisis de las distintas radiaciones sencillas que componen la radiación total que nos llega de un cuerpo. Por ejemplo, al color rojo le corresponde una longitud de onda de 400 nm y al color violeta le corresponde otra de 700 nm. Las personas podemos ver la luz, una radiación electromagnética cuya longitud de onda está comprendida entre esos dos valores. Sin embargo, existen ondas electromagnéticas con mayor o menor longitud de onda como los rayos X, la radiación ultravioleta o la infrarroja.

El espectro electromagnético es el conjunto de ondas electromagnéticas ordenadas en función de su energía. De mayor a menor energía (o de menor a mayor longitud de onda) tenemos:

Rayos gamma, Rayos X, Ultravioleta, Visible, Infrarrojo, Ondas de radio y Microondas.



### Morfología bacteriana

Las bacterias presentan una amplia variedad de tamaños y formas. La mayoría presentan un tamaño diez veces menor que el de las células eucariotas, es decir, entre 0,5 y 5  $\mu\text{m}$ . Sin embargo, algunas especies como *Thiomargarita namibiensis* y *Epulopiscium fishelsoni* llegan a alcanzar los 0,5 mm, lo cual las hace visibles al ojo desnudo. En el otro extremo se encuentran bacterias más pequeñas conocidas, entre las que cabe destacar las pertenecientes al género *Mycoplasma*, las cuales llegan a medir solo 0,3  $\mu\text{m}$ , es decir, tan pequeñas como los virus más grandes.

La forma de las bacterias es muy variada y a menudo, una misma especie adopta distintos tipos morfológicos, lo que se conoce como pleomorfismo. De todas formas, podemos distinguir tres tipos fundamentales de bacterias:

Coco (del griego kókkos, grano): de forma esférica.

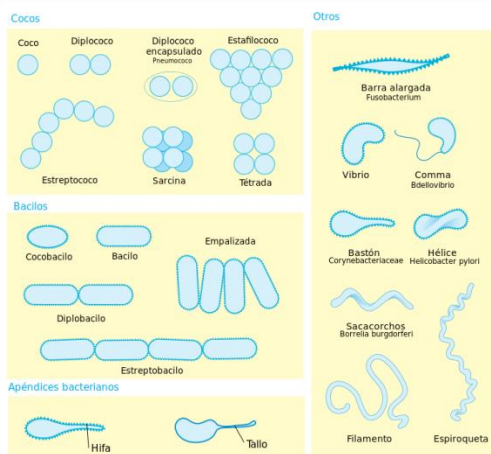
- Diplococo: cocos en grupos de dos.
- Tetracoco: cocos en grupos de cuatro.
- Estreptococo: cocos en cadenas.
- Estafilococo: cocos en agrupaciones irregulares o en racimo.

Bacilo (del latín baculus, varilla): en forma de bastoncillo.

Formas helicoidales:

- Vibrio: ligeramente curvados y en forma de coma, judía o cacahuete.
- Espirilo: en forma helicoidal rígida o en forma de tirabuzón.
- Espiroqueta: en forma de tirabuzón (helicoidal flexible).

Algunas especies presentan incluso formas tetraédricas o cúbicas. Esta amplia variedad de formas es determinada en última instancia por la composición de la pared celular y el citoesqueleto, siendo de vital importancia, ya que puede influir en la capacidad de la bacteria para adquirir nutrientes, unirse a superficies o moverse en presencia de estímulos



Las bacterias presentan la capacidad de anclarse a determinadas superficies y formar un agregado celular en forma de capa denominada biopelícula o biofilme, los cuales pueden tener un grosor que va desde unos pocos micrómetros hasta medio metro. Estas

biopelículas pueden congregarse diversas especies bacterianas, además de protistas y arqueas, y se caracterizan por formar un conglomerado de células y componentes extracelulares, alcanzando así un nivel mayor de organización o estructura secundaria denominada microcolonia, a través de la cual existen multitud de canales que facilitan la difusión de nutrientes. En ambientes naturales tales como el suelo o la superficie de las plantas, la mayor parte de las bacterias se encuentran ancladas a las superficies en forma de biopelículas. Dichas biopelículas deben ser tenidas en cuenta en las infecciones bacterianas crónicas y en los implantes médicos, ya que las bacterias que forman estas estructuras son mucho más difíciles de erradicar que las bacterias individuales.

Por último, cabe destacar un tipo de morfología más compleja aún, observable en algunos microorganismos del grupo de las mixobacterias. Cuando estas bacterias se encuentran en un medio escaso en aminoácidos son capaces de detectar a las células de alrededor, en un proceso conocido como percepción de quórum, en el cual todas las células migran hacia las demás y se agregan, dando lugar a cuerpos fructíferos que pueden alcanzar los 0,5 mm de longitud y contener unas 100.000 células. Una vez formada dicha estructura las bacterias son capaces de llevar a cabo diferentes funciones, es decir, se diferencian, alcanzando así un cierto nivel de organización pluricelular. Por ejemplo, entre una y diez células migran a la parte superior del cuerpo fructífero y, una vez allí, se diferencian para dar lugar a un tipo de células latentes denominadas mixosporas, las cuales son más resistentes a la desecación y, en general, a condiciones ambientales adversas.

Estructura celular de la bacteria.

Las bacterias son organismos relativamente sencillos. Sus dimensiones son muy reducidas, unos 2 µm de ancho por 7-8 µm de longitud en la forma cilíndrica (bacilo) de tamaño medio; aunque son muy frecuentes las especies de 0,5-1,5 µm.

Al tratarse de organismos procariontes, tienen las características básicas correspondientes como la carencia de un núcleo delimitado por una membrana aunque presentan un nucleóide, una estructura elemental que contiene una gran molécula circular de ADN. El citoplasma carece de orgánulos delimitados por membranas y de las formaciones protoplasmáticas propias de las células eucariotas. En el citoplasma se pueden

apreciar plásmidos, pequeñas moléculas circulares de ADN que coexisten con el nucleoide, contienen genes y son comúnmente usados por los procariontes en la conjugación. El citoplasma también contiene vacuolas (gránulos que contienen sustancias de reserva) y ribosomas (utilizados en la síntesis de proteínas).

Una membrana citoplasmática compuesta de lípidos rodea el citoplasma y, al igual que las células de las plantas, la mayoría posee una pared celular, que en este caso está compuesta por peptidoglicano (mureína). La mayoría de bacterias, presentan además una segunda membrana lipídica (membrana externa) rodeando a la pared celular. El espacio comprendido entre la membrana citoplasmática y la pared celular (o la membrana externa si esta existe) se denomina espacio periplásmico. Algunas bacterias presentan una cápsula y otras son capaces de desarrollarse como endosporas, estados latentes capaces de resistir condiciones extremas. Entre las formaciones exteriores propias de la célula bacteriana destacan los flagelos y los pili.

Estructuras intracelulares.

La membrana citoplasmática bacteriana tiene una estructura similar a la de plantas y animales. Es una bicapa lipídica compuesta fundamentalmente de fosfolípidos en la que se insertan moléculas de proteínas. En las bacterias realiza numerosas funciones entre las que se incluyen las de barrera osmótica, transporte, biosíntesis, transducción de energía, centro de replicación de ADN y punto de anclaje para los flagelos. A diferencia de las membranas eucarióticas, generalmente no contiene esteroides (son excepciones micoplasmas y algunas proteobacterias), aunque puede contener componentes similares denominado shopanoides.

Muchas importantes reacciones bioquímicas que tienen lugar en las células se producen por la existencia de gradientes de concentración a ambos lados de una membrana. Este gradiente crea una diferencia de potencial análoga a la de una batería eléctrica y permite a la célula, por ejemplo, el transporte de electrones y la obtención de energía. La ausencia de membranas internas en las bacterias significa que estas reacciones tienen que producirse a través de la propia membrana citoplasmática, entre el citoplasma y el espacio periplásmico.

Puesto que las bacterias son procariotas no tienen orgánulos citoplasmáticos delimitados por membranas y por parecen presentar pocas estructuras intracelulares. Carecen de núcleo celular, mitocondrias, cloroplastos y de los otros orgánulos presentes en las células eucariotas, tales como el aparato de Golgi y el retículo endoplasmático. Algunas bacterias contienen estructuras intracelulares rodeadas por membranas que pueden considerarse primitivos orgánulos, son llamados compartimentos procariotas.

Como todos los organismos vivos, las bacterias contienen ribosomas para la síntesis de proteínas, pero éstos son diferentes a los de eucariotas. La estructura de los ribosomas y el ARN ribosomal de arqueas y bacterias son similares, ambos ribosomas son de tipo 70S mientras que los ribosomas eucariotas son de tipo 80S. Sin embargo, la mayoría de las proteínas ribosomiales, factores de traducción y ARN arqueanos son más parecidos a los eucarióticos que a los bacterianos.

Muchas bacterias presentan vacuolas, gránulos intracelulares para el almacenaje de sustancias, como por ejemplo glucógeno, polifosfatos, azufre opolihidroxicanoatos.

Ciertas especies bacterianas fotosintéticas, tales como las cianobacterias, producen vesículas internas de gas que utilizan para regular su flotabilidad y así alcanzar la profundidad con intensidad de luz óptima o unos niveles de nutrientes óptimos. Otras estructuras presentes en ciertas especies son los carboxisomas (que contienen enzimas para la fijación de carbono) y los magnetosomas (para la orientación magnética).

Las bacterias no tienen un núcleo delimitado por membranas. El material genético está organizado en un único cromosoma situado en el citoplasma, dentro de un cuerpo irregular denominado nucleoide. La mayoría de los cromosomas bacterianos son circulares, si bien existen algunos ejemplos de cromosomas lineales, por ejemplo, *Borrelia burgdorferi*. El nucleoide contiene el cromosoma junto con las proteínas asociadas y ARN. El orden Planctomycetes es una excepción, pues una membrana rodea su nucleoide y tiene varias estructuras celulares delimitadas por membranas.

Anteriormente se pensaba que las células procariotas no poseían citoesqueleto, pero desde entonces se han encontrado homólogos bacterianos de las principales proteínas del citoesqueleto de los eucariotes. Estos incluyen las proteínas estructurales FtsZ (que se ensambla en un anillo para mediar durante la división celular bacteriana) y MreB (que

determina la anchura de la célula). El citoesqueleto bacteriano desempeña funciones esenciales en la protección, determinación de la forma de la célula bacteriana y en la división celular.

Estructuras extracelulares.

Las bacterias disponen de una pared celular que rodea a su membrana citoplasmática. Las paredes celulares bacterianas están hechas de peptidoglicano (llamado antiguamente mureína). Esta sustancia está compuesta por cadenas depolisacárido enlazadas por péptidos inusuales que contienen aminoácidos D, Estos aminoácidos no se encuentran en las proteínas, por lo que protegen a la pared de la mayoría de las peptidasas. Las paredes celulares bacterianas son distintas de las que tienen plantas y hongos, compuestas de celulosa y quitina, respectivamente. Son también distintas a las paredes celulares de Archaea, que no contienen peptidoglicano. El antibiótico penicilina puede matar a muchas bacterias inhibiendo un paso de la síntesis del peptidoglicano.

Existen dos diferentes tipos de pared celular bacteriana denominadas Gram-positiva y Gram-negativa, respectivamente. Estos nombres provienen de la reacción de la pared celular a la tinción de Gram, un método tradicionalmente empleado para la clasificación de las especies bacterianas.<sup>72</sup> Las bacterias Gram-positivas tienen una pared celular gruesa que contiene numerosas capas de peptidoglicano en las que se inserta ácido teicoico. En cambio, las bacterias Gram-negativas tienen una pared relativamente fina, consistente en unas pocas capas de peptidoglicano, rodeada por una segunda membrana lipídica (la membrana externa) que contiene lipopolisacáridos y lipoproteínas.

Las micoplasmas son una excepción, pues carecen de pared celular. La mayoría de las bacterias tienen paredes celulares Gram-negativas; solamente son Gram-positivas Firmicutes y Actinobacteria. Estos dos grupos eran antiguamente conocidos como bacterias Gram-positivas de contenido GC bajo y bacterias Gram-positivas de contenido GC alto, respectivamente. Estas diferencias en la estructura de la pared celular dan lugar a diferencias en la susceptibilidad antibiótica. Por ejemplo, la vancomicina puede matar solamente a bacterias Gram-positivas y es ineficaz



contra patógenos Gram-negativos, tales como *Haemophilus influenzae* o *Pseudomonas aeruginosa*. Dentro del filo Actinobacteria cabe hacer una mención especial al género *Mycobacterium*, el cual, si bien se encuadra dentro de las Gram positivas, no parece serlo desde el punto de vista empírico, ya que su pared no retiene el tinte. Esto se debe a que presentan una pared celular poco común, rica en ácidos micólicos, de carácter hidrófobo y ceroso y bastante gruesa, lo que les confiere una gran resistencia.

Muchas bacterias tienen una capa S de moléculas de proteína de estructura rígida que cubre la pared celular. Esta capa proporciona protección química y física para la superficie celular y puede actuar como una barrera de difusión macromolecular. Las capas S tienen diversas (aunque todavía no bien comprendidas) funciones. Por ejemplo, en el género *Campylobacter* actúan como factores de virulencia y en la especie *Bacillus stearothermophilus* contienen enzimas superficiales.

Los flagelos son largos apéndices filamentosos compuestos de proteínas y utilizados para el movimiento. Tienen un diámetro aproximado de 20 nm y una longitud de hasta 20 µm. Los flagelos son impulsados por la energía obtenida de la transferencia de iones. Esta transferencia es impulsada por el gradiente electroquímico que existe entre ambos lados de la membrana citoplasmática.

Las fimbrias son filamentos finos de proteínas que se distribuyen sobre la superficie de la célula. Tienen un diámetro aproximado de 2-10 nm y una longitud de hasta varios µm. Cuando se observan a través del microscopio electrónico se asemejan a pelos finos. Las fimbrias ayudan a la adherencia de las bacterias a las superficies sólidas o a otras células y son esenciales en la virulencia de algunos patógenos. Los pili son apéndices celulares ligeramente mayores que las fimbrias y se utilizan para la transferencia de material genético entre bacterias en un proceso denominado conjugación bacteriana.

Muchas bacterias son capaces de acumular material en el exterior para recubrir su superficie. Dependiendo de la rigidez y su relación con la célula se clasifican en cápsulas y glicocalix. La cápsula es una estructura rígida que se une firmemente a la superficie bacteriana, en tanto que el glicocalix es flexible y se une de forma laxa. Estas estructuras protegen a las bacterias pues dificultan que sean fagocitadas por células eucariotas tales como los macrófagos. También pueden actuar como antígenos y estar implicadas en el reconocimiento bacteriano, así como ayudar a la adherencia superficial y a la formación de biopelículas.

La formación de estas estructuras extracelulares depende del sistema de secreción bacteriano. Este sistema transfiere proteínas desde el citoplasma al periplasma o al espacio que rodea a la célula. Se conocen muchos tipos de sistemas de secreción, que son a menudo esenciales para la virulencia de los patógenos, por lo que son extensamente estudiados.

#### Reproducción bacteriana.

En las bacterias, el aumento en el tamaño de las células (crecimiento) y la reproducción por división celular están íntimamente ligados, como en la mayor parte de los organismos unicelulares. Las bacterias crecen hasta un tamaño fijo y después se reproducen por fisión binaria, una forma de reproducción asexual. En condiciones apropiadas, una bacteria Gram-positiva puede dividirse cada 20–30 minutos y una Gram-negativa cada 15–20 minutos, y en alrededor de 16 horas su número puede ascender a unos 5.000 millones (aproximadamente el número de personas que habitan la Tierra). Bajo condiciones óptimas, algunas bacterias pueden crecer y dividirse muy rápido, tanto como cada 9,8 minutos. En la división celular se producen dos células hijas idénticas. Algunas bacterias, todavía reproduciéndose asexualmente, forman estructuras reproductivas más complejas que facilitan la dispersión de las células hijas recién formadas. Ejemplos incluyen la formación de cuerpos fructíferos (esporangios) en las mixobacterias, la formación de hifas en *Streptomyces* y la gemación. En la gemación una célula forma una protuberancia que a continuación se separa y produce una nueva célula hija.

Por otro lado, cabe destacar un tipo de reproducción sexual en bacterias, denominada parasexualidad bacteriana. En este caso, las bacterias son capaces de intercambiar material genético en un proceso conocido como conjugación bacteriana. Durante el proceso una bacteria donante y una bacteria receptora llevan a cabo un contacto mediante pelos sexuales huecos o pili, a través de los cuales se transfiere una pequeña cantidad de ADN independiente o plásmido conjugativo. El mejor conocido es el plásmido F de *E. coli*, que además puede integrarse en el cromosoma bacteriano. En este caso recibe el nombre de episoma, y en la transferencia arrastra parte del cromosoma bacteriano. Se requiere que exista síntesis de ADN para que se produzca la conjugación. La replicación se realiza al mismo tiempo que la transferencia.

Morfología de levaduras.

Se denomina levadura o fermento a cualquiera de los diversos organismos eucariotas, clasificados como hongos microscópicos unicelulares, que son importantes por su capacidad para realizar la descomposición mediante fermentación de diversos cuerpos orgánicos, principalmente los azúcares o hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.

Aunque en algunos textos de botánica se considera que las levaduras verdaderas pertenecen solo a la clase Ascomycota, desde una perspectiva microbiológica se ha denominado levadura a todos los hongos con predominio de una fase unicelular en su ciclo de vida, incluyendo a los hongos basidiomicetes.

A veces suelen estar unidos entre sí formando cadenas. Producen enzimas capaces de descomponer diversos sustratos, principalmente los azúcares.

Una de las levaduras más conocidas es la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura tiene la facultad de crecer en forma anaerobia realizando fermentación alcohólica. Por esta razón se emplea en muchos procesos de fermentación industrial, de forma similar a la levadura química, por ejemplo en la producción de cerveza, vino, hidromiel, aguol, pan, antibióticos, etc.

Las levaduras se reproducen asexualmente por gemación o brotación y sexualmente mediante ascosporas o basidiosporas. Durante la reproducción asexual, una nueva yema surge de la levadura madre cuando se dan las condiciones adecuadas, tras lo cual la yema se separa de la madre al alcanzar un tamaño adulto. En condiciones de escasez de nutrientes las levaduras que son capaces de reproducirse sexualmente formarán ascosporas. Las levaduras que no son capaces de recorrer el ciclo sexual completo se clasifican dentro del género *Candida*.

La levadura es la primera célula eucariota en la que se ha intentado expresar proteínas recombinantes, debido a que es de fácil uso industrial: es barata, cultivarla es sencillo y se duplica cada 90 minutos en condiciones nutritivas favorables. Además, es un organismo fácil de modificar genéticamente, lo que permite realizar experimentos en varios días o semanas. Sin embargo, las levaduras poseen un mecanismo de glicosilación diferente al que se encuentra en células humanas, por lo que los productos son inmunogénicos.

### Morfología.

Son unidades anatómicas y de crecimiento: la hifa, en hongos pluricelulares y la levadura, en hongos unicelulares.

- Las hifas son estructuras cilíndricas, cenocíticas (aseptadas) o tabicadas (con septos), generalmente multinucleadas. Crecen por el ápice (elongación) y pueden hacerlo en cualquier dirección, incluso dentro del sustrato. Un conjunto de hifas se denomina micelio y cuando alcanzan cierto tamaño se dice que forma colonia.

- Las levaduras presentan formas diversas, esférica, ovoide, elipsoidal y cilíndrica; crecen de forma isodiamétrica (por todos lados) constituyendo la parte vegetativa y en poco tiempo se reproducen asexualmente por gemación, fisión binaria o fragmentación. Algunas levaduras forman cadenas, estructuras a las que se denomina pseudohifas (por lo que la agregación de varias de ellas se conoce como pseudomicelio). Las colonias generalmente son poco elevadas y de consistencia suave, cremosa, y su color oscila, en general, entre el blanco - amarillo, aunque algunas contienen pigmentos carotenoides

En la Micología Médica se consideran los hongos dimórficos. Habitualmente, en estos casos, se identifica una forma infectiva, y una forma parasitaria, la primera presente en la naturaleza, la segunda en el hospedero.

### Reproducción.

Los hongos, durante la fase vegetativa también llamada de nutrición y crecimiento, son haploides en la mayor parte de su ciclo de vida. El micelio vegetativo crece dentro o sobre el sustrato y absorbe los nutrientes; desarrolla hifas aéreas, las cuales generalmente constituyen la porción más visible de la colonia, y en las que se diferencian hifas fértiles, que son reproductivas y formadoras de esporas.

El ciclo de vida inicia con la germinación de una de las esporas, prosigue con el crecimiento en un sustrato, aumenta la biomasa, y termina nuevamente con la esporulación y la diseminación de los propágulos.

La reproducción puede ser asexual (mitosis) o sexual (meiosis), y pueden presentarse simultáneamente. La reproducción sexual inicia con la plasmogamia (fusión de membranas) de dos gametos haploides; se acercan los núcleos y posteriormente ocurre

la cariogamia, formando el cigoto diploide y finalmente ocurre la meiosis para reestablecer la condición haploide; así que 2 núcleos haploides darán lugar a 4 nuevos núcleos recombinados haploides. Esta recombinación genética proporciona grandes ventajas para invadir o resistir en ambientes desfavorables. Algunas especies pueden “retardar” el proceso de meiosis y permanecer en una condición dicariótica ( $n+n$ ), una forma de resistir condiciones desfavorables.

De forma esquemática podríamos escribir: Fase vegetativa haploide, plasmogamia, cariogamia, meiosis, esporas haploides y fase vegetativa haploide. Dependiendo del phylum del hongo, las esporas sexuales son producidas en estructuras especializadas como ascas o basidios y son denominadas: Cigosporas, ascosporas o basidiosporas.

Por otra parte, la reproducción asexual solamente incluye: fase vegetativa heteroploide, mitosis, esporas heteroploides y fase vegetativa heteroploide. La ventaja de este tipo de reproducción es el gran número de esporas que se forman, así como la rapidez con que se lleva a cabo el proceso. Los hongos filamentosos pueden reproducirse por la simple fragmentación de las hifas o mediante la formación de estructuras especializadas (células conidiógenas o esporangios), mientras que las levaduras se reproducen por gemación, fisión binaria o fragmentación. Las esporas de origen asexual se agrupan en: Conidios y esporangiosporas.

Pared celular.

La pared celular es una capa resistente, y no rígida porque soporta las fuerzas osmóticas y el crecimiento, que se localiza en el exterior de la membrana plasmática en las células de plantas, hongos, algas, bacterias y arqueas. La pared celular protege el contenido de la célula, y da rigidez a esta, funciona como mediadora en todas las relaciones de la célula con el entorno y actúa como compartimiento celular. Además, en el caso de hongos y plantas, define la estructura y otorga soporte a los tejidos y muchas más partes de la célula.

La pared celular se construye a partir de diversos materiales, dependiendo de la clase de organismo.

En las plantas, la pared celular se compone, sobre todo, de un polímero de carbohidrato denominado celulosa, un polisacárido, y puede actuar también como almacén de carbohidratos para la célula. En las bacterias, la pared celular se compone de peptidoglicano. Entre las archaea se presentan paredes celulares con distintas composiciones químicas, incluyendo capas S de glicoproteínas, pseudopeptidoglicano o polisacáridos. Los hongos presentan paredes celulares de quitina, y las algas tienen típicamente paredes construidas a partir de glicoproteínas y polisacáridos. No obstante, algunas especies de algas pueden presentar una pared celular compuesta por dióxido de silicio. A menudo, se presentan otras moléculas accesorias integradas en la pared celular.

#### Pared celular bacteriana.

La pared celular bacteriana está hecha de peptidoglucano (también denominado mureína), que está formado por cadenas de polisacárido entrecruzadas por péptidos inusuales que contienen aminoácidos D. Las paredes celulares bacterianas son diferentes de las paredes de plantas y hongos que están hechas de celulosa y quitina, respectivamente. También son diferentes de las paredes de Archaea, que no contienen peptidoglicano. La pared celular es esencial para la supervivencia de muchas bacterias y el antibiótico penicilina puede matar a las bacterias inhibiendo un paso en la síntesis del peptidoglicano.

Existen dos tipos distintos de pared celular en las bacterias, denominadas Gram-positiva y Gram-negativa, respectivamente. Los nombres provienen de su reacción a la tinción de Gram, una prueba extensamente empleada en la clasificación de las especies bacterianas.

En las bacterias Gram-positivas la pared celular contiene una capa gruesa de peptidoglicano además de ácidos teicoicos, que son polímeros de glicerol o ribitol fosfato. Los ácidos teicoicos se unen al peptidoglicano o a la membrana citoplasmática.

En las bacterias Gram-negativas la capa de peptidoglicano es relativamente fina y se encuentra rodeada por una segunda membrana lipídica exterior que contiene lipopolisacáridos y lipoproteínas. La capa de peptidoglicano se une a la membrana externa por medio de lipoproteínas.

La mayoría de las bacterias tienen una pared celular Gram-negativa y solamente Firmicutes y Actinobacteria (conocidas previamente como bacterias Gram-positivas de contenido GC bajo y bacterias Gram-positivas de contenido GC alto, respectivamente) tienen paredes Gram-positivas. Estas diferencias en estructura pueden producir diferencias en la susceptibilidad antibiótica, por ejemplo, la vancomicina puede matar solamente a bacterias Gram-positivas y es ineficaz contra patógenos Gram-negativos, tales como *Haemophilus influenzae* o *Pseudomonas aeruginosa*.

Pared celular de hongos y levaduras.

No todas las especies de hongos tienen paredes celulares, pero en el caso que las tengan, se componen de glucosamina y quitina, el mismo glúcido que da dureza a los exoesqueletos de los insectos. Tienen el mismo propósito que las paredes celulares de las plantas, dar rigidez a las células para mantener su forma y prevenir la lisis osmótica. También limita la entrada de moléculas que pueden ser tóxicas para hongo, tales como fungicidas sintéticos o producidos por plantas. La composición, las características y la forma de la pared celular de los hongos varía durante su ciclo vital y también depende de las condiciones de crecimiento.

## BIBLIOGRAFÍA.

- <sup>1</sup> Barker C., Soro V., Dymock D., Sandy R., Anthony J. “Microbial contamination of as received and clinic exposed orthodontic materials” 2012 Irelande Am J Orthod Dentofacial Orthop.
- <sup>2</sup> Sterilization and Disinfection of dental instruments. 2009 American Dental Association Chicago. [http://www.ada.org/~media/ADA/Member%20Center/Files/cdc\\_sterilization.ashx](http://www.ada.org/~media/ADA/Member%20Center/Files/cdc_sterilization.ashx)
- <sup>3</sup> Pandis N. Brandi D. Pandis V. Theodore E., “Occupational hazards in orthodontics: A review of risks and associated pathology” 2007 Corfu and Thessaloniki, Greece. Am J Orthod Dentofacial Orthop.
- <sup>4</sup> Infection control in dental office. 1978 J. am Dent Assoc. Vol97:pp.673-677.
- <sup>5</sup> Negroni Marta. 2009 Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. Ed. Médica Panamericana 2da edición. Buenos Aires. Pp238, 340-357, 322, 399
- <sup>6</sup> Vendrell J., Hayden L., Taloumis J. “Effect of steam versus dry-heat sterilization on the wear of orthodontic ligature-cutting pliers”, San Antonio, Texas.
- <sup>7</sup> Vignoli R. Esterilización, desinfección y antisepsia. Extraído el 5 de diciembre, 2008, de: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/esterilizacionydesinfeccion.pdf>
- <sup>8</sup> Ricardo J. Vendrell, DDS,a Curtis L. Hayden, DDS,b and Louis J. Taloumis, Effect of steam versus dry-heat sterilization on the wear of orthodontic ligature-cutting pliers *San Antonio, Texas*.
- <sup>9</sup> García R., Scougall R., Contreras R., Adachi K., Sakagami H., Hibino Y. Nakajima H y Shimada J. 2011 Efectos de a luz UV sobre placas de titanio para la adhesión osteoblástica. revista ADM Vol 68 pp. 175-182
- <sup>10</sup> González Cristian 2001 Luz Ultravioleta: solución amigable con el medio ambiente para la esterilización de agua y aire. Ambiental Socoter. Informe. Santiago de Chile [www.ambientalsocoter.cl](http://www.ambientalsocoter.cl)
- <sup>11</sup> Santos A, Gomes N., et al. “Contribution of reactive oxygen species to UV-B-induced damage in bacteria”. 2012. Aveiro, Portugal. Journal of photochemistry and photobiology vol 117 pp 40-46.
- <sup>12</sup> Tang Z. y Sillanpää M. “Bacteria sensitivity index of UV disinfection of bacteria with shoulder effect” Miami, Florida. Lappeenranta, Finlandia Sep. 2015. Elsevier Journal of Environmental Chemical Engineering pp 2588-2596.
- <sup>13</sup> Chen A., Dong W. y Xiaoyan H. “Comparison of sterilization efficiency of pulsed and continuous UV light using tunable frequency UV system” Suchuan, China. 2014. Elsevier Innovative food and emerging technologies vol. 26 pp 220-225.
- <sup>14</sup> Riley D. Bavastrello V. “An in-vitro study of the sterilization of titanium dental implants using low intensity UV-radiation” Genoa, Italia. 2005. Elsevier Journal of dental materials vol 21 pp. 756-760
- <sup>15</sup> Lowy, Franklin D. Staphylococcus aureus infections. NEJM Estados Unidos: Massachusetts Medical Society 339 pags 520–532.



<sup>16</sup>Hurtado M.; de la Parte M.; Brito A. Staphylococcus aureus: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. Rev Soc Ven Microbiol Venezuela pp: 112–118, 1315-2556.

<sup>17</sup> García F., Gómez. J., Andaluz E., Calderone R., Larriba G., “Role of the homologous recombination genes RAD51 and RAD59 in the resistance of Candida albicans to UV light, radiomimetic and anti-tumor compounds and oxidizing agents” 2010 Badajoz, España. Elsevier Fungal Genetics and Biology vol 47 pp 433-445.

<sup>18</sup> Jones T, Federspiel N, Chibana H, Dungan J, Kalman S, Magee B, Newport G, Thorstenson Y, Agabian N, Magee P, Davis R, Scherer S 2004. The diploid genome sequence of Candida albicans. Proc Natl Acad Sci U S A 101 pp: 7329–7334.

<sup>19</sup> French, R.E. y T. Hebert. 1982. Métodos de investigación ftopatológica. 1ª ed., 1ª reimpresión. IICA - Serie de libros y material educativo. No. 43 San José de Costa Rica p. 290.

<sup>20</sup> Mueller, J.H., and J. Hinton. 1941. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330-333.