



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ESPECIALIZACIÓN EN ENDOPERIODONTOLOGÍA

**“EFECTIVIDAD DE LA ESTERILIZACIÓN DE INSTRUMENTOS
ENDODÓNTICOS CON LUZ ULTRAVIOLETA Y CON EXTRACTO DE HOJA
DE *Prosopis laevigata*.”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

ESPECIALISTA EN ENDOPERIODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

C.D. CRISTINA SÁNCHEZ MONTALVO

DIRECTOR DE TESIS: DR. EDUARDO LLAMOSAS HERNÁNDEZ

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO. 2021



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.

Tabla de Contenidos

• Planteamiento del Problema.....	3
• Justificación.....	3
○ Pregunta de Investigación.....	4
○ Objetivos.....	4
• Hipótesis.....	4
• Variables.....	5
• Glosario.....	5
• Marco teórico.....	8
1. CONTROL DE INFECCIONES.....	8
1.1. Categorías según la ADA de riesgo infeccioso de instrumentos dentales.....	9
1.1.1. Riesgo infeccioso de los instrumentos endodónticos según la ADA.....	9
2. ESTERILIZACIÓN.....	10
2.1. Métodos de Esterilización.....	10
2.1.1. Agentes Químicos.....	10
2.1.2. Calor Seco.....	10
2.1.3. Calor Húmedo.....	11
2.1.3.1. Autoclave.....	11
2.2. Esterilización en las Limas Endodónticas.....	12
2.2.1. Comparación de diferentes métodos para esterilizar Limas Endodónticas.....	12
2.2.2. Efectos de la Esterilización en Autoclave sobre las Limas Endodónticas.....	13
3. MICROBIOLOGÍA EN LA PATOLOGÍA ENDODÓNTICA.....	13
3.1. Bacterias en la Patología Endodóntica Primaria.....	13
3.2. Éxito y Fracaso en los Tratamientos de Conductos.....	14
3.3. Bacterias en la Patología Endodóntica Secundaria.....	14
3.3.1. Enterococcus faecalis.....	14
4. ESTERILIZACIÓN CON LUZ ULTRAVIOLETA.....	15
4.1. Radiación Electromagnética.....	15
4.2. Espectro Electromagnético.....	15
4.3. Radiación Ultravioleta.....	16
4.3.1. Clasificación de las ondas de la Luz Ultravioleta.....	16
4.3.2. Efecto bactericida de la Luz Ultravioleta.....	17

4.3.2.1. Mecanismo de acción del efecto bactericida de la luz UV.....	18
4.3.2.2. Tipos de esterilización con luz UV.....	18
4.3.2.3. Estudios de Esterilización con de Luz Ultravioleta en Materiales Dentales.....	19
5. USO DE <i>Prosopis sp</i> COMO AGENTE ANTIMICROBIANO.....	20
5.1. Biodiversidad en México y su uso en la medicina.....	20
5.2. El Mezquite (<i>Prosopis sp</i>).....	20
5.2.1. Características del <i>Prosopis laevigata</i>	21
5.3. Elementos antimicrobianos encontrados en <i>Prosopis sp</i>	22
5.4. Estudios del uso de extracto de <i>Prosopis sp</i> como agente antimicrobiano.....	23
• Material y Métodos.....	24
• Análisis Estadístico.....	28
• Consideraciones éticas y legales.....	28
• Cronograma de Actividades.....	28
• Aclaración Final.....	28
• Referencias Bibliográficas.....	29

Índice de Figuras

<i>Figura 1.</i> El espectro electromagnético (con ampliación en la región ultravioleta).	16
<i>Figura 2.</i> Curva que muestra la efectividad germicida relativa.....	17
<i>Figura 3.</i> <i>Prosopis Laevigata</i> . Árbol Completo.....	21
<i>Figura 4.</i> Hojas de <i>Prosopis Laevigata</i>	22
<i>Figura 5.</i> Caja para esterilización con Luz UV marca SunUV modelo 59S S1.....	26

Índice de Tablas

<i>Tabla 1.</i> Tipo de procesado de instrumentos, por grupos.....	25
<i>Tabla 2.</i> Formato para recolección de datos según el grupo.....	27
<i>Tabla 3.</i> Cronograma de Actividades para la Realización del Trabajo.....	28

Planteamiento del Problema

El éxito del tratamiento de conductos depende de muchos factores, entre ellos, el lograr una descontaminación completa del conducto, por lo que es necesario utilizar instrumental que esté libre de patógenos, para lo cual se utilizan diversos procesos con el objetivo de esterilizar los instrumentos y materiales ocupados para este fin.

Por esto, se han estudiado muchos métodos para lograr la esterilidad de los materiales de una manera más eficaz y rápida que responda a las necesidades de la práctica odontológica actual, en la que se nos exigen menores tiempos de trabajo, mayor porcentaje de éxito, y, sobre todo, con la pandemia actual, responder a preocupaciones de los pacientes acerca de peligro de infección. La esterilización en autoclave ha sido hasta el momento la más utilizada y difundida para instrumental endodóntico, pero tiene también algunas desventajas, como la que se ha encontrado en algunos estudios, que han mostrado que la exposición repetida de instrumentos endodónticos a este tipo de procesamiento causa cambios en el instrumento que afectan su resistencia a la fractura.

Justificación

Ya se mencionó que algunos métodos ya conocidos de esterilización, como el autoclave, pueden causar cambios físicos en los instrumentos que pasan por este proceso. Por ellos, además de por otras desventajas, como el tiempo que requiere, el costo del aparato y la corrosión del instrumental, y simplemente por tener más opciones de desinfección y esterilización en la práctica endodóntica a nuestro alcance, proponemos probar otros métodos para el procesamiento de instrumental endodóntico.

En el pasado, la luz ultravioleta ha sido estudiada como método de esterilización de agua, y en la odontología, para la esterilización de implantes, requiriendo menor tiempo para lograrse este proceso. Por lo que se plantea que se puede usar este método para esterilizar de manera más rápida y eficiente de las limas endodónticas.

Actualmente, se está redescubriendo e investigando el uso de plantas medicinales en la salud y la ciencia, por lo que, al encontrar las propiedades antibacterianas, fungicidas y viricidas del extracto de hoja de *Prosopis laevigata*, nos orienta al uso que podría tener esta solución de origen natural para la esterilización de instrumentos en la práctica endodóntica, además de que el desecho de esas soluciones naturales tendría un menor impacto ecológico de lo que se tiene con muchas otras soluciones desinfectantes y esterilizadoras.

Con este conocimiento, se plantea estudiar el uso de estos métodos como alternativas para la esterilización de instrumental endodóntico, y así proveer al cirujano dentista de práctica general, al endodoncista y al endoperiodoncista, de más opciones para aplicar en su práctica. Y a su vez, se continúen estudiando estos métodos para aplicarlos en otras ramas de la odontología,

- Pregunta de investigación

¿Se logrará una esterilización de limas endodónticas con Radiación de Luz Ultravioleta? ¿Se logrará una esterilización de limas endodónticas con Extracto de Hoja de *Prosopis laevigata*?

- Objetivos

Objetivo General

- Establecer si se logra la esterilización de limas endodónticas con métodos alternativos a la esterilización en autoclave, que son el uso de luz ultravioleta y el extracto de la hoja de *Prosopis laevigata*.

Objetivos Específicos

- Evaluar la viabilidad de incluir las radiaciones ionizantes de luz Ultravioleta como métodos de esterilización en la práctica de la endodoncia.
- Evaluar la viabilidad de incluir el uso del extracto de la hoja de *Prosopis laevigata* como método de esterilización en la práctica de la endodoncia.
- Comprobar si los métodos propuestos son más rápidos que los métodos tradicionales para la esterilización.
- Comparar diferencias entre el procesado de limas endodónticas en autoclave y los métodos propuestos de procesado, que son con luz Ultravioleta y con extracto de hoja de *P. laevigata*.

Hipótesis

- Hipótesis de trabajo (H1): Se puede lograr la esterilización de limas endodónticas utilizando radiaciones ionizantes con rayos ultravioleta.
- Hipótesis nula (H0): No se puede lograr una esterilización de limas endodónticas utilizando radiaciones ionizantes con rayos ultravioleta.

- Hipótesis de trabajo (H1): Se puede lograr una esterilización de limas endodónticas con extracto de hoja de *Prosopis laevigata*.
- Hipótesis nula (H0): No se puede lograr una esterilización de limas endodónticas con extracto de hoja de *Prosopis laevigata*.

Variables

- Variable independiente: Métodos de esterilización por los que serán procesados los instrumentos.
- Variable dependiente: El número de colonias que se obtengan al realizar cultivos de cada instrumento procesado.

Glosario

Para empezar a estudiar acerca de la limpieza y esterilización de los instrumentos en odontología, necesitamos conocer algunos conceptos.^{9,1,2,3}

- **Reprocesado:** Es un proceso por el cual se logra que un aparato o instrumento que ha sido usado y contaminado previamente quede apto para utilizarse con seguridad nuevamente en otro procedimiento médico. Estos procesos están diseñados para retirar suciedad y contaminantes, limpiando e inactivando microorganismos por desinfección o esterilización.¹
- **Instrumento médico reusable:** Es aquel que está ideado para usarse de manera repetida en el mismo paciente o en diferentes pacientes, con limpieza y reprocesado adecuado entre usos.¹
- **Detergente:** Es una sustancia que por su propiedad química facilita la captura y el arrastre de la suciedad, tanto sobre los objetos como sobre la piel.^{9,2}
- **Germicida o Microbicida:** Es una sustancia que destruye microorganismos, especialmente patógenos. Una misma sustancia puede actuar como antiséptico o como desinfectante (por ejemplo, el alcohol a diferentes concentraciones). Pueden ser específico para algún tipo de microorganismo (por ejemplo, fungicida, bactericida, esporicida, tuberculicida, viricida).^{9,2}
- **Asepsia:** Es el método diseñado para evitar la infección de una herida durante una intervención quirúrgica o cuando se reparan las lesiones del cuerpo

humano. Existe ausencia total de agentes microbianos, lo cual se logra a través de la esterilización.^{9,2}

- **Antisepsia:** Es un proceso que destruye los microorganismos de la piel o de las membranas mucosas mediante sustancias químicas, sin afectar sensiblemente a los tejidos sobre los cuales se aplica.
- **Antisépticos:** Son soluciones químicas que se utilizan sobre las superficies corporales, como la piel o las mucosas, con la finalidad de reducir la flora normal o los microorganismos patógenos. Son menos tóxicos que los desinfectantes utilizados en el medio ambiente y en el material contaminado. Destruyen o inhiben el crecimiento de microorganismos sobre tejidos vivos. Se considera que son eficaces si cumplen la condición de reducir el número de colonias de microorganismos a menos de 100,000 colonias por gramo de tejido en menos de 5 minutos y, en al menos, cuatro tipos de cepas bacterianas. La actividad de los antisépticos puede inhibirse por la existencia de materias orgánicas como sangre o tejidos desvitalizados y, determinadas soluciones antisépticas pueden contaminarse a través del aire o por contacto directo.^{9,2,3}

Algunos antisépticos utilizados en el medio odontológico son:

- **Alcohol etílico:** Líquido incoloro y transparente con acción bactericida rápida (2 minutos), pero poco efecto residual. Requiere un tiempo mínimo de acción de 2 minutos. Está indicado previo a punciones en piel. Como antiséptico se usa de 70°.
- **Clorhexidina:** Pertenece al grupo de las bisguanidas (Clorofenilbguanida), poco soluble en agua, por lo que se usa en forma de sal (diacetato, diclorhidrato, digluconato; de ellos, el digluconato es el más soluble en agua y alcoholes). Se usa como antiséptico tópico, y es de amplio espectro contra Gram positivos y negativos, y algunos virus como el del VIH, además de algunos hongos, pero sólo es esporicida a elevadas temperaturas. Su actividad es superior a la iodopovidona y al alcohol. A bajas concentraciones es bacteriostático, pero a alta concentración es bactericida. La presencia de materia orgánica la inactiva fácilmente. Es un antiséptico tópico ideal, porque tiene actividad persistente sobre la piel con el uso continuo, efecto rápido y mínima absorción.
- **Iodopovidona:** Antiséptico de amplio espectro. Es activa frente a Gram positivos y negativos, hongos, virus, protozoos y esporas. Al liberar yodo orgánico lentamente, inicia su actividad bactericida. En las concentraciones habituales no es esporicida, pero se mantiene

activo en presencia de sangre, pus, suero y tejido necrótico. Se utiliza para lavado quirúrgico en piel previo a cirugía.

- **Peróxido de Hidrógeno:** Es antiséptico y desinfectante de uso eterno de corta duración y amplio espectro, incluyendo anaerobios. Sobre piel, se usa en una concentración de 3% en solución acuosa, e al 1.5% en mucosa bucal. En presencia de ciertas enzimas como la catalasa (que está en todos los tejidos) se descompone liberando oxígeno, y de esta manera, la solución puede originar 10 veces su volumen de oxígeno y producir efervescencia, lo cual tiene un efecto mecánico de limpieza de restos de tejido. Se utiliza para desbridamiento de heridas.^{9,2,3}
- **Desinfección:** Es el proceso de destrucción por medios físicos o químicos de los microorganismos patógenos a un nivel seguro inhibiendo los procesos celulares o inhibiendo su desarrollo, pero no necesariamente la destrucción o remoción de las formas de spora de estos microorganismos (formas de resistencia), por lo que no asegura el mismo margen de seguridad que el proceso de esterilización. Se utiliza sobre en objetos inanimados y no en tejidos vivos, por su toxicidad.^{9,1,2}
- **Desinfectantes:** Son productos que por acción química causan la destrucción de microorganismos patógenos y la inactivación de virus, sin destruir necesariamente todas las formas bacterianas, por ejemplo, esporas bacterianas.^{9,1,2}

Los desinfectantes se pueden clasificar según su acción en:

- **Desinfectantes de bajo nivel:** Destruyen en un período de mínimo 10 minutos de contacto las formas vegetativas de bacterias, algunos hongos y virus lipídicos, No destruyen esporas bacterianas, micobacterias, algunos hongos y virus no lipídicos o de tamaño pequeño.
- **Desinfectantes de nivel intermedio:** Destruyen virus, micobacterias, hongos y bacterias, pero no a las esporas bacterianas. También requieren un tiempo de contacto mínimo de 10 minutos.
- **Desinfectantes de alto nivel:** Compuestos sintéticos que, depositados sobre material vivo o inerte, y alterando mínimamente este material, destruyen en 10-15 minutos, hasta 6 u 8 horas, según el desinfectante, todos los gérmenes patógenos (virus, excepto de hepatitis B, bacterias, y hongos), inactivando todas las formas vegetativas de los microorganismos, pero no a todas las esporas bacterias. Pueden

desactivarse total o parcialmente en presencia de materia orgánica.
9,1,2

De los líquidos usados para la antisepsia, algunos, algunos también son usados para desinfectar instrumental y superficies, como el alcohol, clorhexidina, peróxido de hidrógeno, y derivados del yodo, ya explicados anteriormente. Algunos otros agentes desinfectantes utilizados en la odontología son:

- **Derivados fenólicos:** fenol o ácido fénico, cresoles, paraclorofenol, hexaclorofeno, eugenol, timol.
- **Aldehídos:** Formaldehído
- **Derivados metálicos:** compuestos de mercurio (mercocreso, nitromersol), de cromo (trióxido de cromo), de plata (nitrato de plata), de cobre, entre otros.
- **Agentes tensioactivos de amonio cuaternario:** cloruro de benzalconio (viricida, bacteriostático, no actúa frente a esporas)
- **Glutaraldehído:** Es un microbicida. Se utiliza al 2%. Actúa dañando a proteínas y ácidos nucleicos de la superficie externa de microorganismos, destruyéndolos. Tiene la capacidad de penetrar la sangre y exudados por su baja tensión superficial, llegando fácilmente a la superficie del instrumento. Tiene como ventaja causar poca corrosión de los instrumentos. El contacto directo con la piel o mucosas causa inflamación, además de que si no es usado con ventilación adecuada puede causar asma o sensibilidad respiratoria al operador. Se utiliza a diluciones de 1:5 o de 1:10 con inmersión de 10 a 90 minutos, destruyendo formas vegetativas, hongos y virus, aunque para lograrse una esterilización (destrucción de esporas) con él, se requiere inmersión por 10 horas.
- **Hipoclorito de sodio:** No se recomienda por su efecto tóxico. Se usa para superficies, y para irrigación de conductos radiculares.^{3,4}

Marco Teórico

1. CONTROL DE INFECCIONES

Los microorganismos son el agente causal de las infecciones en el cuerpo, por lo que su control es de una importancia mayor en el ámbito médico y dental. La

contaminación directa o indirecta lleva a la transmisión de estos microorganismos de un paciente a otro, llamada contaminación cruzada. Para evitar la transmisión de agentes infecciosos es prioritaria la esterilización, la cual, en la práctica odontológica requiere el procesamiento de instrumentos reutilizables.⁵

El control de la infección en la práctica odontológica se divide en dos, dependiendo cómo interferirá el procedimiento con el desarrollo de una infección, ya sea reduciendo la transmisión de enfermedades, o quitando el agente infeccioso después de la contaminación.⁶

1.1. Categorías según la ADA de riesgo infeccioso de instrumentos dentales

Según la ADA, los instrumentos dentales se clasifican en 3 categorías de acuerdo con el riesgo que representan para transmitir enfermedades.⁷

- **Material crítico:** Son instrumentos que penetran tejido blando o hueso, o entran en contacto con sangre u otro tejido estéril. Debe esterilizarse después de cada uso. Se esterilizan con vapor y presión (autoclave), calor seco, o vapor de calor/químico. Algunos de estos son fórceps, bisturíes, cinceles para hueso, curetas, fresas quirúrgicas, y limas endodónticas.
- **Material semicrítico:** Son los que no penetran tejido blando o hueso, pero entran en contacto con membranas mucosas o piel no intacta, como espejos, portaimpresiones, y condensadores de amalgamas. Deben esterilizarse después de cada uso, y si no es posible, se debe hacer una desinfección de alto nivel.
- **Material no crítico:** Entran en contacto solamente con piel intacta, como oxímetros de pulso, batas, cabeza del aparato de rayos X. Tienen poco riesgo de transmisión de infecciones, por lo que pueden procesarse entre pacientes con un desinfectante de nivel intermedio (fenólicos, yodóforos, compuestos que contengan hipoclorito de sodio) o bajo (amonio cuaternario).

1.1.1. Riesgo infeccioso de los instrumentos endodónticos según la ADA

En los tratamientos endodónticos, se utilizan varios instrumentos como son limas, ensanchadores, fresas Gates-Glidden y Peeso para limpiar y conformar los conductos radiculares y así eliminar la población bacteriana en el espacio pulpar.¹ Las limas endodónticas son instrumentos muy delgados, con conicidad, de 21 a 31 mm de largo, con una topografía compleja y espiras cortantes, y caerían dentro de la clasificación anterior en material crítico por penetrar en los tejidos del paciente. Por el tamaño y forma que tienen las limas, es difícil remover todo el material

biológico después de su uso al reesterilizarlos⁸; los espaciadores de dedo, por su lado, son más fáciles de limpiar por no tener espiras, pero también deben esterilizarse para reutilizarlos. Dado que todos los instrumentos que se usan dentro de los conductos radiculares, son material crítico, requieren protocolos de esterilización estrictos para su uso, para lo cual hay varios métodos, como son el calor seco, autoclave, gas de óxido de etileno, esterilizador de cristales y esterilizador de sales calientes, entre otros.⁵

Es importante que antes de la esterilización o desinfección de alto nivel, los instrumentos se limpien removiendo la mayor cantidad de residuos, pudiendo usarse soluciones enzimáticas o no enzimáticas para facilitarlos, además de usar guantes gruesos, y debe hacerse lo antes posible para que los residuos no se sequen⁷, ya que la suciedad seca se elimina con más dificultad que la húmeda y reciente. Si permanece cualquier resto de materia orgánica en el material, puede inactivar el proceso de desinfección y/o esterilización.⁹

2. ESTERILIZACIÓN

La esterilización es un proceso por medio del cual un artículo, superficie o medio es liberado de todas las formas viables de los microorganismos en su estado vegetativo o espora.^{9,1}

2.1. Métodos de Esterilización

Los métodos de esterilización actualmente utilizados pueden ser con calor seco o húmedo, con líquidos, con gases, como el formaldehído y el óxido de etileno, con radiaciones gamma y beta, o con luz ultravioleta.^{9,1,3}

2.1.1. Agentes Químicos

La esterilización con químicos líquidos no es tan recomendable ya que todo el procesamiento debe ser aséptico. Se deben enjuagar los instrumentos con agua estéril y debe ser secados con toallas estériles, lo cual complica el proceso, además de que los instrumentos no están empacados, por lo que deben ser usados inmediatamente, o guardados en un contenedor estéril¹⁰. Otra desventaja, es que, al esterilizar, por ejemplo, con glutaraldehído, que es el principal agente químico usado para este fin, éste puede ser absorbido y después liberado por materiales porosos⁴, además de que el tiempo que deben permanecer los instrumentos dentro del líquido es muy prolongado (10 horas).

2.1.2. Calor Seco

El calor seco puede usarse flameando el instrumento repetidas veces en intervalos cortos de tiempo en una llama. Pero no se recomienda porque daña el

material, y no debe usarse en hojas cortantes. El aire caliente es el mejor método de calor seco, y se usa un horno a alta temperatura. No ataca el vidrio ni causa oxidación. Pueden variarse la temperatura y tiempo, por ejemplo, a 170°C por 60 minutos, o a 160°C por 120 minutos, según el tamaño de la carga y el tipo de envoltura de los paquetes (a más carga, más tiempo). Su mayor desventaja es que requiere mucho tiempo, y que muchos materiales no pueden pasar por este método, como las piezas de mano, o materiales propensos a fundirse a altas temperaturas, además de que muchos materiales pueden oxidarse o decolorarse después de varios ciclos. Si los instrumentos no son bien limpiados previamente, las esporas en las masas orgánicas adheridas en los instrumentos toman más tiempo en ser destruidas.^{2,3}

2.1.3. Calor Húmedo

La esterilización por calor húmedo puede hacerse con la ebullición de agua, pero la simple ebullición no es tan recomendable ya que presenta varios problemas: el punto de ebullición depende del contenido en sales minerales del agua, así como la altitud de nivel del mar, las sales del agua pueden precipitarse en los instrumentos, no destruye esporas ni todos los organismos, entre ellos, los tetánicos. Estos problemas pueden resolverse colocando aditivos al agua, pero, de todos modos, la temperatura es insuficiente para obtener un resultado seguro³.

2.1.3.1. Autoclave

Dados los problemas que presenta el uso de la simple ebullición para la esterilización, son mucho más utilizados y se ha probado la eficiencia de aparatos que funcionan a base de vapor de agua a presión en un recipiente metálico hermético, las autoclaves. En ellas se calienta agua hasta producir vapor, el cual se continúa calentando hasta conseguir vapor sobrecalentado. Se puede alcanzar la esterilización aplicando una presión elevada dentro del autoclave en un tiempo reducido, por ejemplo, a 121°C, a 1 atmósfera (15 lb/in²) por 15-20 minutos (según el empaquetado del instrumental), o a 134°C a 2 atmósferas (30 lb/in²) por 3-7 minutos (según el tipo de empaquetado del instrumental)^{2,3}. Este es actualmente el método de esterilización de elección en odontología ya que puede esterilizar casi la totalidad del material e instrumental, destruyendo hongos, bacterias, virus y esporas. Este método es seguro para esterilizar tela, gasas, sutura, guantes de látex, y algunos materiales de plástico. Las autoclaves pequeñas disponen actualmente de una bomba de vacío, con lo que es mucho más fácil que el material esterilizado salga totalmente seco³.

Por otro lado, presenta algunas desventajas. Primeramente, se requiere un equipo relativamente costoso. Otra es que provoca la corrosión de instrumentos metálicos como las fresas dentales; esto puede evitarse, por ejemplo, bañando previamente las fresas en una solución de nitrato de sodio al 1%². El tiempo

requerido para completar un ciclo de presurización de la cámara, y esterilización y secado del instrumental, puede ser otra desventaja, ya que se requiere aproximadamente 1 hora, por lo que los instrumentos no pueden esterilizarse al momento de la consulta para su uso inmediato.

Es importante mencionar que se debe verificar semanalmente el correcto funcionamiento de los ciclos de esterilización con pruebas de esporas llamadas indicadores biológicos, los cuales consisten en esporas altamente resistentes de *Bacillus stearothermophilus* (para probar esterilizadores de calor húmedo y de vapor de químicos insaturados), o *Bacillus subtilis* (para probar esterilizadores de calor seco). Los indicadores químicos sensibles al calor solo muestran si ha habido exposición al calor, por lo que no aseguran la esterilidad.^{7,2}

2.2 Esterilización en las Limas Endodónticas

Aun al usar instrumentos nuevos, es importante considerar que las condiciones de éstos al abrirlos. El estudio de Segall y cols¹¹ demostró que, al recibir los instrumentos nuevos de fábrica, éstos tienen detritos plásticos, limalla metálica, grasa y hasta células epiteliales en su superficie, por lo que deben ser limpiados antes de ser esterilizados por primera vez.

Se sabe que tampoco hay esterilidad en el empaquetamiento de fábrica de los instrumentos endodónticos, salvo algunos que indican que han pasado por este proceso y tienen el empaquetamiento requerido para conservar su esterilidad, pero son la minoría. El estudio de Roth y cols (2006)¹², en limas manuales y rotatorias de diferentes marcas, nuevas y recién extraídas de sus empaques, mostró que había contaminación bacteriana en el aproximadamente el 13% de los instrumentos, aun en algunos de los que indicaban estar estériles de fábrica, subrayando la necesidad de esterilizar todos los instrumentos endodónticos previo a su uso, incluyendo los que dicen estar estériles. Varios estudios, incluyendo el de Gnau y cols.¹³ concluyen que un 6% de las limas nuevas estaban contaminadas, y que no se logró la esterilidad “rápida” de éstas sumergiéndolas en hipoclorito al 6% por 1, 2, ni 5 minutos.

2.2.1. Comparación de diferentes métodos para esterilizar Limas Endodónticas

El estudio de Raju y cols.⁵ compara diferentes métodos de esterilización para limas endodónticas contaminadas con *Bacillus stearothermophilus* (esporas termoresistentes). Las limas procesadas con autoclave y aquellas procesadas con esterilización con láser de CO₂ mostraron una esterilización del 100%, mientras que aquellas en el grupo procesado con esterilizador de esferas de vidrio se logró esterilidad en el 90% de los instrumentos, y en las del grupo procesado con

glutaraldehído, hubo esterilidad en el 80% de las limas, mostrando que los dos primeros métodos son los únicos que garantizan una esterilidad absoluta. El estudio de Sajjanshetty y cols.⁶ de esterilización en fresas, encontró también que el mejor método es la autoclave, seguido con el esterilizador de bolas, el calor seco en horno, y siendo mucho menor para el ultrasonido, y el simple cepillado manual.

2.2.2. Efectos de la Esterilización en Autoclave sobre las Limas Endodónticas

Dado el costo de los instrumentos endodónticos, una práctica común, sobre todo en los países en vías de desarrollo, es la reutilización y, por lo tanto, la esterilización y reesterilización de estos instrumentos. Esto presenta una desventaja ya la literatura nos ha demostrado que los instrumentos endodónticos sufren cambios estructurales al pasar por varios ciclos de esterilizado en la autoclave. El estudio de Mitchell y cols¹⁴, desde 1983, acerca del efecto que tienen múltiples ciclos de esterilizado sobre la resistencia al torque de las limas K de la primera serie, concluyó que hay disminución a la resistencia a la fractura, especialmente después de más de 5 ciclos. En el estudio de Canalda-Sahli¹⁵, se vio que después de 10 ciclos de esterilización en autoclave disminuyó ligeramente la flexibilidad de limas de acero inoxidable y de Ni-Ti (Nique-Titanio), mientras que hubo mayor flexibilidad en aquellas fabricadas con titanio; también la resistencia a la fractura disminuyó en las de acero y en algunos tamaños de las limas de Ni-Ti, mientras que en otros tamaños, aumentó; y en el estudio de Nair y cols¹⁶, se encontró que las irregularidades en la superficie de las limas rotatorias de Ni-Ti, observadas al microscopio, fueron más prominentes después de pasar por 10 ciclos de esterilización. Por otro lado, varios estudios muestran que la esterilización en autoclave de limas rotatorias de Ni-Ti, aumentan su resistencia a la fatiga cíclica.^{17,18,19}

3. MICROBIOLOGÍA EN LA PATOLOGÍA ENDODÓNTICA

Desde el clásico estudio de Kakehashi²⁰, en 1965, se demostró que los microorganismos son la causa principal de la patología endodóntica, ya que la pulpa dental se necrosa en la presencia de bacterias, derivando en inflamación crónica y más adelante, granulomas periapicales.

3.1. Bacterias en la Patología Endodóntica Primaria

Las infecciones en la pulpa dental son, con frecuencia, resultado de caries, y un tratamiento endodóntico exitoso depende de la reducción o eliminación de estos microorganismos. Cualquier microorganismo en la cavidad oral, en la nasofaringe o en el tracto gastrointestinal puede infectar el espacio pulpar. En los primeros estudios de microbiología en endodoncia, los microorganismos aislados con mayor

frecuencia en conductos infectados eran el *estreptococo α -hemolítico*, estreptococos γ , y enterococos, y con menor frecuencia *Staphylococcus aureus* y *estreptococo β -hemolítico*. Más adelante se empezó a reconocer la importancia de bacterias anaeróbicas como patógenos endodónticos, ya que, al haber un compromiso vascular o una infección aeróbica previa, se produce un microambiente con reducción de oxígeno. Los anaerobios, que en condiciones normales están presentes en la flora normal, se convierten en colonizadores secundarios. La flora será diferente si el conducto está abierto a la cavidad oral, en cuyo caso tendrá una flora similar a la de la boca, o si está cerrado, teniendo en este caso una población mayormente anaerobia²¹. Inicialmente, los conductos radiculares son colonizados por aerobios y anaerobios facultativos, pero a medida que progresa la infección, el microambiente va cambiando. En las infecciones endodónticas primarias son polimicrobianas, dominada por bacilos gran negativos, con presencia predominantes de bacteroides, porphyromonas, prevotella, fusobacterias, treponema, peptostreptococos, eubacterias y *campilobacter sp*²².

3.2. Éxito y Fracaso en los Tratamientos de Conductos

Cuando se realiza un tratamiento de conductos en condiciones asépticas y en condiciones clínicas aceptadas, la tasa de éxito es alta generalmente, hasta el 85-90%. Pero aun cuando el tratamiento haya sido realizado correctamente, hay otros factores que pueden determinar su fracaso, como las infecciones extrarradiculares. Aun así, la mayor parte de los fracasos son por microorganismos que persisten en la parte apical del conducto obturado²³.

3.3. Bacterias en la Patología Endodóntica Secundaria

En una infección secundaria (después de un tratamiento de conductos), la flora encontrada es distinta, y típicamente son especies que sobreviven a condiciones extremas como un amplio rango de pH y condiciones de nutrición muy limitadas. En las infecciones secundarias predominan bacterias gran positivas, y las especies mayormente encontradas en estos casos los enterococos, estreptococos, lactobacilos, actinomices y hongos como la *cándida*.²²

3.3.1. Enterococcus faecalis

Es de especial importancia en los casos de periodontitis apical persistente el *Enterococcus faecalis*^{22,23}. En el estudio de Sundqvist²³ el *E. faecalis* fue el microorganismo encontrado en el 38% de los tratamientos endodónticos que habían fracasado. Esta bacteria usualmente se encuentra poco en los conductos no tratados, lo cual sugiere que puede entrar durante el tratamiento, sobrevivir las medidas antibacterianas y persistir después de la obturación²⁴.

El *enterococcus faecalis* es un coco gran positivo que crece en pares o en cadenas cortas, anaerobio facultativo (crece en la presencia o ausencia de oxígeno)

que no forma esporas²⁵. Viven en grandes cantidades en el tracto intestinal humano, en la mayor parte de los casos, sin causar daño ahí. Se encuentra presente también en el tracto genital femenino y en menor cantidad, en la cavidad oral, de hecho, se encuentra en mayor proporción en pacientes que tienen periodontitis²⁴. Catabolizan una gran cantidad de fuentes de energía, incluyendo carbohidratos, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina y muchos cetoácidos α . Sobreviven en pH alcalino extremo (9.6), sales, detergentes, metales pesados, etanol y disecación. Pueden crecer en temperaturas de 10 a 45°C y sobreviven hasta 30 minutos a 60°C²⁵. Desde los 70's se empezó a reconocer que los enterococos eran patógenos nosocomiales causantes de bacteriemias, endocarditis, meningitis bacteriana, e infecciones de tracto urinario y otras, y se atribuye su transmisión a través de las manos de trabajadores de la salud, instrumentos clínicos, o de paciente a paciente²⁵.

Se ha encontrado *E. faecalis* en 4 a 40% de los tratamientos endodónticos primarios, pero es 9 veces más probable aislar este microorganismo en los tratamientos fallidos. Es resistente a las condiciones adversas dentro del conducto y al hidróxido de calcio, pero para erradicarlo, se puede ampliar más la parte apical del conducto, además de que no es resistente al hipoclorito de sodio del 3 al 5.25%, aun en el biofilm²⁵.

4. ESTERILIZACIÓN CON LUZ ULTRAVIOLETA

Revisaremos algunos conceptos generales acerca de la luz ultravioleta para poder entender su funcionamiento como medio bactericida.

4.1. Radiación Electromagnética

La radiación electromagnética es una forma en que se transporta la energía a través del espacio, y se describe como un campo electromagnético (con descripción ondulatoria) o como fotones (con descripción como partícula), y tanto ondas como fotones se desplazan en el espacio a la velocidad de la luz.²⁶

4.2. Espectro Electromagnético

La luz y radiación son formas de radiación electromagnética, y forman parte de un rango muy amplio, que no tiene límite inferior o superior, denominado el Espectro Electromagnético. Este espectro se ha dividido en diferentes regiones según sus características y usos, pero que no tienen fronteras rígidas entre regiones adyacentes. Se utilizan dos parámetros comunes para describir al espectro electromagnético: frecuencia y longitud de onda. Ésta última es medida en nanómetros (nm) y tiene importancia dentro del espectro electromagnético, para definir los rangos dentro de éste. La radiación ultravioleta (UV) (que significa “más

allá del violeta”), la luz visible y el infrarrojo forman parte de la región óptica del espectro electromagnético.²⁶

4.3. Radiación Ultravioleta

La radiación ultravioleta es un tipo de radiación no ionizante, emitida por el sol o por fuentes artificiales. La luz UV tiene una longitud de onda menor que la región visible del espectro (razón por la cual no podemos verla), pero mayor que los rayos X suaves. La luz UV es parte del espectro electromagnético, y por sus propiedades bactericidas y fungicidas se ha utilizado para esterilizar agua. La luz UV va desde los 150 a 400nm.²⁶

4.3.1. Clasificación de las ondas de la Luz Ultravioleta

La luz UV se clasifica en 3 bandas de espectro según su longitud de onda (ver Figura 1):

- **UV-A:** de 315 a 400 nm: También llamada “onda larga” o “luz negra”. Es la menos dañina.
- **UV-B:** de 280 a 315 nm: También llamada “onda media”. Forma el 5% de la radiación sola, y puede dañar el ADN de los microorganismos.
- **UV-C:** de 100 a 280 nm: Llamada “onda corta”. Es la radiación más dañina. De la radiación solar, la mayor parte de esta radiación es absorbida por la capa de ozono.^{26,27}

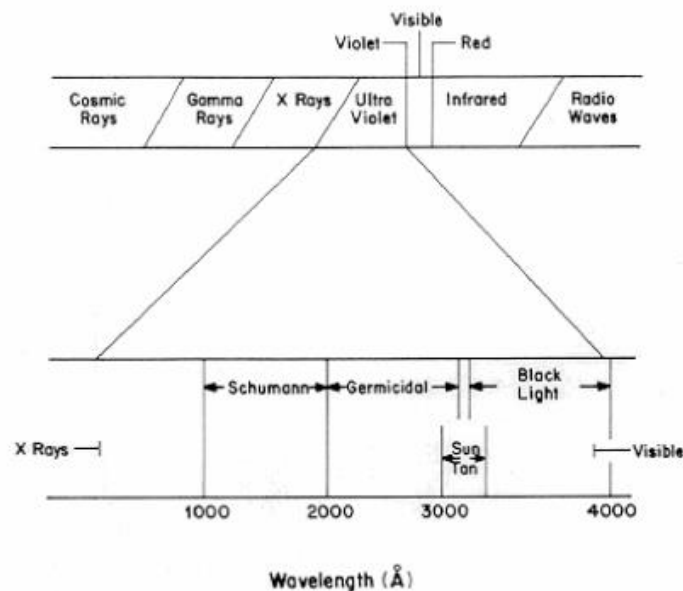


Figura 1. El espectro electromagnético (con ampliación en la región ultravioleta).²⁸

4.3.2. Efecto bactericida de la Luz Ultravioleta

De las 3 bandas anteriormente mencionadas, el máximo efecto bactericida está en la UV-C, principalmente en una longitud de onda de entre 240 y 280 nm, siendo la más efectiva con este propósito la longitud de onda de 253.7 nm (2,537 Å) ^{28,29} (ver Figura 2). Los estudios de laboratorio muestran que se logra la inactivación de 90% de los virus y bacterias con la luz UV, por lo que este método se utiliza para desinfección más que para esterilizar. Sin embargo, los microorganismos remanentes quedan debilitados, lo cual interfiere con su replicación, y los hace más susceptibles a ser inactivados por otros métodos, como calor o agentes químicos.²⁸

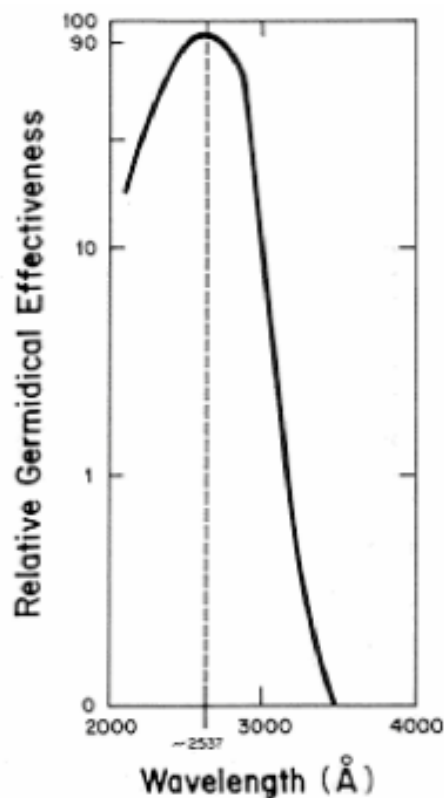


Figura 2. Curva que muestra la efectividad germicida relativa. ²⁸

Las propiedades de esterilización de la radiación ultravioleta “tradicional” son limitadas porque la energía de radiación que produce es muy baja, lo cual produce poco poder de penetración. La penetración en los sólidos es prácticamente nula, y en los líquidos es poca, dependiendo de su opacidad, por lo cual los rayos ultravioletas solamente son efectivos cuando son directos²⁸. También, los rayos UV tienen poco poder de penetración en las biopelículas, funcionando solo en las capas

superficiales, por lo que es importante limpiar bien los instrumentos antes de procesarlos con luz UV.²⁷

4.3.2.1. Mecanismo de acción del efecto bactericida de la luz UV

El mecanismo de acción del efecto bactericida de la luz UV se cree que es a través de la absorción de los rayos, por el ADN, lo cual induce a una mutación celular o muerte basada en cambios químicos que afectan a los mecanismos genéticos²⁹. La mayor parte del daño causado por la luz UV resulta en la formación de dímeros de pirimidina tipo ciclobutano (CPD's) entre las tiaminas adyacentes en ácido desoxirribonucleico. Dímeros similares también se forman en menor cantidad entre las citosinas, y entre los pares de citosina-tiamina. Los dímeros son muy estables, y bloquean la replicación normal y la transcripción del ADN. Estos cambios irreversibles comprometen la función celular, lo cual lleva a la muerte celular. La cantidad de energía de fotones necesaria para destruir a los microorganismos dependen principalmente de la sensibilidad del organismo.²⁸

4.3.2.2. Tipos de esterilización con luz UV

- **Esterilización Estática**

A la exposición directa a los rayos UV se le llama “esterilización estática”. Se ha comprobado la esterilización en superficies planas, pero si los microorganismos están protegidos de la incidencia del rayo, como sucede en algunas partes de objetos con superficies irregulares, como los implantes o las limas endodónticas, no habrá acción contra los organismos (“efecto de blindaje” o “de protección”)²⁹. A pesar de que las superficies de un instrumento pueden parecer lisas, al examinarlos a gran magnificación, las superficies tienen defectos que protegen contra los organismos de la luz UV, es por esto que la esterilización en instrumentos de endodoncia por este método puede ser limitada. A pesar de ello, hay una potencial esterilización, como ha sido demostrado en investigaciones extensas de la destrucción de microorganismos en el aire. Se necesita eliminar las “zonas de sombra” y el “efecto de blindaje”.²⁸

- **Esterilización Dinámica**

El problema que presentan las “zonas de sombra” y el “efecto de blindaje” en la esterilización estática, se pueden resolver utilizando una esterilización dinámica, en la que se usa una lámpara germicida modificada que es capaz de causar excitación en las partículas de la superficie, así como micro combustión de detritos inestables en la superficie²⁸.

4.3.2.3. Estudios de Esterilización con de Luz Ultravioleta en Materiales Dentales

Hay varios estudios en que se ha estudiado la esterilización dinámica con luz ultravioleta en los implantes dentales. En el estudio de Delgado y Schaaf²⁹, se usó la luz UV como método de esterilización en implantes de distintos tipos. De los 165 implantes procesados con luz UV, solamente un tuvo crecimiento bacteriano, y no se observaron cambios en la superficie de los implantes excepto en los de polímero de polisulfona, de los cuales 6 especímenes se volvieron opacos y tuvieron cambios dimensionales después de la exposición. Se comprobó que 16 segundos de exposición a radiación dinámica con luz UV fueron suficientes para esterilizar estos materiales.

En el estudio de Singh²⁸, de los 48 implantes procesados con luz UV con esterilización dinámica, sólo uno (del grupo con tapón) no cumplió con los criterios de esterilización en cuanto a turbidez. También se vio que las microimperfecciones y los detritos en los implantes no tuvieron influencia en los resultados del experimento. En otro estudio, de Riley³⁰, para comprobar si los implantes mejoran la fotoesterilización, tuvieron como resultado que en la una muestra de solución con *E.Coli* con un implante dentro, procesada con radiación UV, se destruyeron 98% de las bacterias a las 17 horas, lo cual no sucedió con la muestra sin implante. Y demostraron que el dióxido de titanio (TiO₂) en la superficie de los implantes de titanio comerciales es fotoactivo y que los hidroxiradicales producidos cuando la luz UV ilumina la superficie de TiO₂ reaccionan con y destruyen las bacterias. El análisis mostró que a una intensidad baja de luz UV se destruyeron bacterias a un ritmo de aproximadamente 650 millones por cm² del implante por minuto.

En el estudio de Devine y cols.³¹, se usó un aparato para lograr luz UV activado en el microondas, para hacer el proceso menos costoso al no requerir un equipo tan grande, y probar la acción antimicrobiana que tenía este método, viendo que los niveles de microorganismos se reducían a niveles mínimos, excepto *Mycobacterium phleii* y endosporas de *Bacillus stearothermophilus*, los cuales fueron menos sensibles.

Recientemente, el trabajo de García González³², sobre la esterilización de bandas metálicas de ortodoncia con radiación UV, demostró que el exponer bandas contaminadas, tanto con la concentración normal de microorganismos en la cavidad oral como con concentraciones mayores, a la luz ultravioleta por 5 minutos de un lado, más 5 minutos del otro lado, fue suficiente para lograr la destrucción total de *S. aureus* y *C. albicans*.

5. USO DE *Prosopis sp* COMO AGENTE ANTIMICROBIANO

En nuestro país, el uso de la medicina tradicional y productos de origen herbolario es muy fuerte a pesar de los avances de la medicina. Por ello, es importante darle valor desde un punto de vista biológico, empezado por conocer las bases biológicas de cada especie, que en este caso de este trabajo es *Prosopis sp*, mejor conocido como mezquite.

5.1. Biodiversidad en México y su uso en la medicina

México es un país con una gran biodiversidad en su flora y fauna, reconocida internacionalmente, además de una gran riqueza cultural, que incluye una tradición extensa de medicina tradicional, cuyos métodos, a pesar de haber sido utilizada en diferentes culturas ancestralmente, no han sido todos estudiados de manera formal para poder darles una aplicación basada en evidencias.

Los medicamentos herbarios comprenden el uso de hierbas (material bruto: hojas, flores, tallos, semillas, madera, corteza, raíces, entre otras partes vegetales), material herbario (jugos, gomas, aceites, resinas, polvos), preparaciones herbarias (materiales herbarios triturados o pulverizados, extractos, tinturas, aceites grasos) y productos herbarios acabados (preparaciones herbarias de una o más hierbas, con excipientes)³³.

Los diferentes desiertos en México concentran una gran cantidad de flora y fauna endémicos. Uno de estos centros importantes por su alta diversidad en flora es la zona de Tehuacán-Cuicatlán entre los estados de Puebla y Oaxaca, dentro de la cual está el Valle de Zapotitlán de las Salinas. Este sitio ha sido muy estudiado por poseer cerca de 2800 especies, cerca del 1% de la flora mundial, además de un alto grado de endemismo³⁴.

5.2. El Mezquite (*Prosopis sp*)

El mezquite (*Prosopis sp*) es un árbol, cuyo nombre viene del vocablo náhuatl *micuitl*. Este género tiene más de 40 especies nativas, y en las zonas áridas y semiáridas de México se considera al mezquite de gran importancia ya que tiene muchos usos. Por ejemplo, las hojas y vainas se usan para alimentación humana en harinas o bebidas fermentadas, y como alimento para el ganado. A la madera de este árbol se le usa para duela, para fabricación de herramientas, hormas de zapatos, como leña o para obtener carbón.³⁶

En la medicina tradicional se le usa ha sido usado como remedio natural en México, dándole diferentes usos, incluyendo la cura de varias enfermedades gastrointestinales³⁵, afecciones de los ojos³⁶, quemadura de la piel, estabilizar niveles de azúcar, dolor de “muelas”, tratamiento de golpes, e incluso males psicológicos como tristeza, miedo y “mal de ojo”³⁷.

5.2.1. Características del *Prosopis laevigata*

EL mezquite pertenece a la familia Fabaceae, subfamilia Mimosideae⁴¹. Una de las especies predominantes en la selva baja espinosa perennifolia y la selva baja caducifolia de Zapotitlán de las Salinas Puebla, es *Prosopis laevigata* (Humb. et Bonpl. Ex Willd) M.C. Johnston, la cual conforma los llamados mezquiales (terreno poblado de mezquites)³⁴. La planta de *Prosopis laevigata* es originaria del norte de

Sudamérica (Venezuela y Colombia), Panamá, Centroamérica hasta México y las Antillas. En México, se encuentra principalmente en la vertiente del pacífico, desde Michoacán hasta Oaxaca, en la del Golfo de México en Nuevo León, Tamaulipas, y en el norte de Veracruz, y en las regiones centrales de altura del país, hasta los 2300 m, principalmente en San Luis Potosí, Guanajuato, Zacatecas, Durango, Coahuila y algunas poblaciones en Hidalgo³⁶.

Es un árbol desde 13 a 40 m de altura y diámetro de hasta 80 cm, pero generalmente menor (ver Figura 3). Puede crecer en zonas con lluvias menores a los 100 mm anuales y soporta temperaturas máximas de 40°C en el verano.³⁷



Figura 3. *Prosopis Laevigata*. Árbol Completo³⁸

La floración de esta especie inicia en febrero y marzo, y termina de abril a mayo. La floración coincide con el renuevo de los foliolos³⁶. Las hojas son pecioladas, con 1 a 3 pares de pinnas, cada una con 10 a 20 pares de foliolos sésiles, y son brevidecíduas, es decir, el árbol pierde su follaje en época de sequía (ver Figura 4). La caída de hojas es en invierno.³⁹



Figura 4. Hojas de *Prosopis Laevigata*⁴⁰

5.3. Elementos antimicrobianos encontrados en *Prosopis sp*

El trabajo de Ardoino⁴¹, muestra que entre los metabolitos secundarios (aquellos que no tienen procesos específicos en la respiración, fotosíntesis o transporte de nutrientes) de las plantas *Prosopis flexuosa*, se encuentran flavonoides, terpenos, taninos, y alcaloides, los cuales tienen conocida acción antimicrobiana, y en el estudio de Castro³⁷, se encontró que el compuesto metanólico obtenido de las flores de *P. laevigata* tiene fenoles con propiedades

bactericidas y fungicidas, flavonoides, antioxidantes, xantofilas (luteína, zeaxantina, cantexantina), alcaloides, ácido palmítico (antiinflamatorio), ácido linoléico (antibacteriano), ácido linolénico (inmunoestimulador, antiinflamatorio). Otros dos trabajos, con extractos de flores y hojas de *P. laevigata*, respectivamente, comprueban la presencia de compuestos antimicrobianos. En el estudio de Nava⁴², el análisis químico reveló la presencia de fenoles, flavonoides y alcaloides, los cuales son importantes para la actividad antimicrobiana; y el estudio de Moreno⁴³ comprobó la presencia de flavonoides, alcaloides, y fenoles, entre los que destaca el catecol, que tiene efectos antifúngicos y antibacterianos.

5.4. Estudios del uso de extracto de *Prosopis sp* como agente antimicrobiano

Recientemente se ha reportado el uso del extracto obtenido de las hojas de *Prosopis sp* como un agente altamente antimicrobiano. En el estudio de Ardoino⁴¹, se comparó la actividad antimicrobiana in vitro que tuvieron diferentes preparaciones y concentraciones de la hoja y corteza de *Prosopis flexuosa* sobre *Brucella canis*, encontrando que la preparación metanólica de la parte aérea fue la que logró una inhibición de crecimiento de este microorganismo hasta una dilución de 1mg/40mL. En el estudio de Sánchez-Salinas⁴⁴ se vio que los extractos hojas y tallos de *P. laevigata* mostraron actividad antimicrobiana, siendo la CMI (concentración mínima inhibitoria) de 0.5 mg/mL para el extracto hexanólico, y el extracto acetónico mostró una CMI de 4 mg/mL contra *S. aureus*, pero también actividad antimicrobiana usándolos a mayor concentración contra *Enterococcus faecalis*; *Escherichia coli*; *Proteus mirabilis*; *Salmonella typhi* y *Candida albicans*. El trabajo de Castro³⁷, de extracto de flores de *P. laevigata*, mostró actividad inhibitoria de categoría intermedia a resistente frente a cepas Gram positivas como *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, y *S. Mutans*, y halos de inhibición de categoría intermedia a resistente frente a Gram negativas: *Enterobacter aerogenes*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Enterobacter cloacae*.

Mientras tanto, el trabajo de Nava⁴², mostró que la época de recolección de la muestra de flores de *Prosopis laevigata*, influye en sus cualidades antimicrobianas, ya que al comparar una colecta de febrero y una de marzo, el extracto de la colecta de marzo presenta en promedio una mayor actividad antimicrobiana. Los resultados apuntan a las propiedades antimicrobianas y antifúngicas del extracto metanólico de las flores de esta especie incluso contra cepas bacterianas que son resistentes a varios antibióticos, y en algunos casos, se tuvieron resultados equiparables con antibióticos como tetraciclinas, trimetoprima-sulfametoxazol y quinolonas.

Es interesante que en el estudio de Moreno⁴³, acerca del efecto inhibitorio del extracto metanólico de hoja de *P. laevigata* contra diferentes cepas de *Cándida*, fue

menor el efecto contra *C. albicans* que con el control de Nistatina, pero una cepa resistente de *C. albicans* tuvo inhibición similar con *P. laevigata* a la inhibición obtenida con Nistatina, y la inhibición fue mayor con *P. laevigata* frente a *C. tropicalis*. Se comprobó que el efecto del extracto está presente incluso a concentraciones mínimas.

Después de revisar toda esta bibliografía acerca de las propiedades bactericidas y fungicidas de *Prosopis laevigata*, aun frente a bacterias resistentes, se decidió incluir en este estudio el procesamiento de limas endodónticas con extracto de hoja de *P. laevigata*, como una alternativa más ecológica, económica y sencilla.

Material y Métodos

Se realizará un estudio experimental, prospectivo, comparativo con grupo control positivo y negativo.

El diseño de la metodología de este estudio fue basado en parte en el trabajo de García-González³², con modificaciones para adecuarla también a estudiar el efecto de uso de la hoja de *Prosopis laevigata* sobre los microorganismos de limas endodónticas.

Para este estudio se utilizarán 20 limas rotatorios de Nickel-Titanio (del sistema K3XF, SybronEndo. Éstos serán divididos en 4 grupos de 5 instrumentos cada uno, que serán procesados de distinta manera después de la contaminación con *Enterococcus faecalis*. El Grupo 1 (CN) será el grupo de control negativo al que no se le hará un procesamiento de esterilización (especímenes 1 al 5); el Grupo 2 (CP) será el grupo de control positivo, procesado en autoclave para su esterilización (especímenes 6 al 10); el Grupo 3 (UV) será procesado con luz ultravioleta (especímenes 11 al 15), y el Grupo 4 (PL) será procesado con extracto de hoja de *Prosopis laevigata* (especímenes 16 al 20). El procesamiento de cada grupo se muestra a continuación:

	Nombre	Procesado
Grupo 1	Control negativo (CN)	Se mantendrán contaminados sin procesado. Se enjuagarán con agua destilada estéril para retirar el exceso de cepas.
Grupo 2	Control Positivo (CP)	Se enjuagarán los instrumentos con agua destilada estéril. Se les realizará lavado y cepillado con jabón líquido, secado con gasas estériles, serán empaquetados, y sometidos a esterilización en autoclave por 20 minutos a 121°C a 15 lb/in ² .
Grupo 3	Radiación UV (UV)	Se enjuagarán los instrumentos con agua destilada. Se les realizará lavado y cepillado con jabón líquido, secado con gasas estériles. Los instrumentos serán expuestos 5 minutos a la luz ultravioleta, pasados los cuales se voltearán los instrumentos, para que sean expuestos 5 minutos del otro lado a la luz ultravioleta.
Grupo 4	Extracto de Hoja de <i>Prosopis laevigata</i> (PL)	Se enjuagarán los instrumentos con agua estéril. Se les realizará lavado y cepillado con jabón líquido, secado con gasas estériles. Se sumergirán en solución de extracto de hoja de <i>Prosopis laevigata</i> por 5 minutos. Se lavarán con agua estéril y se secarán con gasas estériles.

Tabla 1. Tipo de procesado de instrumentos, por grupos. CN: control negativo; CP: control positivo; UV: Procesamiento con Radiación UV; PL: Procesamiento con extracto de *Prosopis laevigata*.

Para la obtención del extracto metanólico de hoja de *P. laevigata* se hará en conjunto con el Laboratorio de Farmacognosia de la UBIMED (FES Iztacala), usando como referencia las metodologías descritas por De Jesús³⁵, Castro³⁷, Nava⁴² y Moreno⁴³: La colecta del material vegetal se hará en la época de floración del mezquite para asegurar sus mejores características. Las hojas se pondrán a secar en un lugar sombreado y fresco por 1 mes. Se colocarán en un matraz con metanol por 3 días a una temperatura de 25-30°C para así obtener el extracto metanólico crudo por maceración, el cual después será filtrado y destilado.



Figura 5. Caja para esterilización con Luz UV marca SunUV modelo 59S S1.⁴⁵

Para la esterilización con luz Ultravioleta se utilizará una caja de emisión de luz UV de marca SunUV modelo 59S S1, con emisión de luz en la parte superior interna de la caja y espejos para la reflexión de los rayos de luz UV en toda la caja. LA caja emite una luz UV tipo C de 253.57 nm, y tiene un tamaño de 235 x 108 x 75.5 mm (ver Figura 5). Su costo aproximado es de \$1625 (pesos mexicanos).⁴⁵

Para la contaminación y esterilización de las limas endodónticas se trabajará en una campana de flujo laminar, manipulando los instrumentos con guantes estériles. Se prepararán los instrumentos mediante lavado y cepillado con agua y jabón, y secándolos con gasas estériles. Se colocarán los instrumentos en bolsas para su esterilización en autoclave. Se procesarán en autoclave según las instrucciones del fabricante a 121°C por 21 minutos a una presión de 15 lb/in².

Se contaminarán todos los instrumentos con *Enterococcus faecalis*. Para ello, se activan los microorganismos cultivándolos en agar y caldo de infusión cerebro-corazón por 24 horas a 37°C. Después, se tomarán 4 a 5 colonias con un asa estéril, y se disolverán en tubos que contengan 10 mL de caldo Müller-Hinton. El tubo se incubará a 37°C en condiciones anaeróbicas a una atmósfera de 10% CO₂, en una incubadora de CO₂, por 48 horas o hasta lograr una turbidez de 0.5 de la escala de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL) para preparar el inóculo. El estándar de McFarland se prepara añadiendo 0.5 mL de sulfato de bario a 99.5 mL de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) 0.36 N.

Se tomarán 50 μ L de estos cultivos y se colocarán en frascos viales con 5mL de caldo y en ellos se sumergirán los instrumentos, y se cultivarán a 37°C por 24 horas.

Posteriormente, se dividirán los instrumentos en sus respectivos grupos para el procesado, que se realizará de acuerdo con la tabla anterior.

Una vez procesados los instrumentos se colocarán en tubos con 5 mL de caldo de cultivo, y se colocarán en una incubadora a 37°C en condiciones anaeróbicas por 24 horas.

Posteriormente se tomarán 50 μ L una muestra del caldo en el que se habrán colocado las limas, y se colocarán en una caja de Petri con agar Muller-Hinton con 3 divisiones. En la división marcada como A, se realizará una dilución al 1:100 del caldo tomando 50 μ L en un frasco con 5 mL de cloruro de sodio al 0.9% estéril, y de esta dilución se tomarán 50 μ L que se colocarán en la división de la caja de Petri marcada con B. Se hará una segunda dilución de 1:10,000, para lo cual, de la dilución de 1:100 se tomarán 50 μ L que se colocarán en un frasco vial de 5mL de cloruro de sodio al 0.9% estéril. De esta dilución se tomarán 50 μ L que serán colocados en la división de la caja marcada con la C. Estas cajas se incubarán por 24 horas a 37°C.

Después de la incubación, se contarán las colonias en cada sección de la caja. Se contará como 100% de supervivencia al crecimiento obtenido en el grupo testigo, para tomarlo como referencia para cada procedimiento de esterilización.

Se presentarán las unidades formadoras de colonias (UFC) como valores numéricos, y se contarán para determinar la población de cepas que crezcan en cada caja, para así determinar la efectividad de cada método de esterilización.

Se utilizará el siguiente formato para la recolección de datos:

CN		CP		UV		PL	
Esp	UFC	Esp	UFC	Esp	UFC	Esp	UFC
1		6		11		16	
2		7		12		17	
3		8		13		18	
4		9		14		19	
5		10		15		20	

Tabla 2. Formato para recolección de datos según el grupo. CN: Grupo 1, control negativo; CP: Grupo 2, control positivo; UV: Grupo 3, procesados con radiación UV; PL: Grupo 4, procesado con extracto de *Prosopis laevigata*; Esp: Espécimen. UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

Análisis estadístico

Para el análisis de resultados se utilizará la prueba estadística de ANOVA de una sola vía para establecer si hay diferencia significativa entre los diferentes grupos.

Consideraciones éticas y legales

No se requerirán procedimientos especiales que impliquen consideraciones éticas y legales ya que no se trabajará en sujetos vivos, ni se utilizarán procedimientos peligrosos.

Cronograma de Actividades

	Actividad Fecha	Elaboración de protocolo	Revisión de Correcciones	Entrega de Trabajo Final
2019	Noviembre			
	Diciembre			
2021	Enero			
	Febrero			
	Marzo			
	Abril			
	Mayo			

Tabla 3. Cronograma de Actividades para la Realización del Trabajo

Aclaración Final

Debido al problema que ha significado la presencia de la pandemia por el virus Sars-Cov-2, la FES Iztacala está cerrada, por lo que el trabajo experimental no se ha podido efectuar. Las perspectivas para una reapertura del laboratorio no son buenas ni a corto ni mediano plazo. En virtud de que se realizó toda la investigación documental, se planteó un buen protocolo de investigación y se realizaron los primeros acercamientos al proceso experimental con la Dra. Margarita Canales, quien está a cargo del Laboratorio de Farmacognosia de la UBIMED, donde se llevaría a cabo la fase experimental, se da por concluido el trabajo para obtener el Grado de Especialista en Endoperiodontología, en espera de que en un futuro se pueda desarrollar el proceso experimental.

Referencias Bibliográficas

- ¹ Reprocessing Devices in Health Care Settings: Validation and Labeling [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2015 [citado 9 Marzo 2021]. Disponible en: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/reprocessing-medical-devices-health-care-settings-validation-methods-and-labeling>
- ² Current Status of Sterilization Instruments, Devices, and Methods for the Dental Office J Am Dent Assoc [Internet]. 1981 [citado 9 Marzo 2021];102(5):683-689. DOI: 10.14219/jada.archive.1981.0185
- ³ Gay Escoda C. Cirugía bucal. Barcelona: Oceano/Ergón; 2012.
- ⁴ Orsi I, Andrade V, Bonato P, Raimundo L, Herzog D, Borie E. Glutaraldehyde release from heat-polymerized acrylic resins after disinfection and chemical and mechanical polishing. Braz Dent J [Internet]. 2011 [citado 9 Marzo 2021];22(6):490-496. DOI: 10.1590/s0103-64402011000600009
- ⁵ Raju T, Garapati S, Agrawal R, Reddy S, Razdan A, Kumar S. Sterilizing Endodontic Files by four different sterilization methods to prevent cross-infection - An In-vitro Study. J Int Oral Health [Internet]. 2013 [citado 9 Marzo 2021];5(6):108-12. PMID: 24453454
- ⁶ SajjanShetty S. Decontamination Methods Used for Dental Burs – A Comparative Study. J Clin Diagn Res [Internet]. 2014 [citado 9 Marzo 2021];8(6):ZC39-ZC41. DOI: 10.7860/jcdr/2014/9314.4488
- ⁷ Sterilization or disinfection of dental instruments. J Am Dent Assoc [Internet]. 2001 [citado 9 Marzo 2021];132(6):785. DOI: 10.1016/s0002-8177(14)61746-3
- ⁸ Kumar K, Kiran-Kumar K, Supreetha S, Raghu K, Veerabhadrapa A, Deepthi S. Pathological evaluation for sterilization of routinely used prosthodontic and endodontic instruments. J Int Soc Prev Community Dent [Internet]. 2015 [citado 9 Marzo 2021];5(3):232-236. DOI: 10.4103/2231-0762.159962
- ⁹ Martínez-Bagur M. Guía de Antisépticos y desinfectantes. Hospital Universitario de Ceuta Instituto Nacional de Gestión Sanitaria [Internet]. 2013 [citado 9 Marzo 2021]:3-23. Disponible en: https://ingesa.sanidad.gob.es/bibliotecaPublicaciones/publicaciones/internet/Guia_Antisepticos_desinfectantes.htm
- ¹⁰ Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. ADA Council on Scientific Affairs and ADA Council on Dental Practice. J Am Dent Assoc [Internet]. 1996 [citado 9 Marzo 2021] Mayo;127(5):672-80. DOI: 10.14219/jada.archive.1996.0280. PMID: 8642147.
- ¹¹ Segall R, del Rio C, Brady J, Ayer W. Evaluation of endodontic instruments as received from the manufacturer: The demand for quality control. Oral Surg Oral Med Oral Pathol [Internet]. 1977 [citado 9 Marzo 2021];44(3):463-467. DOI: 10.1016/0030-4220(77)90417-0
- ¹² Roth T, Whitney S, Walker S, Friedman S. Microbial Contamination of Endodontic Files Received from the Manufacturer. J Endod [Internet]. 2006 [citado 9 Marzo 2021];32(7):649-651. DOI: 10.1016/j.joen.2005.09.006

-
- ¹³ Gnau H, Goodell G, Imamura G. Rapid Chairsides Sterilization of Endodontic Files Using 6% Sodium Hypochlorite. *J Endod* [Internet]. 2009 [citado 9 Marzo 2021];35(9):1253-1254. DOI: 10.1016/j.joen.2009.05.032
- ¹⁴ Mitchell B, James G, Nelson R. The effect of autoclave sterilization on endodontic files. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* [Internet]. 1983 [citado 9 Marzo 2021];55(2):204-207. DOI: 10.1016/0030-4220(83)90179-2
- ¹⁵ Canalda-Sahli C, Brau-Aguadé E, Sentís-Vilalta J. The effect of sterilization on bending and torsional properties of K-files manufactured with different metallic alloys. *Int Endod J* [Internet]. 1998 [citado 9 Marzo 2021];31(1):48-52. DOI: 10.1046/j.1365-2591.1998.t01-1-00114.x
- ¹⁶ Nair A, Tilakchand M, Naik B. The effect of multiple autoclave cycles on the surface of rotary nickel-titanium endodontic files: An in vitro atomic force microscopy investigation. *J Conserv Dent* [Internet]. 2015 [citado 9 Marzo 2021];18(3):218. DOI: 10.4103/0972-0707.157256
- ¹⁷ Özyürek T, Yılmaz K, Uslu G. The effects of autoclave sterilization on the cyclic fatigue resistance of ProTaper Universal, ProTaper Next, and ProTaper Gold nickel-titanium instruments. *Restor Dent Endod* [Internet]. 2017 [citado 9 Marzo 2021];42(4):301. DOI: 10.5395/rde.2017.42.4.301
- ¹⁸ Viana A, Gonzalez B, Buono V, Bahia M. Influence of sterilization on mechanical properties and fatigue resistance of nickel–titanium rotary endodontic instruments. *Int Endod J* [Internet]. 2006 [citado 9 Marzo 2021];39(9):709-715. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2006.01138.x
- ¹⁹ Plotino G, Costanzo A, Grande N, Petrovic R, Testarelli L, Gambarini G. Experimental Evaluation on the Influence of Autoclave Sterilization on the Cyclic Fatigue of New Nickel-Titanium Rotary Instruments. *J Endod* [Internet]. 2012 [citado 9 Marzo 2021];38(2):222-225. DOI: 10.1016/j.joen.2011.10.017
- ²⁰ Kakehashi S, Stanley H, Fitzgerald R. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* [Internet]. 1965 [citado 9 Marzo 2021];20(3):340-349. DOI: 10.1016/0030-4220(65)90166-0
- ²¹ Farber P, Seltzer S. Endodontic microbiology. I. Etiology. *J Endod* [Internet]. 1988 [citado 9 Marzo 2021];14(7):363-371. DOI: 10.1016/s0099-2399(88)80200-0.
- ²² Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan A, Yan A et al. Biofilms in Endodontics—Current Status and Future Directions. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2017 [citado 9 Marzo 2021];18(8):1748. DOI: 10.3390/ijms18081748
- ²³ Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 1998 [citado 9 Marzo 2021];85(1):86-93. DOI: 10.1016/s1079-2104(98)90404-8
- ²⁴ Zhang C, Du J, Peng Z. Correlation between *Enterococcus faecalis* and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular Infection: A Systematic

Review. J Endod [Internet]. 2015 [citado 9 Marzo 2021];41(8):1207-1213. DOI: 10.1016/j.joen.2015.04.008

²⁵ Stuart CH, Schwartz S, Beeson T, Owatz C. Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. J Endod [Internet]. 2006 [citado 9 Marzo 2021];32(2):93-98. DOI: 10.1016/j.joen.2005.10.049

²⁶ Frontal, B., Suárez, T., Reyes, M., Bellandi, F., Contreras, R., & Romero, I. El Espectro Electromagnético y sus Aplicaciones [Internet]. Mérida, Venezuela: Escuela Venezolana para la Enseñanza de la Química; 2005 [consultado 9 Marzo 2021]: 4-7. Disponible en: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16746/1/espectro_electromagnetico.pdf

²⁷ De Carvalho CCCR. Biofilms: Microbial Strategies for Surviving UV Exposure. En: Ahmad S. Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment. New York: Springer; 2017: 233-239

²⁸ Singh, S., & Schaaf, N. Dynamic Sterilization of Titanium Implants with Ultraviolet Light. Int J Oral Maxillofac Implants [Internet]. 2017 [citado 9 Marzo 2021];4(2):139-146. PMID: 2599585

²⁹ Delgado, A., & Schaaf, N. Dynamic Ultraviolet Sterilization of Different Implant Types. Int J Oral Maxillofac Implants [Internet]. 1990 [citado 9 Marzo 2021]; 5(2):117-125. PMID: 2133336

³⁰ Riley D, Bavastrello V, Covani U, Barone A, Nicolini C. An in-vitro study of the sterilization of titanium dental implants using low intensity UV-radiation. Dent Mater [Internet]. 2005 [citado 9 Marzo 2021];21(8):756-760. DOI: 10.1016/j.dental.2005.01.010.

³¹ Devine D, Keech A, Wood D, Killington R, Boyes H, Doubleday B et al. Ultraviolet disinfection with a novel microwave-powered device. J Appl Microbiol [Internet]. 2001 [citado 9 Marzo 2021];91(5):786-794. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01438.x

³² García-González, I. Eficacia de los Rayos Ultravioleta para la esterilización de aditamentos e instrumental utilizados en ortodoncia. [Tesis de Investigación para obtener el grado de Especialista]. México: Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. Especialización en Ortodoncia; 2016

³³ Medicina tradicional. OMS. [Internet] [consultado 9 Marzo 2021]. Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/

³⁴ Osorio-Beristain O, Valiente-Banuet A, Dávila P, Medina R. Tipos de vegetación y diversidad β en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. Bot Sci [Internet]. 2017 [citado 9 Marzo 2021];(59):35. DOI: 10.17129/botsci.1504

³⁵ De Jesús-Gabino A, Mendoza-de Gives P, Salinas-Sánchez D, López-Arellano M, Liébano-Hernández E, Hernández-Velázquez V et al. Anthelmintic effects of *Prosopis laevigata*-hexanic extract against *Haemonchus contortus* in artificially infected gerbils (*Meriones unguiculatus*). J Helminthol [Internet]. 2009 [citado 9 Marzo 2021];84(1):71-75. DOI: 10.1017/s0022149x09990332

-
- ³⁶ *Prosopis laevigata* (Humb. et Bonpl. ex Willd). CONAFOR [Internet]. 2019 [citado 9 Marzo 2021]. Disponible en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/988Prosopis%20laevigata.pdf>
- ³⁷ Castro, A. Estudio preliminar de la actividad antibacteriana de la flor de *Prosopis laevigata* (Humb.et Bonpl. Ex Wild) M.C. Johnst. [Tesis para obtener el grado de Bióloga]. México: Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. 2016
- ³⁸ Galeana-Abarca. *Prosopis Laevigata*. Árbol Completo. [Internet]. 2015 [citado 9 Marzo 2021]. Disponible en: <http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/36806?proyecto=Irekani>
- ³⁹ Rodríguez Saucedo E, Rojo Martínez G, Ramírez Valverde B, Martínez Ruiz R, Cong Hermida M, Medina Torres S et al. Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) en México. Ra Ximhai [Internet]. 2014 [citado 9 Marzo 2021];173-194. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46131111013.pdf>
- ⁴⁰ Garabito-Méndez. *Prosopis Laevigata*. [Internet]. 2015 [citado 9 Marzo 2021]. Disponible en: <http://unibio.unam.mx/irekani/handle/123456789/36601?proyecto=Irekani>
- ⁴¹ Ardoino, S. Estudio fitoquímico de extractos con actividad antimicrobiana contra *Brucella canis* obtenidos a partir de plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de la Pampa, Argentina. [Tesis para doctorado en ciencias veterinarias]. Argentina: Universidad Nacional de la Plata [Internet]. 2006 [citado 9 de Marzo 2021]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/48397/Documento_completo_.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- ⁴² Nava, S. U. Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de las flores de *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. Ex Willd) M.C. Jhonst. [Tesis para obtener el grado de Biólogo]. México: Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. 2017
- ⁴³ Moreno, B.P. Evaluación de la Actividad Anti-Candida del Extracto Metanólico de las Hojas de *Prosopis Laevigata*. [Tesis para obtener el grado de Bióloga]. México: Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. 2018
- ⁴⁴ Salinas-Sánchez, D., Arteaga G., León I., Dorado O., Vallarades M., Navarro V. Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra Biosphere in Morelos (México). Polibotánica [Internet]. 2009 [citado 9 Marzo 2021] 28, 213-225. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682009000200010
- ⁴⁵ Sunuvstore.com. [Internet]. Disponible en: <https://www.sunuvstore.com/products/s1-uv-light-sterilizer-box-for-personal>