

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFICACIA DEL CLORO Y AGUA OXIGENADA
EN EL CONTROL DE LA BIOPELÍCULA EN EL SISTEMA DE IRRIGACIÓN DE LA
UNIDAD DENTAL**

Que para obtener el grado de Doctora en Ciencias de la Salud

PRESENTA

María Victoria Gallegos Alcantar

PRESIDENTE

Dr. Jorge Paredes Vieyra

Dra. Haydeé Gómez Llanos Juárez
SINODAL

Dra. Lilia Angélica Hurtado Ayala
SINODAL

Dr. Mario Ignacio Manríquez Quintana
SINODAL

Dr. Miguel Angel Cadena Alcántar
SINODAL

Dedico este trabajo a:

A mi mamá[†], por que con su ejemplo siempre me mostro lo que es avanzar con humildad y fortaleza.

A mi hija, a quien me corresponde guiar con amor y motivar la expectativa, de que cada día, es una nueva oportunidad, para vivir, soñar y ser feliz.

Agradezco a:

Dios por permitirme llegar hasta aquí, llena de vida, ilusiones y metas por alcanzar.

A quienes me acompañaron de forma desinteresada en esta maravillosa aventura: Dr. Rubén Sepulveda, Dr. Guillermo Ventura[†], Dra. Lilia Hurtado, Dra. Eugenia Pérez, Dra. Felicitas Pérez, Dra. Ahydeé Gómez, Dr. Jorge Paredes, Dr. Mario Manríquez, Dr. Miguel Cadena, Lupita, Sergio, Adriana, Dany Boy.

Muy en especial al Dr. Daniel Octavio Valdez Delgadillo, Rector de la Universidad Autónoma de Baja California, quien confió en el proceso, en mi persona y ha generado esta oportunidad de vida. Gracias!

Lily mi cariño y agradecimiento eterno, tu eres ejemplo de solidaridad y dedicación.

Gracias a todos Ustedes.

RESUMEN

Antecedentes: En los consultorios dentales las líneas de agua de las unidades dentales (DUWLs), con frecuencia presentan concentraciones bacterianas mayor a lo aceptado por la Asociación Dental Americana (ADA) que es menor a 200 UFC/mL. Estos microorganismos (predominando bacterias), forman colonias, proliferando, hasta comunidades con capacidad de adherirse a superficies sólidas y formar biopelícula.

Objetivo: Determinar cuál es el desinfectante más eficaz entre hipoclorito de sodio al 4% y Peróxido de Hidrógeno al 3% para disminuir la contaminación de biopelícula en el sistema de irrigación de la unidad dental.

Métodos: Diseño de estudio experimental, con tratamiento y control antes y después de las tomas de muestras. Se evaluaron 16 unidades dentales en 5 clínicas, de la Facultad de Odontología, Tijuana. Con muestreo control, en clínicas participantes, 48 hrs. antes, de agregar el desinfectante, al cumplirse este tiempo se agregó al depósito, hipoclorito de sodio al 4% y se procedió a la toma de la segunda muestra. Transcurridos tres meses después, se procedió a la toma de muestreo control previa a la incorporación del Peróxido de hidrógeno al 3%, dejándose actuar por un periodo de 48-60 hrs. Para posteriormente proceder a la toma de las muestras.

Resultados: Se desarrollaron UFC/mL en todas las Unidades Dentales (UD), excepto clínica 8I. Se detectaron Coliformes en 1G, 1I y 6I, también *S. aureus* en clínicas E, F/J y H, así mismo Enterococos en todas las UD, excepto en 1E. Se encontró desarrollo de *Pseudomonas* en 1E, 3E, 4E, 7H y 8H. La clínica E fue la única con desarrollo de levaduras. Después de la intervención con hipoclorito de sodio al 4%, fueron eliminadas las levaduras en clínica E y ya no se detectaron UFC/mL en clínica

G, también se observó disminución en 1I y eliminación en 6I, con aumento en 8I. Y sin desarrollo detectable de Coliformes, se detectó presencia de *S. aureus* y Enterococos en 8I, clínica E, clínica F-J. Sin desarrollo detectable en Salmonella y Pseudomonas. Así mismo antes de la intervención con Peróxido de Hidrógeno se detectó desarrollo de UFC/ml en las UD IG, 8I y 8H. *S. aureus* en 8H, Enterococos en 1G y 8I, Pseudomonas en UD 8H y negativo para Salmonella. Después de la intervención con Peróxido de Hidrógeno al 3%, los resultados son negativos.

Conclusiones: Entre los microbios patógenos detectados en UDLW, fueron: Coliformes, *S. aureus*, Enterococos y Pseudomonas. Indeseables por ser un riesgo de infectocontagiosidad. Encontrando al Peróxido de Hidrógeno con mayor poder desinfectante sobre los microorganismos tanto G (+) y G (-).

Palabras Clave: Biopelícula, líneas de agua de unidades dentales, Cloro, Peróxido de Hidrógeno.

ABSTRACT

Background: In dental offices, the water lines of dental units (DUWL) often have bacterial bacteria greater than what is accepted by the American Dental Association (ADA) that is less than 200 UFC/mL. These microorganisms (predominantly bacteria), form colonies, proliferate, even communities with the ability to adhere to solid surfaces and form biofilm.

Objective: To determine what is the most effective disinfectant between 4% sodium hypochlorite and 3% Hydrogen Peroxide to reduce biofilm contamination in the dental unit's irrigation system.

Methods: Design of an experimental study, treatment and control before and after the sampling. 16 dental units were evaluated in 5 clinics, of the Faculty of Dentistry, Tijuana. With sampling control, in participating patients, 48 hrs. before adding the disinfectant, at the end of this time, 4% sodium hypochlorite is added to the reservoir and processed to take the second sample. After three months, the control sample will be taken prior to the concentration of 3% hydrogen peroxide, leaving to act for a period of 48-60 hrs. To subsequently proceed to the sampling.

Results: CFU / mL were developed in all Dental Units (UD), except clinical 8I. Coliforms were detected in 1G, 1I and 6I, also *S. aureus* in clinics E, F / J and H, as well as Enterococci in all the UD's, except in 1E. Pseudomonas development was found in 1E, 3E, 4E, 7H and 8H. Clinic E was the only one with yeast development. After the intervention with 4% sodium hypochlorite, yeasts were eliminated in clinic E and UFC/mL were no longer detected in clinic G, decrease was also observed in 1I

and elimination in 6I, with increase in 8I. And without detectable development of Coliforms, presence of *S. aureus* and Enterococci was detected in 8I, clinic E, clinic F-J. No detectable development in Salmonella and Pseudomonas. Likewise, before the intervention with Hydrogen Peroxide, development of UFC/mL was detected in the UD 1G, 8I and 8H. *S. aureus* in 8H, Enterococci in 1G and 8I, Pseudomonas in UD 8H and negative for Salmonella. After the intervention with 3% Hydrogen Peroxide, the results are negative.

Conclusions: Among the pathogenic microbes detected in UDLW, were: Coliformes, *S. aureus*, Enterococci and Pseudomonas. Undesirable because it is a risk of infectiousness. Finding Hydrogen Peroxide with greater disinfectant power on microorganisms both G (+) and G (-).

Keywords: Biofilm, water lines of dental units, Chlorine, Hydrogen Peroxide.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÍNDICE.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	viii
I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
III. JUSTIFICACION.....	36
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	38
V. OBJETIVO.....	39
OBJETIVO GENERAL.....	39
HIPÓTESIS.....	40
HIPÓTESIS	
NULA.....	40
HIPÓTESIS	
ALTERNA.....	40
VI. METODOLOGIA.....	40

DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	40
A) Tipo de estudio.....	40
B) Espacio-Temporal.....	40
C) Criterios de Inclusión y Exclusión.....	41
D) Variables.....	41
Variables independientes.....	41
Variables dependientes.....	41
E) Tamaño de muestra.....	41
F) Análisis Descriptivo.....	42
G) Material.....	42
PROCEDIMIENTO.....	44
A) Tratamiento general de la muestra.....	44
B) Muestreo.....	45
C) Análisis microbiológicos de las muestras.....	46
D) Obtención de resultados.....	46
VII. RESULTADOS	46
LIMITACIONES.....	70
FORTALEZAS.....	70
VIII. Discusión.....	71

IX. CONCLUSION Y RECOMENDACIONES.....	72
X. REFERENCIAS.....	74
ANEXOS.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1	Resultados del muestreo control antes de la intervención con cloro al 4%.	47
2	Resultados del muestreo después de la intervención utilizando cloro al 4%.	48
3	Resultados del muestreo control antes de la intervención con peróxido de hidrógeno al 3 %.	52
4	Resultados del muestreo después de la intervención con peróxido de hidrógeno al 3 %.	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Desarrollo de la Biopelícula. Fuente: Svensater y Bergenholtz, (2004).	7
2	Diseño de una Unidad Dental, Unidad dental Toletek CX8000.	

	Promosa Dental-Distribuidora Deposito Dental.	
	Promosadental.tripod.com/toletekcx.html	19
3	Línea de aire y línea de agua en unidad dental. Dental EZ.	
	www.dentalez.com	20

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Descripción	Página
1	Cuenta total de Microorganismos en agua (antes de la intervención).	49
2	Cuenta total de Microorganismos en agua (después de la intervención).	49
3	Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, muestreo Control antes de la intervención con cloro al 4%.	50
4	Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, muestreo, después de la intervención con cloro al 4%.	51
5	Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, antes de la Intervención (control) con: Peróxido de Hidrógeno 3%.	54
6	Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, después de la intervención con Peróxido de Hidrógeno.	54
7	Comparación de carga microbiana antes y después del uso de Cloro en la Clínica G.	55

8	Clínica G, antes y después del uso de Peróxido de Hidrógeno	56
9	Clínica I, antes y después del uso Cloro.	56
10	Clínica I, antes y después del uso de Peróxido de hidrógeno en agua.	57
11	Comparación de carga microbiana antes y después del uso de Cloro.	58
12	Clínica FJ, antes y después del uso de cloro en agua.	59
13	Clínica H, antes y después del uso de cloro en agua.	60
14	Clínica H, antes y después del uso de Peróxido de Hidrógeno en agua.	60
15	Resultados con Peróxido de Hidrógeno de agua control antes de la intervención.	61
16	Gráfica No.16 Clínicas F-J y E Staphylococcus aureus	62
17	Los Patógenos en agua control de Cloro.	62
18	Los patógenos detectados en muestras de agua con Cloro.	63
19	Patógenos en agua control Cloro, con mayor desarrollo fueron detectados en la Clínica 6I con un 93%, las Clínicas con menor desarrollo fueron 8F-J y 8I.	64
20	Patógenos en agua: Cloro.	65
21	Patógenos en agua control de Peróxido de Hidrógeno.	66

I. INTRODUCCIÓN

Se considera biopelícula a las comunidades bacterianas productoras de mucosidad que pueden también albergar hongos, algas y protozoarios. Las biopelículas microbianas están ampliamente presentes en la naturaleza y pueden ser encontradas prácticamente en cualquier sitio donde haya humedad y una superficie sólida. Estos microorganismos colonizan y se reproducen en las superficies interiores de las líneas de agua, para crear acumulaciones microbianas adherentes (Organización para la seguridad y los procedimientos de Asepsia, 2001).

La presencia de las biopelículas es conocida desde 1963 por Blake G.C. con la incidencia y control de la infección bacteriana en unidades dentales y “escareadores ultrasónicos” (Ernest D. Peterson et, al., 1999).

El primer informe de microorganismos en el agua de las unidades dentales en los Estados Unidos apareció en 1971 y describió el agua de 10 unidades dentales en tres clínicas privadas de San Francisco, CA; que tenía una concentración promedio de 180,000 unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias por mililitro. (Chris H Miller 1996).

En el año de 1976, dos clínicas dentales del ejército estadounidense, reportaron tener entre 200,000 y 500,000 UFC/mL de bacterias en agua, en los instrumentos manuales, en la jeringa triple y en los conductos de limpieza de ultrasonido. (Ernest D. Peterson et, al., 1999).

En 1984 en Chicago, el agua de 2 unidades dentales de un estudio, produjeron conteos de hasta 54,200 UFC/mL de bacterias (Chris H Miller 1996).

Desde 1995 hubo un progreso significativo en el desarrollo de ingenierías confiables y económicas para controlar o prevenir la formación de biopelículas microbianas en las líneas de las unidades dentales (Organización para la seguridad y los procedimientos de Asepsia, 2001).

A la fecha, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en Inglés) ha autorizado diversos productos como estrategia de prevención para que el dentista provea agua de alta calidad para el tratamiento, con un impacto mínimo en el equipo y materiales dentales (Organización para la seguridad y los procedimientos de Asepsia, 2000).

Debido a la comprobación de la existencia de biopelículas por innumerables investigaciones y en la búsqueda de minimizar el impacto de su daño, se han desarrollado diversos estudios alternativos con sustancias químicas (Organización para la seguridad y los procedimientos de Asepsia, 2000).

II. ANTECEDENTES

Fue en el siglo XVII que se describieron los “animalcules”, por Leeuwenhoek, pero la teoría general donde predominan las biopelícula no fue promulgada sino hasta 1978. Esta teoría propone que la mayoría de las bacterias crece en una matriz-de biopelícula adjunta, adherente a superficies con todos los nutrientes de ecosistemas acuáticos y que estas células bacterianas difieren profundamente de las células plancton. La observación cuantitativa microscópica directa recobra técnicas que muestran inequívocamente que el 99.9% del crecimiento bacteriano de biopelícula es a lo ancho de una variedad de superficies (Donlan R. y Costerton W., 2002).

BIOPELICULA

Una definición de biopelícula fue desarrollada aproximadamente hace 25 años que dice así: “muy finas fibras de polímeros extracelulares” para bacterias ancladas a superficies. Se observa que comunidades de bacterias pegadas en sistemas acuáticos fueron encontrados para encajar en una matriz de “glucocalis” esta matriz se encontró formada en la naturaleza como polisacárido, y el material de la matriz fue mostrada mediante adhesión. El estado de biopelícula consiste en células independientes de micro colonias, todas fijas altamente hidratadas, predominantemente por una matriz de ex polímero aniónico (Donlan R. y Costerton W., 2002).

Una nueva definición de biopelícula microbiana deriva de la comunidad de organismos que vive fija a una estructura caracterizada por células que están irreversiblemente sujetas a un substrato o interferencia entre cada una, son fijadas a la matriz sustancias poliméricas extracelulares que pueden producir y exhibir un

fenotipo alterado con respecto al crecimiento en el gen de transcripción (Donlan R. y Costerton W., 2002).

Por medio de estudios de adhesión se observó que los microorganismos forman biopelícula, encontrando que diversas de ellas se han transferido miles de veces y pierden su habilidad para adherirse. Subsecuentemente los estudios con cepas bacterianas “silvestres” y completamente adherentes muestran estiramiento del biopelícula en superficies suaves colonizándolas fácilmente así mismo las superficies ásperas, mostrando características físicas diferentes y una matriz de exopolisacáridos que ha sido secretados por las células que se adhieren, así la estructura resultante es viscosa, elástica y se comporta como una goma. Cuando las biopelícula se forman en desarrollo de corte-bajo, ellos tienen un estiramiento leve y fuerte y que se rompe fácilmente, pero las biopelícula forman un gran fragmento que es remarcablemente fuerte y con un mecanismo de resistencia para su rompimiento (Donlan R. y Costerton W., 2002).

Cualquier superficie sólida que se encuentra inmersa en un medio acuático, permite que las macromoléculas y moléculas de bajo peso molecular, localizadas en el agua empiecen a adherirse a la superficie hasta llegar a formar condiciones aptas para formar la biopelícula. Estas condiciones alteran las características de la superficie, las cuales aumentan la eficiencia de la adhesión bacteriana. El proceso fundamental que lleva a la formación de la biopelícula resulta por adhesión bacteriana que puede ser pasiva o activa. Algunos microorganismos pueden poseer estructuras necesarias para su unión, por ejemplo sustancias de polímeros o fimbrias, que lleva a una unión pasiva. Otras bacterias requieren de una expresión prolongada al medio ambiente para unirse firmemente a la superficie. Este proceso es independiente del tiempo,

este tipo de adhesión fue denominada “activa” La formación de la biopelícula comienza a través de una asociación reversible entre microorganismo y superficie por medio de una unión fisiológica no definida todavía (Castillo R. Claudia, 2003).

La adhesión irreversible y la colonización son llevadas a cabo por las secreciones producidas por los mismos microorganismos y la subsecuentemente multiplicación bacteriana. Generalmente, los organismos se unen a la superficie produciendo un complejo extracelular de polisacáridos que es desarrollado por los mismos microorganismos, que da forma a una matriz de consistencia muy parecida a un gel y de consistencia pegajosa. Esta substancia los ayuda a mantenerse unidas. Como las micro colonias y la matriz de polisacárido está ampliamente distribuido, estas se colisionan con colonias vecinas, formando una película conocido como biopelícula. La producción de la biopelícula recién formada, colonizado, se debe a la división celular dentro de la matriz extracelular formada de polisacáridos y las inclusiones físicas de otras bacterias, hongos y agentes parásitos que se encuentran flotando lentamente en el agua que rodea la biopelícula (Castillo R. Claudia, 2003).

La biopelícula usualmente se desarrolla en respuesta adversa a las condiciones del medio ambiente. Su desarrollo representa una estrategia universal utilizada por los microorganismos para aumentar la probabilidad de supervivencia. En comparación con el plancton que son microorganismos libres que flotan en un medio acuoso, la biopelícula es una comunidad de microorganismos y el éxito de su supervivencia se debe a:

-Retención: Los organismos que sirven como componentes de la biopelícula son retenidos en la superficie en un ecosistema cooperativo.

-Nutrición: Los organismos que sirven como componentes de la biopelícula tienen ventajas nutricionales, como nutrientes orgánicos e inorgánicos que se encuentran unidas a la matriz de la biopelícula.

-Resistencia: La formación de la biopelícula confiere a los microorganismos un grado de resistencia antimicrobiana, dando como resultado la protección proporcionada por la matriz extracelular de polisacáridos.

Utilizando la microscopía electrónica con escaneo focal se ha revelado que las biopelículas presentan una estructura uniforme, en forma de depósitos homogéneos y cúmulos viscosos celulares, además de ser comunidades complejas rodeadas de una matriz de polímeros que presentan canales abiertos para el movimiento de agua. Los microorganismos que forman una biopelícula son resistentes a los agentes antimicrobianos por medio de uno o más mecanismos. Estos agregados se han relacionado con diversas enfermedades en el humano, además de facilitar para colonizar una amplia variedad de aparatos médicos, especialmente los sistemas de agua de las unidades dentales. Actualmente se diseñan estrategias para prevenir la colonización en aparatos médicos, buscando minimizar que se depositen, por medio de la penetración de la matriz de la biopelícula y destruyendo la asociación celular. Las biopelículas involucran infecciones humanas como: Endocarditis de válvula nativa, en dispositivo intrauterino, en lentes de contacto, generando otitis media, prostatitis bacteriana crónica, fibrosis quística, enfermedades periodontales y de la generada en los sistemas de irrigación de las unidades dentales (Rivera T. José y Román M. Cristian, 2005).

1. FASES DE LA FORMACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA

Superficie condicionada: Las primeras sustancias asociadas con la superficie no son bacterias pero si rastros orgánicos. Casi inmediatamente después de que una superficie limpia entra en contacto con agua, una capa orgánica se deposita sobre la interface agua/sólido. La literatura reporta, que los rastros orgánicos forman una capa “condicionada” la cual neutraliza la excesiva carga superficial y la energía superficial libre lo cual puede evitar que la célula bacteriana se aproxime lo suficientemente cerca como para iniciar la adhesión. Sumado a esto, las moléculas orgánicas absorbidas frecuentemente sirven como fuente nutritiva para la bacteria. También se afirma que numerosos microorganismos en la fase planctónica son transportados a la superficie, pero son las propiedades de la película condicionada las que determinan cuales microorganismos adjuntar y por lo tanto influencia la composición microbiana de la película (Viviani M., 2008).

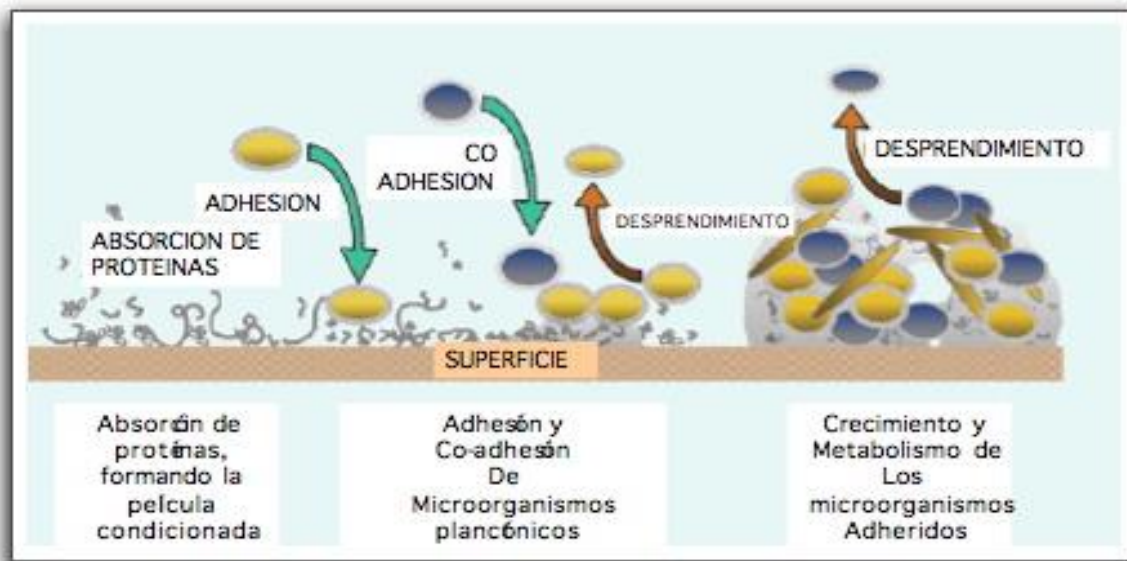


Figura 1. Desarrollo de la Biopelícula. Fuente: Svensater y Bergenholtz (2004).

Adhesión de la bacteria pionera: Algunas bacterias planctónicas se aproximarán a la superficie condicionada (Figura 1) y se embarcarán dentro de la capa divisoria, es la

zona con poco movimiento, una superficie condicionada, donde la velocidad de flujo cae a cero. Algunas de estas células se agolparan y se absorberán a la superficie por un corto tiempo, y luego abandonaran la superficie dejando de estar absorbidas. Esto se llama Absorción Reversible.

Esta adhesión inicial está basada en fuerzas físicas y de atracción electrostática, no por uniones químicas. Algunas de estas células absorbidas de manera reversible, comenzaran a prepararse para una larga permanencia formando estructuras, las cuales pueden en forma permanente adherir la célula a la superficie. Estas células llegan a ser irreversiblemente absorbidas. *Glicocaliz o formación de barro.*

Las bacterias de la biopelícula excretan sustancias poliméricas extracelulares, o polímeros pegajosos, los cuales asirán a la biopelícula junto con el cemento a la superficie condicionada. Sumado a esto, estos polímeros entrapan escasas sustancias nutritivas y protegen a la bacteria de los agentes antimicrobianos. Simultáneamente se acumulan nutrientes, la célula pionera comienza a reproducirse. Las células hijas luego producen su propio glicocaliz, incrementando significativamente el volumen de cambio de iones de la superficie. Pronto se establece una colonia prospera de bacterias. Se dice que una biopelícula madura, en gran parte de volumen que es ocupado por una matriz organizada de glicocaliz sin apretamientos (75%-95%) más que por células bacterianas (5%-25%). Porque la matriz de glicocaliz retiene agua, generándose una superficie cubierta de biopelícula es gelatinosa y deslizante.

La biopelícula está constituida por microbios y polímeros extracelulares. *Colonizadores secundarios:* Así como atrapa nutrientes, el glicocaliz atrapa otros tipos de células microbianas a través de refrenamiento físico e interacción electrostática. Así, estos colonizadores secundarios producen desechos propios y otras células los usaran. *La biopelícula en completo funcionamiento:* La biopelícula ya maduró, funcionando completamente, es como un tejido vivo sobre la superficie condicionada. Es un complejo, una comunidad metabólicamente cooperativa construida por diferentes especies, cada una viviendo en un "micro lugar personalizado". Puede extenderse por sus propias expensas, ordinariamente por división celular. Así como la biopelícula crece a un espesor que le permite extenderse a través de la capa divisoria

en el interior de zonas de flujo de velocidad significativa y mayor turbulencia, algunas células serán abandonadas (Viviani M., 2008).

Otros autores, Scheie A., Svensater G. y Bergenholtz G. citados por Gongalves J. (2007) afirman que la formación de la biopelícula ocurre en seis fases:

1.- Adhesión inicial del microorganismo a la superficie: hay un prerequisite que es la presencia de microorganismos planctónicos.

2.- Colonización: La bacteria comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión formando una micro colonia.

3.- Co-Adhesión o co-agregación es el reconocimiento entre células, donde los organismos en la biopelícula pueden reconocer y adherirse a bacterias genéticamente distintas a través de propiedad adhesiva.

4.- Crecimiento.

5.- Maduración.

6.- Desprendimiento de algunos microorganismos de la matriz de la biopelícula para poder colonizar nuevas superficies.

Durante el transcurso de cada una de estas fases, los microorganismos presentan una expresión de genes bien regulada. En la fase de adhesión se va a regular la expresión genética a través de sistemas de transducción por señales permitiendo la inducción o inhibición de genes. También se dice que entre estos sistemas se encuentran los sistemas de dos componentes y los sistemas que responden a las señales en función de la densidad celular. Todos estos sistemas actúan en la regulación de la virulencia, así como de la formación de la biopelícula, sirviendo de

conexión entre ambos procesos. La proximidad de bacterias individuales en las biopelículas también incrementa la oportunidad para la transferencia genética, haciéndole posible convertirse a un organismo previamente avirulento en un patógeno altamente virulento o una bacteria que es susceptible a los antimicrobianos en una resistente. Este potencial para la transferencia genética dentro de las biopelículas es particularmente significativo en el caso de *Enterococcus faecalis* debido a que un número de factores de virulencia del *E. faecalis* son codificados en plásmidos transmisibles. Estos incluyen, colagenasa, gelatinasa y adhesinas, todas con el potencial de contribuir a la supervivencia y colonización del conducto radicular. (Viviani M., 2008).

2. ESTRUCTURA

La arquitectura de la biopelícula es heterogénea tanto en espacio como en tiempo, constantemente es cambiante debido a los procesos externos e internos y estando influenciada por la interacción con partículas del ambiente donde se desarrolle por ejemplo como ocurre en el cuerpo humano, donde los eritrocitos y la fibrina se pueden acumular en el interior de las biopelículas (Viviani M., 2008).

En el pasado, los microbiólogos asumieron que las biopelícula estaban integrados por grupos de bacterias desordenados, no localizados en una particular estructura o modelo. Nuevas técnicas el estudio mediante la magnificación óptica de la biopelícula, sin destruir estructuras tipo gel, les han permitido a los investigadores descubrir la compleja estructura de la biopelícula como si estuvieran viendo una ciudad desde un satélite. Esta estructura se define así: “en la mayoría de los casos, la base de las biopelícula es un lecho de barro denso, opaco de 5 a 10 micrómetros de grosor (197-394 micro pulgadas). Esta es una mezcla pegajosa de polisacáridos,

otras sustancias poliméricas y agua, todos ellos producidos por las bacterias. 100 a 200 micrómetros de altura hacia arriba, son colonias de bacterias formando conos (3940-7840 micro pulgadas). Tiene consistencia variable y más acuosa, con una red de canales a través de los cuales viajan el agua, desechos bacterianos, nutrientes, enzimas, metabolitos y oxígeno (Viviani M. 2008). Aunque la composición de la biopelícula es variable en función del sistema en estudio, el componente mayoritario es el agua que puede representar hasta un 97% del contenido total. Además de agua y de las células bacterianas, la matriz de la biopelícula es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos.

La biopelícula está compuesta por partículas minerales, una variedad de microorganismos junto con partículas. El Glicocaliz en el cual la bacteria vive, las protege de los efectos de los antibióticos y explica la persistencia de la infección aun ante una vigorosa terapia con sustancias químicas. Como consecuencia de su situación topográfica y de su composición química, el Glicocaliz desempeña, de modo general, un papel expresivo en la nutrición bacteriana, en la defensa de la célula a la agresión de agentes físicos y químicos, en el estímulo de respuesta inmune y en los mecanismos de patogenicidad. Las biopelículas, conocidas también como placa, son complejas comunidades de bacterias embebidas en una matriz de polisacáridos. Suspendidas, bacterias planctónicas que se marchan o se unen a biopelícula rodeando a biopelícula. Las condiciones de crecimiento varían entre el medioambiente de la biopelícula y de los organismos planctónicos. Por esta razón las proteínas expresadas por sus colegas planctónicas, y ambas, las bacterias de la biopelícula y las bacterias planctónicas pueden diferir de aquellas bacterias mantenidas en laboratorio. Las biopelículas son estructuras altamente organizadas

que consisten en grupos de bacterias con forma de hongo, unidas por una matriz de carbohidratos y rodeada por canales de agua que transportan nutrientes y eliminan desechos. Las bacterias integradas en la biopelícula son protegidas y frecuentemente mucho más difíciles de combatir que sus colegas planctónicas (Viviani M., 2008).

Las bacterias de las biopelícula están prevalentemente en superficies húmedas por naturaleza y pueden causar el desarrollo de problemas de salud. Porque muchas biopelículas son suficientemente pequeñas para ser visibles a simple vista, estas comunidades de estos microorganismos fueron estudiadas primero por el desarrollo tardío de la ciencia en microbiología. (Costerton J. et al 1999).

Antón Van Leeuwenhoek rasco la placa de biopelícula de sus dientes y observo el “animalculi” con su microscopio primitivo, lo que era producido por una comunidad microbiana. De cualquier forma esto no fue útil hasta los años setenta cuando se empezó a apreciar las bacterias, en una forma de existir como biopelícula. La bacteria fija, constituyen el mayor componente en la biomasa en varios desarrollos bacterianos y este dato no fue útil sino hasta los años ochenta y noventa donde se inició la apreciación de que la bacteria se pegaba de forma organizada y elaboraba sus propios caminos. (Costerton J. et al 1999).

Los exopolisacáridos representan el componente fundamental de la matriz y son los producidos por las propias bacterias de la biopelícula.

Los exopolisacaridos participan en el desarrollo de la biopelícula, pues su intervención mantiene la integridad del todo. Pueden tener carga neutra o carga polianiónica, según el tipo de exopolisacárido, por lo que pueden interactuar con

distintos antimicrobianos, de forma que estos últimos quedan atrapados en la matriz sin capacidad para actuar sobre las bacterias.

Los propios exopolisacáridos producidos por unas bacterias pueden actuar como fuente de nutrientes para otras bacterias, de la misma forma, pueden atrapar otros nutrientes del medio y ofrecerlos a los distintos tipos bacterianos presentes en la biopelícula, lo cual supone una ventaja para el desarrollo bacteriano. Los exopolisacáridos actúan también retirando desechos del medio, lo que también favorece el desarrollo bacteriano (Viviani M., 2008).

La composición química y la estructura terciaria de los exopolisacáridos determinan la capacidad de adhesión de los mismos lo que a su vez favorece la adhesión de las bacterias a las superficies. Los exopolisacáridos participan en funciones de protección de las bacterias pues evitan su desecación. Además, sus cualidades pueden amortiguar la acción de distintos antimicrobianos. La pérdida o la alteración de un determinado polisacárido pueden alterar la biopelícula, o incluso puede producir la desaparición del mismo (Viviani M., 2008).

3. BIOPELICULA EN UNIDADES DENTALES.

La práctica de la odontología demanda riesgos importantes de exposición microbiana tanto para el paciente como para el cirujano dentista, esto a partir de la condición existente de la microflora bucal, a esto podemos incrementar los riesgos ante la proliferación microbiana, en los sistemas de irrigación de las unidades dentales.

La unidad dental se equipa con aditamentos especiales, con tubo de plástico que abastece a diferentes piezas de mano, como la jeringa triple, lámina ultrasónica y pieza de mano de alta velocidad. Las unidades se pueden suplir de agua purificada o

de reservorios generales o individuales a los cuales se debe agregar agua destilada o estéril. Sin embargo en el agua colectada de estos sistemas, los conteos de bacterias son elevados (Donlan R. y Costerton J. 2002).

Las bacterias unidas se agregan a las superficies en una matriz polimérica hidratada por su propia síntesis en forma de biopelícula. La formación de estas comunidades y la resistencia inherente para agentes antimicrobianos son la raíz de infecciones crónicas bacterianas y persistentes (Costerton J. et al 1999).

Se ha encontrado, en general que los sistemas de irrigación, fuentes de agua y los sistemas de llenado de agua (vasitos), tienen un elevado conteo bacteriano y que en las líneas de agua sin uso por periodos de 48 horas se identificaron conteos tan altos como 10,000,000 UFC/mL. Los organismos generalmente aislados de estas unidades incluyen *Pseudomonas spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Moraxela spp.*, *Achromobacter spp.*, *Methylobacterium spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Hyphomycetes (Cladosporium spp., Aspergillus spp. y Penicillium spp.)*, *Bacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *CoNS*, *Micrococcus spp.* y *Corynebacterium spp.*, *Legionella pneumophila* también ha sido aislada de estos sistemas.

La evidencia de las biopelícula en estos sistemas ha generado diversos estudios, inclusive escaneo por microscopía electrónica y la posibilidad de aislar colonias de los componentes de las unidades dentales. Se han observado bacterias fijadas en una aparente matriz de polisacáridos. También se han cultivado algunos organismos de ambas muestras de biopelícula en los tubos y de muestras de agua y de donde había un número similar de muestras. Además se han encontrado trofozoítos de amebas y en una muestra de biopelícula, nematodos por transmisión de microscopía electrónica (Rodney M. y Costerton J., 2002)

Dado que la existencia de la biopelícula requiere una condición acuosa en el ambiente, en las condiciones y equipo de trabajo dental, su presencia es inevitable (Castillo R., 2003).

Las biopelículas se pueden formar en todos los ambientes de fluidos no estériles; sin embargo, los ductos de agua de las unidades dentales proporcionan un ambiente ideal para dicha colonización, ya que estos tienen un diámetro pequeño (1/8 a 1/16 pulgadas) y una gran relación área-volumen, que en asociación a la baja presión de agua y poco fluido utilizado en procedimientos odontológicos, facilita la acumulación de bacterias. Sin embargo la permanencia del agua purificada en los reservorios por largos periodos aunado a la relación directa con los sistemas de compresión del aire indispensable para el correcto funcionamiento permite la proliferación bacteriana y la integración de la biopelícula.

Otros factores que pueden contribuir a estos niveles altos de colonización bacteriana incluyen el uso de calentadores de agua y filtros en las unidades dentales. Calentar el agua a un punto cercano al de la temperatura corporal facilita el crecimiento de bacterias; la utilización de filtros, con el objeto de remover partículas provenientes del agua pública no tienen ningún efecto sobre las bacterias y lo único que logra es disminuir el flujo del agua, facilitando la colonización (Donlan R. y Costerton J., 2002).

Entidades gubernamentales americanas como la Agencia de protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) han establecido un límite máximo de 500 UFC/mL, de bacterias acuáticas heterotróficas para el agua potable. Como el agua empleada en tratamientos odontológicos debe contener cuentas de colonias tan bajas como sea posible, las guías de calidad de: The American Dental Association (ADA) en lo que se refiere a los conductos de agua en las unidades de odontología, proponen una meta

de 200 UFC/mL, considerando que los niveles de contaminación en el agua para tratamiento dental pueden exceder 1,000,000,000 UFC/mL. Lo anterior está basado en las recomendaciones de calidad de agua en las unidades de diálisis renal (García N., 2007; Donlan R. y Costerton J., 2002).

Aunque no hay evidencia epidemiológica que documente un problema de salud pública, la presencia de patógenos en los reservorios de agua, los sistemas de irrigación de las unidades dentales y equipo de ultrasonido, que incluyen *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella* y otras especies, se considera de interés en este ámbito, por su posible poder de infectocontagiosidad (García N., 2007; Donlan R. y Costerton J., 2002).

Mientras que la *L. pneumophila* y otras especies de *Legionella* podrían estar presentes en el agua de algunas unidades dentales de los Estados Unidos, no existe la documentación que confirme que esta agua haya alguna vez causado la enfermedad de *legionelosis* en los pacientes o en los miembros del equipo de trabajo (Miller C. 1996). Las pruebas indirectas de que los miembros del equipo de trabajo en estos lugares podrían presentar exposición ocupacional ante *Legionella* provienen de dos estudios que demostraron índices más elevados de seroconversión con los anticuerpos ante la *Legionella* en el personal de estomatólogos que en aquellas personas que no lo son. Una de las investigaciones también mostró que los índices de seroconversión aumentaron según se incrementaron los años de experiencia del especialista (Miller C., 1996).

Un estudio en Arabia Saudita (AlSaif K., 2007), investigó la contaminación en los sistemas de irrigación de las unidades dentales. Donde la prevalencia de microorganismos encontrados fue del 84%, en las líneas de unidades dentales de las

piezas de mano y 64% en espray proveniente de la jeringa triple y 10% en las fuentes de agua para el llenado automático del vaso de las tapas de agua. Se concluyó que los microorganismos patógenos predominantes fueron Bacillus y Pseudomonas. (AlSaif K., 2007)

Las bacterias de biopelícula difieren en forma significativa de su fenotipo si se le compara con otro grupo de estructuras planctónicas y son mucho menos susceptibles a la terapéutica antimicrobiana (Viviani M., 2008). Existe la descripción potencial de los mecanismos de resistencia de la biopelícula a los agentes microbianos. Estos incluyen resistencia a la penetración del agente microbiano a través de la matriz de la biopelícula; bacteria que entra en un estado de latencia, estado protector debido a una disminución de las concentraciones de sustrato nutritivo o incremento de la inhibición por acumulación de productos de desecho; dan lugar a bacterias en un estado fenotípico único y altamente protegido similar a una espora. Los factores que contribuyen a la resistencia incluyen la impenetrable capa de polisacáridos sobre las bacterias de la biopelícula para sobrevivir sin dividirse. Sumado a esto, las condiciones físicas disponibles para apoyar el crecimiento bacteriano, tales como pH, concentración de sales, disponibilidad de nutrientes y suministro de oxígeno, varía en las distintas partes de la biopelícula (Viviani Ma., 2008).

Es motivo de interés la biopelícula encontrada en todas las superficies sólidas, de las unidades dentales con humedad, por su fácil proliferación y resistencia ante los productos químicos para erradicarla. La biopelícula está compuesta por diversas especies de bacterias, hongos, algas y protozoos, adheridos a las paredes de los ductos de agua, esta película forma una capa mucoide que aísla los microorganismos en un verdadero ecosistema (García N., 2007).

Los poros presentes en la biopelícula permite el paso de nutrientes a los microorganismos en dicha colonia, con lo cual se facilita la producción de polisacáridos que protegen a las células de cualquier agresión. Los microorganismos localizados en la parte más externa de la película, así como fragmentos de esta pueden ser arrastrados por el flujo de agua, contaminando los sistemas de irrigación en las unidades dentales. La biopelícula en las unidades dentales se forma en las paredes de los conductos plásticos que llevan agua hacia las piezas de mano, los escariadores sónicos y ultrasónicos y las jeringas usadas en el tratamiento de los pacientes. (García N., 2007).

La formación de biopelícula en unidades dentales, se basa en la adsorción de macromoléculas de la fase acuosa y la formación de una película acondicionadora, los microorganismos pueden adherirse y el reclutamiento de las células planctónicas de la fase fluida dan lugar a la formación y maduración de la biopelícula (Barbot V. et al., 2012).

4. UNIDADES DENTALES

Sistema de transporte de agua de las unidades dentales.

a) Estructura

La unidad dental es un elemento del equipo dental, donde se encuentran agrupados ordenadamente, una serie de dispositivos de uso diverso.



Figura 2. Diseño de una Unidad Dental, Unidad dental Toletek CX8000. Promosa Dental-Distribuidora y Depósito Dental. Promosadental.tripod.com/toletekcx.html

Básicamente, la unidad dental (Figura 2) es un cuerpo o masa en forma de pedestal, de altura y forma variable, firmemente apoyado al piso de la clínica, por cuyo interior se distribuyen diversas conexiones, controles y que de su parte externa, surgen prolongaciones destinadas a soportar algunos dispositivos.

Las unidades dentales poseen un soporte, que es una proyección del cuerpo de la unidad en el cual se acomoda un brazo siempre articulado, que, en su parte libre generalmente soporta una bandeja, así como aditamentos de los cuales constan de mangueras, las cuales llevan la salida de aire y agua para las conexiones de piezas de mano, pieza de alta velocidad y jeringa triple. Este soporte puede ser de

dimensiones reducidas a tener un tamaño, que permite acomodar en su interior tuberías destinadas para la conducción de aire, agua y algunos otros elementos.

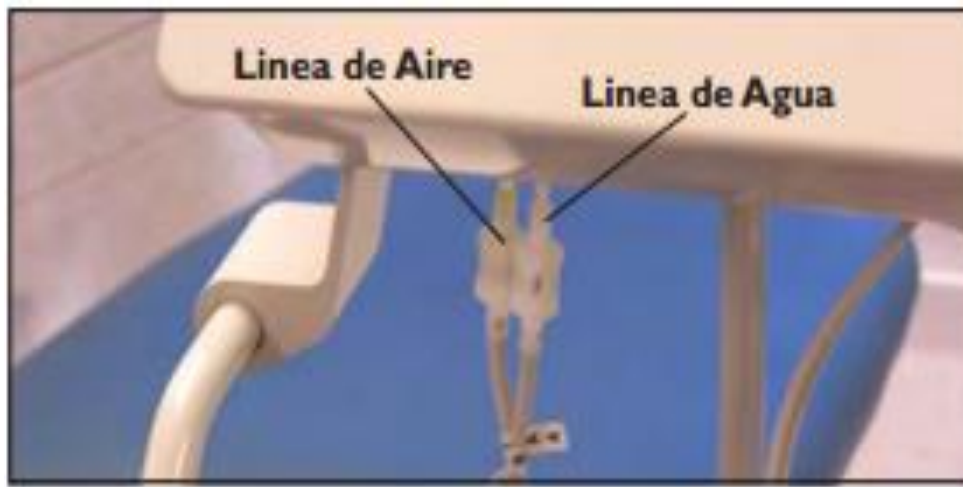


Figura.3 Línea de aire y línea de agua en unidad dental. Dental EZ. www.dentalez.com

En la parte posterior de la unidad, algunos equipos poseen una pequeña caja, que en el interior de ella contiene las conexiones de electricidad, aire, agua y drenajes.

- b) Proceso de formación de la Biopelícula en los sistemas de transporte de agua de las unidades dentales.

En las unidades dentales, el sistema interno de transporte de agua interno está conformado por mangueras (Figura 3). Las cuales son particularmente susceptibles por su íntima relación con el aire proveniente de los sistemas de aire comprimido, facilitando la formación de biopelícula. Estas condiciones ideales para la formación de la biopelícula son altamente dependientes del equipo de agua. Lo largo y estrecho de estas mangueras llevan a manejar bajos volúmenes de agua y a que el movimiento del agua sea lento. Estas condiciones son ideales para el substancial

estancamiento del agua dentro de dichas mangueras. Las características de este flujo son ideales para el crecimiento de microorganismos y la futura colonización de estas.

En muchos sentidos, las unidades dentales son incubadoras ideales de microorganismos debido a que:

Las mangueras de las unidades dentales son fabricadas con plástico. Las bacterias son heterotróficas. Esto significa que las bacterias necesitan del carbón como fuente para su metabolismo. Las mangueras de plástico que suplen el agua de las unidades dentales, donde tiene lugar la formación del biopelícula, este se origina de un pequeño número de bacterias presentes en el agua de los reservorios de las unidades dentales. Estas bacterias se unen al lumen de las paredes de las mangueras de las unidades dentales por periodos de semanas o meses, lo cual se vuelve en una densa acumulación. Una vez formadas las bacterianas que se encuentran constantemente en reclutamiento son liberadas de la biopelícula hacia el agua circulante o estancada. Esto da como resultado la contaminación del agua, especialmente cuando la unidad no ha sido operada y el agua no está fluyendo.

El agua de los sistemas internos de las unidades dentales esta usualmente estática ya que las unidades dentales no se encuentran en funcionamiento todo el tiempo, en promedio solo operan 8 horas por día, con un flujo lento que varía de 5 a 50 ml por minuto. Esta razón de flujo lento con la presencia de turbulencia favorece el estancamiento de agua y por lo tanto aumenta la replicación bacteriana.

El flujo laminar: cuando el agua este fluyendo, esta lo hace más rápido en el centro de la tubería, todo lo contrario el flujo lento se da en los bordes. Debido a que la

superficie está en contacto con el agua, la razón de flujo decrece. El flujo lento y los frecuentes periodos de inactividad proveen un medio ambiente favorable para la formación de la biopelícula. El flujo en el centro de cualquier lumen viaja más rápido y este se mueve hacia fuera y del centro hacia las paredes del tubo, y la razón de este flujo se va disminuyendo por la fricción. Aparte el agua que se localiza en las paredes del tubo está virtualmente estancada, permitiendo que las bacterias se adhieran y colonicen a la superficie interna (Castillo C., 2003).

Diámetro de la superficie: La biopelícula puede formarse en cualquier superficie que se encuentre en contacto en un medio ambiente con agua, el sistema de transporte interno de las unidades dentales proveen este medio ideal, estos tubos poseen un diámetro que varía de un 1/8 a 1/16 de pulgada, el cual proveen una alta superficie de área por volumen. La baja presión de agua, el flujo lento del agua y los frecuentes periodos de estancamiento también contribuyen a que cualquier bacteria introducida por el suplemento del agua que se acumule dentro de los tubos. El resultado es que el agua proporcionada por las unidades dentales está más contaminada que el agua acumulada dentro de los tubos. El resultado es que el agua proporcionada por las unidades dentales está más contaminada que el agua municipal. Debido a que el diámetro de las tuberías decrece, el área de su superficie para cualquier volumen incrementa. Este radio algebraico parece ser factor principal. El sistema de tuberías de las unidades dentales es tan solo 1.5 mm de diámetro (medida interna de un tubo de un 1/16 de pulgada). Esto garantiza que cualquier bacteria en el agua tiene la oportunidad de estar en contacto con la superficie, y luego unirse a ella para comenzar a crecer (Castillo C., 2003).

Algunas unidades dentales poseen calentadores de agua, que mantiene el agua a una temperatura corporal (24 grados) para la comodidad del paciente. Estos calentadores de agua exacerbaban la proliferación bacteriana y la colonización bacteriana de las unidades dentales. La temperatura del agua cerca de la temperatura corporal puede aumentar el número de microorganismos y que estos se adapten y tengan característica a aquellos microorganismos que se transmitan por medio de contacto sanguíneo. El incremento de temperatura del agua, facilita la adaptación de bacterias que viven a temperatura del cuerpo. Estos patógenos con potencial de infección a humanos son favorecidos para crecer por un proceso de selección. (Castillo C., 2003).

5. MICROORGANISMOS EN BIOFILMS EN UNIDADES DENTALES

Levaduras, hongos y amebas pueden estar también presentes en las líneas de unidades dentales en el agua. Los patógenos humanos detectados en las líneas de agua de las unidades dentales incluyen *Pseudomonas spp.*, *Legionella spp.* y *Mycobacterium no-tuberculosa spp.* (Coleman D. et al, 2008).

La *Pseudomonas aeruginosa* y la *P.cepacia* son habitantes comunes de suelo y de las aguas naturales. Los microorganismos pueden sobrevivir e incluso, multiplicarse en el agua de muy bajo contenido de nutrientes, tales como el agua destilada. De esta forma, no es inusual encontrar especies de *Pseudomonas* en casi todos los abastecimientos de agua doméstica, los tanques de almacenamiento o los conductos de drenaje. La *P.cepacia* ha sido un importante patógeno respiratorio en los pacientes con fibrosis quística. La *P. aeruginosa* generalmente es oportunista en la ocurrencia de infecciones en las vías urinarias, las infecciones de heridas, la neumonía y la septicemia en los pacientes quemados y junto con la *P. cepacia* por lo general, tiene

un grado más elevado de resistencia que muchas bacterias ante los desinfectantes y los antibióticos (Miller C., 1996).

Miller, C. (1996) reportó que en un estudio en Gran Bretaña identificaron la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en el agua de las unidades dentales, y es hasta la fecha único informe científico que ha confirmado directamente la presencia de un microorganismo en el agua de las unidades dentales identificándola como la causa de las infecciones orales en 2 pacientes dentales comprometidos medicamente (Miller C., 1996).

La *Legionella pneumophila* y otras especies, son bacterias gramnegativo que naturalmente están presentes en el agua y podrían adquirir alguna protección en contra del cloro en el agua domestica debido a que pueden existir dentro de determinadas amebas que viven libremente y que también están presentes (Miller C., 1996). La *L. pneumophila* es el agente que provoca un tipo de neumonía denominada “enfermedad del legionario” la cual se reconoció por primera vez en 1976 cuando 182 participantes en la Convención de la Legión Americana en Filadelfia se infectaron con la bacteria, ya que se encontraba en el agua del Hotel donde se hospedaron los asistentes (Miller C., 1996). Por lo general, la bacteria se trasmite mediante la inhalación de aerosoles o posiblemente la aspiración de agua contaminada. Los ejemplos específicos acerca de cómo la *L. pneumophila* podría haberse transmitido en los seres humanos a partir de varias fuentes de agua implican a las torres de enfriamiento, los aparatos para el intercambio de calor; los humidificadores, las duchas; las llaves de agua caliente y el agua potable que se utiliza para limpiar el equipamiento médico. Sin embargo, no se ha detectado la ruta de propagación para todos los casos detectados (Miller C., 1996). La *L. pneumophila* también podría

provocar una infección no pulmonar llamada fiebre Pontiac y en raras ocasiones las infecciones de heridas le siguen a la irrigación con el agua contaminada por *Legionella*. Mientras que la *L. pneumophila* es el principal patógeno en este género, existen otras 30 especies de *Legionella* que podrían provocar entre el 20 y el 30 de todas las infecciones de esta (Miller C., 1996).

La *L. pneumophila* u otras especies de *Legionella* han sido detectadas en el agua de las unidades dentales. La *L. pneumophila* se descubrió en el agua de alrededor de 42 unidades en 35 lugares de práctica en Austria, en 3 de cada 5 unidades en una clínica dental hospitalaria de Londres, en el 4% de las 194 unidades dentales en niveles por encima de los 100 UFC/mL de un hospital Londinense para la enseñanza, y en varias unidades dentales en la Universidad de Dresden, Alemania. En los Estados Unidos, la *L. pneumophila* ha sido detectada en el agua de las unidades en una clínica dental escolar en Ohio y en el 8% de las muestras de agua tomadas de 28 instalaciones dentales en California, Massachusetts, Michigan, Minnesota, Oregón y Washington. En la última investigación, nunca se detectó la *L. pneumophila* en concentraciones por encima de los 1 000 UFC/mL, pero otras especies de *Legionella* se descubrieron en el 68% de las muestras de agua probadas y en niveles de al menos 10 000 UFC/mL en el 19% de las muestras (Miller C., 1996).

Los aerosoles generados durante procedimientos odontológicos que involucran el uso de pieza de mano o jeringa triple son una fuente de microorganismos que proliferan dentro de biopelícula en las líneas de agua de las unidades dentales (DUWL). Donde existe la presencia de especies de *Legionella* en aerosoles, los cuales generan riesgos potenciales para la salud de los pacientes y el personal odontológico. *Legionella* se encuentra comúnmente de forma natural y artificial en reservorios de

agua, pero con menos frecuencia en suelo y materia orgánica. Prolifera favorablemente en agua a temperatura de 25 a 42 °C. Puede ser fuente de infección, agua de fontanería, sistemas de aire acondicionado, aparatos de hidratación de aire, regaderas, fuentes, spas equipados con dispositivos giratorios y otros dispositivos mecánicos que producen niebla de agua. La infección se produce por la inhalación de gotas cargadas de agua en aerosol o polvo. El tiempo de incubación es de 2 a 10 días. Las *Legionellaceae* comprenden más de 45 especies, pero *Legionella pneumophila* se aísla en un 90% de los cultivos de casos clínicos probados con *Legionella pneumophila* serogrupo 1, siendo la causa más común de enfermedad de los legionarios (Szymanska J., 2004).

La neumonía por legionelosis ocurre con mayor frecuencia en pacientes con inmunidad disminuida, enfermedades crónico respiratorias, insuficiencia renal, edad avanzada, así como en personas tratadas con corticoides, fumadores de tabaco, y gente que abusa del alcohol. El grupo de mayor riesgo incluye pacientes que toman fármacos inmunosupresores o personas con inmunodeficiencia. Las personas expuestas ocupacionalmente a aerosoles de agua (trabajadores en torres de enfriamiento) y jardineros entre otros (Szymanska J., 2004).

Una mujer de 82 años, en el 2011, fue ingresada en la unidad de cuidados intensivos con fiebre y dificultad respiratoria. Ella estaba consciente y sensible. La radiografía de tórax mostro varias áreas de consolidación pulmonar. No tenía ninguna enfermedad subyacente. La enfermedad de los legionarios fue rápidamente diagnosticada por la prueba de antígeno urinario de *Legionella pneumophila*; Se tomó un aspirado bronquial para el examen microbiológico. La paciente fue atendida de inmediato con antibiótico. Sin embargo, la paciente desarrollo choque séptico

fulminante e irreversible y murió 2 días después, La paciente no estuvo expuesta aparentemente a ningún contacto con *Legionella*. Pero si se presentó a dos citas en su clínica dental, por tal motivo se tomaron muestras del grifo y pieza de mano de alta velocidad de agua y en casa de la paciente de grifo y ducha, esto para investigar posible contaminación por *L pneumophila*. Se encontraron las muestras de su casa negativas. Pero fueron positivas para *L. pneumophila* la muestra del grifo y de la de alta velocidad de la línea de agua de la clínica dental (Ricci Ma. et al. 2012).

Los sistemas de agua de la unidad dental son sitios propicios para el establecimiento de biopelículas colonizadas por microorganismos que se encuentran comúnmente en el agua potable, incluyendo especies de *Legionella*. La *Legionella* es una bacteria perteneciente a la familia Legionellaceae, que incluye 42 especies. *L pneumophila* es la más importante de ellas; este microorganismo tolera el cloro y por ello sobrevive a los procedimientos de tratamiento del agua.

Se determinó por primera vez la presencia de *Legionella pneumophila*, bacteria causante de enfermedades pulmonares graves, en sistemas de agua de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), apoyándose en un método observacional transversal, colectando 120 muestras de agua de la Facultad de Odontología de la UAEM, que incluyeron líneas de agua, de unidades dentales, filtros y llaves de abastecimiento público. El método estándar para la detección adecuada se basa en el cultivo de los especímenes en agar extracto de levadura y carbón amortiguado (pH 6.9) enriquecido con L-cisteína, hierro y acetoglutarato (BCYE alfa) por un periodo de 3 a 7 días. Y confirmación de agar sangre, se contaron UFC/mL y se aplicó una prueba de ANOVA y paquete de SPSS

21 para el análisis estadístico. El 100% de las muestras tuvo crecimiento en agar BCYE y ausencia en agar sangre. Hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en todas las evaluaciones. Se propuso un monitoreo semestral para realizar correcciones oportunas que eviten el aumento de la bacteria y la consecuente producción de enfermedad (Manzanares G. et al., 2014).

6. DESINFECTANTES USADOS EN UNIDADES DENTALES

PEROXIDO DE HIDROGENO

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o agua oxigenada, es un compuesto químico con características de un líquido altamente polar, fuertemente enlazado con el hidrógeno, por lo general se presenta como un líquido viscoso. Puede ser un desinfectante efectivo, ya que su mecanismo de acción se debe a la efervescencia que produce, liberando el oxígeno que destruye los microorganismos anaerobios y el burbujeo de la solución cuando entra en contacto con los tejidos y ciertas sustancias químicas, expulsa restos tisulares fuera del conducto.

Jackson B.L. et al., (2001), realizaron un estudio en 23 unidades dentales y evaluaron el peróxido de hidrógeno desinfectando las líneas de agua de las unidades dentales. Se sabe que el peróxido de hidrogeno al 0.5% reduce la cantidad de bacterias en las líneas de unidades dentales (Linger J. et al., 2001), el estudio se desarrolló en contenedores seguros para sistemas de agua donde la selección fue al azar. Tres de las unidades dentales y las tapas de los contenedores de agua sirven de controles. Se tomaron 24 muestras de las líneas de agua, una vez a la semana por cinco

semanas. Estas fueron diluidas de manera seriada y sembrado en cajas de petri por duplicado en R2A agar Difco, y se incubaron a 37°C por 7 días (Linger J. et al., 2001).

En este estudio concluyen que la tapa del contenedor de agua control, tuvo una media de conteo de formación de 0 colonias de unidades por mililitro o UFC/mL, los tres controles de Dental Units Water Lines (DUWL) tuvieron un conteo medio de 8,440 UFC/mL y 20 DUWLs tratados en un conteo de 9,760 UFC/mL. A la semana 1, 19 (95 %) de los 20 DUWLs tratados tuvieron un conteo menor de 200 UFC/mL, y a las 4 semanas el conteo medio de todos los DUWLs tratados fueron 0 UFC/mL. La medición a las 5 semanas mostraron que la reducción fue por debajo de 200 UFC/mL se mantuvo. Las muestras del tubo de DUWL se procesaron por escaneo de micrografía electrónica y revelaron un similar patrón de resultados de biopelícula. El peróxido de hidrógeno a 0.5% para líneas de agua de unidades dentales, mostro desinfección efectiva mejorando la calidad del agua usada para procedimientos intraorales (Linger J. et al., 2001).

En la India se realizó un estudio para evaluar y comparar la eficacia de varios desinfectantes que son fácilmente disponibles y medibles en la reducción del recuento de colonias microbianas en el agua derivada de DUWLs a través de la pieza de mano de alta velocidad y jeringa triple. Fueron seleccionadas cinco unidades dentales al azar y se recogieron muestras antes y después de la intervención con cinco desinfectantes (0.02% de H₂O₂ continuo, 0.02% de H₂O₂ continuamente con tratamiento de choque con 0.25% de peróxido de hidrógeno semanal, 0.12% de Clorohexidina, 12% Listerine original durante la noche. Perborato sódico al 2% y EDTA al 2% durante 5 minutos por la mañana) utilizando diferentes métodos de

desinfección durante 4 semanas. Las muestras se cultivaron en agar 2A (R2A) para el conteo microbiano.

Los resultados del estudio se basaron en el número de unidades formadoras de colonias por mililitro. Se mostró que todas las líneas de agua de la unidad dental estaban contaminadas con microbios antes de cualquier intervención. Un día después de del régimen de desinfección, los conteos se redujeron significativamente y mostraron una reducción progresiva en las siguientes semanas.

Los objetivos fijados por ADA & CDC se lograron finalmente a las cuatro semanas, cuando todos los desinfectantes fueron igualmente eficaces para reducir el recuento de colonias microbianas de los DUWL, independientemente de su concentración y método de desinfección (Pawar A. et al., 2016).

Un estudio realizado en la línea de agua de una unidad dental (DUWL) equipada con un dispositivo diseñado para descargar automática y continuamente una solución bacteriostática de peróxido de hidrógeno y con sistema de desinfección continuo. En la primer parte de la prueba se obtuvo gran cantidad de microorganismos (bacterias y hongos), se trabajó con una concentración de peróxido de hidrógeno que oscilaba entre 100 y 800 ppm. Se encontraron bacterias *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus spp.* En DUWL como *Staphylococcus spp.*, *E. coli* y algunos patógenos periodontales, mostrando una concentración inhibitoria mínima de 100 a 300 ppm de peróxido. La eficacia del peróxido de hidrógeno depende de muchos factores: concentración, pH, temperatura, tiempo de reacción, uso en combinación con agentes químicos, etc. En este trabajo se evaluó la actividad de tres diferentes procedimientos: a) Diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno se utilizaron in vitro con diferentes microorganismos (adición continua de peróxido de hidrógeno a 300 ppm). b) Con el

uso de un simulador en un modelo contaminado de DUWL, con el uso de una mezcla de cuatro microorganismos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, c) Monitoreo de masa de biopelícula en DUWL, con el uso de método molecular.

El estudio demostró la utilidad del peróxido de hidrógeno, debido a que en su mecanismo de acción, libera oxígeno que destruye los microorganismos anaerobios, desinfectando así y generando la erradicación de biopelícula en las líneas de unidades de agua y en el control del conteo bacteriano de varias especies bacterianas (Orru G. et. al., 2010).

Zanetti F. et al., 2003. Realizaron un estudio de descontaminación de los sistemas de las unidades dentales con peróxido de hidrógeno. Buscando alternativas para disminuir el riesgo de transmisión de patógenos microbiológicos a pacientes a través del agua de unidades dentales se utilizó peróxido de hidrógeno al 3% diluido 1:4 en agua destilada en contacto por 15 minutos de una unidad usada diariamente para desinfectar las unidades de agua, la unidad piloto fue previamente contaminada con *Pseudomonas aeruginosa* o *Staphylococcus aureus*. Propuestos para este tipo de estudio en la ISO 7218 y EN 554 Organización Internacional para Estandarización 1996: *Pseudomonas aeruginosa* (de fuente de desarrollo en agua) y *Staphylococcus aureus* (con fuente humana: de infecciones y piel).

Se realizaron un total de 24 ciclos (264 muestras): 12 ciclos con *Pseudomonas aeruginosa* (6 con desinfección y 6 sin desinfección) y 12 con *Staphylococcus aureus* (6 con desinfectante y 6 sin desinfectante).

El comportamiento de las bacterias de prueba se observó que difieren en el tiempo. El *Estafilococo aureus* fue lentamente disminuido, después de lo cual los niveles se mantuvieron estables. El comportamiento de *Pseudomonas aeruginosa* fue más rápido, El tratamiento de DUWLs con peróxido de hidrógeno fue viable para mantener bajo control el número de bacterias, en un tratamiento repetido diariamente y a largo plazo (Zanetti F. et al., 2003).

DIOXIDO DE CLORO

El dióxido de cloro ClO_2 , es un compuesto muy soluble en agua. Se utiliza como control de biopelículas en sistemas de distribución de agua, por su importante acción, al actuar a nivel de la membrana celular del microorganismo.

Smith A.J. et al., 2001, publicaron el: Uso de dióxido de cloro para desinfectar, los contenedores de agua y los sistemas de irrigación de las unidades dentales (Smith A. et al., 2001). En este estudio el tanque fue desinfectado, con 100 litros de una solución de dióxido de cloro a 50 ppm. al inicio de cada experimento. La concentración de dióxido de cloro en el tanque fue medida al inicio y al final de cada experimento.

Los resultados muestran una disminución a corto plazo (<48 h) en el recuento total de bacterias, pero no proporciona agua de calidad potable. El uso intermitente de dióxido de cloro por lo tanto no es adecuado para la descontaminación a largo plazo de DUWL debe ser rediseñado este protocolo para eliminar la formación de biopelículas,

y obtener más investigación sobre los métodos prácticos para lograr el agua potable que se requiere.

Arrigada et al, 2004. Evaluaron la calidad del agua de los equipos dentales, elegidos al azar, entre los equipos del Centro de Clínicas Odontológicas de la Universidad de Talca, para lo cual se obtuvieron muestras de agua desde la salida de la jeringa triple y de la turbina (Arrigada V. et al., 2004). Después se sometió cada uno a diferentes protocolos de desinfección. El equipo 1, se desinfecto con el sistema Alpro'-Tec (Alpro), el equipo 2 con hipoclorito de sodio en reservorio independiente, el equipo 3 con detergente enzimático Enzymax (Hu-Friedy) y el equipo 4 con activación del flujo de agua por 30 minutos (Arrigada V. et al., 2004). Se encontró contaminación fuera de los límites permisibles. Después de la desinfección, los equipos 1 y 2 bajan totalmente sus niveles bacterianos, pero al cabo de una semana de trabajo, vuelve a niveles importantes, el equipo 3 no disminuye significativamente sus índices de contaminación y el equipo 4 disminuye notablemente la carga microbiana. Concluyen que los equipos dentales requieren de un protocolo de desinfección (Arrigada V. et al, 2004).

HIPOCLORITO DE SODIO

El hipoclorito de sodio NaOCl , es un compuesto que puede ser utilizado para desinfección del agua, actuando como fungicida y en la eliminación de bacterias.

La Council on Scientific Affairs, American Dentist Association (ADA) (1999) reportaron, como tratamiento químico intermitente, la seguridad y la eficiencia con hipoclorito 1:10 en la literatura científica, sin embargo parece que falta determinar mejor el éxito clínico. Mientras que otros productos dicen ser igual de efectivo y

potencialmente menos corrosivo. La confirmación de su eficacia está siendo revisada por los científicos.

Richard I. et al., (1999), realizaron un estudio prospectivo en 10 unidades dentales, estas fueron preparadas con sistemas de reservorio de agua por separado. Las unidades dentales se mantuvieron semanalmente con lavados de 1:10 NaClO. El tratamiento de agua consideró 750 mililitros de agua en la tapa y un goteo de blanqueador comercial sin diluir. La contaminación bacteriana en el agua refrigerante del efluente se analizó a través de cultivo microbiológico sobre una base semanal. Al final del estudio, por escaneo de microscopia electrónica del interior de las superficies de las líneas de las unidades dentales corroboraron los resultados. Se concluyó que, las 10 unidades dentales de forma constante entregaban agua con menos de 10 UFC/mL, con una media de contaminación bacterial de menos de 1 UFC/mL (Karpay R. et al., 1999).

Williams H. et al. (1995). Se realizó un estudio donde retiraron las secciones de agua y aire, de la jeringa triple, en tres unidades dentales. Posteriormente se conectaron a una fuente de agua pública y se utilizó en una clínica de aprendizaje por aproximadamente dos años. En esta remoción, el tubo de dos unidades libero agua remanente que fue colectada en tubos de cultivo estériles individuales, las cuales se procesaron por dilución y se cultivaron en medio de peptona. Para confirmar la presencia de biopelícula, cortaron 10 centímetros de cada sección de cada una de las tres piezas del tubo en cuatro subsecciones iguales; entonces las colocaron en secciones de 2% de glutaraldehido para análisis subsecuente por escaneo de microscopia electrónica.

Se emplearon tres diferentes protocolos experimentales, para determinar la calidad bacteriológica del flujo del agua de tubos contaminados. Dos protocolos se diseñaron para determinar, sobre el tiempo la extensión de la contribución del agua contaminada por biopelícula en los ductos de la unidad dental. Un tercer protocolo evaluó la efectividad de desinfección con blanqueador en la biopelícula.

Otras subsecciones del tubo fueron preservadas en glutaraldehído al 2% y se observaron por sistema de microscopia electrónica (SEM). Posteriormente se desinfectó. No se recuperaron bacterias de la muestra raspada después del tratamiento del blanqueamiento inicial. De cualquier manera, la matriz de la biopelícula se mantenía en el tubo observada por SEM.

Volanta Szymanska (2003), evaluó la efectividad de métodos de descontaminación química usando diferentes desinfectantes (ácido paracético, peróxido de hidrógeno, sales de plata, cloramina T, glutaraldehído T4 y métodos de descontaminación físicos usando membranas sintéticas para la filtración del agua. Un procedimiento preliminar de extracción de la biopelícula presente en las líneas de agua fueron aplicadas en la unidad dental preparada para los propósitos de esta investigación. Subsecuentemente, fueron aplicados tratamientos de mantenimiento a lo largo de dos diferentes semanas, usando desinfectantes inyectados en una bomba y finalmente la contaminación bacteriana del agua fluye por la línea del agua para ser evaluada. La descontaminación física fue realizada usando filtro de membrana de 22 μm , que fue instalada en otra unidad dental y el agua filtrada fue analizada para detectar contaminación bacteriana. El procedimiento preliminar de remoción de la biopelícula fue exitoso, en la obtención de agua libre de gérmenes. Concluyo en la importancia de la rutina de monitorear la contaminación microbiana en cirugías dentales y en

caso de contaminación, aplicar tratamientos a las líneas de agua (Szymanska J., 2003).

Wirthlin et al. (2003) publicaron, un estudio, comparando tres limpiadores de DUWL (un producto de peróxido alcalino, un producto de mezcla fresca de dióxido de cloro y un producto estabilizador de dióxido de cloro-buffer) en 16 unidades dentales con un sistema de contenedor para agua potable, 6 meses antes de la instalación en un centro de enseñanza periodontal. Una unidad tratada con un servicio de flujo y un secado controlado. Se tomaron muestras de las unidades diariamente por 10 días HPC (Placa de Conteo Heterotrófico) muestra de placa. Las placas fueron incubadas a 37°C por 7 días a temperatura ambiente, y las colonias fueron contadas en microscopio con un aumento de 10.5X. También se tomaron muestras de la tubería interna del agua antes y después de usar los limpiadores de línea y fueron procesadas y examinadas por escaneo de microscopia electrónica. Los limpiadores de líneas de agua dióxido de cloro son efectivos y descontaminan la biopelícula de DUWL. El dióxido de cloro tuvo ventajas sobre otros productos de cloro. Controlar Biopelícula de DUWL puede beneficiar efectos en infecciones nosocomiales.

III. JUSTIFICACION

La presencia de contaminación microbiana en el agua de las unidades dentales fue reportada por primera vez hace más de cincuenta años (Sciaky I. et al., 1962). Muchos estudios han confirmado la magnitud de la contaminación y la amplia distribución de esta (Organización para la seguridad y los procedimientos de Asepsia., 2001), (Peterson E. et al., 1999), (Miller C., 1996). A partir de los años

sesentas, se ha centrado la atención en el estudio y reconocimiento de una película bacteriana llamada biopelícula, que es la principal fuente de contaminación en el agua de la unidad dental. La mayoría de las unidades dentales cuentan con depósitos donde se almacena en forma temporal el agua que se emplea en la jeringa triple y pieza de alta velocidad. Esta biopelícula se forma en el lumen (en el interior de las líneas de agua) de las tuberías, adhiriéndose a sus paredes, a partir de microorganismos suspendidos en el medio acuoso y que están presentes en el agua del suministro que abastecen a las clínicas dentales. La temperatura que rodea al depósito es la ideal para que los microorganismos que integran la biopelícula se reproduzcan en las mejores condiciones. Al no existir filtros ni medidas que reduzcan la población bacteriana de los depósitos de agua estos alcanzan niveles considerables. Los organismos adheridos a la superficie producen polisacáridos extracelulares complejos que son adhesivos, captan y luego envolviendo a otros microorganismos, así forman una matriz gelatinosa que ayuda a la multiplicación y crecimiento de microcolonias que pueden llegar a ser muy densas, proceso favorecido por periodos del estancamiento de flujos de agua (Arraigada V. et. al., 2004).

Así las biopelícula de las líneas de agua de las unidades dentales actúan como reservorios desarrollando contaminación para producirla en el agua de las líneas de agua de las unidades dentales y poder actuar como el origen potencial de una infección cruzada (Coleman D. et. al., 2008).

El profesionalista de la salud, debe estar pendiente de la presencia de microorganismos oportunistas en las unidades dentales. La falta de conocimiento de la existencia de estos organismos en dichos sistemas, puede producir efectos adversos en la salud

causando una sobrecarga en el sistema de defensa del paciente con una resistencia disminuida para responder a infecciones producidas por microorganismos oportunistas. Entre estos pacientes están considerados: ancianos, personas con problemas alcohólicos, aquellos que han sufrido de trasplante de órganos, transfusiones sanguíneas recientes, SIDA, pacientes con cáncer, diabetes, así como enfermedades autoinmunes y desordenes orgánico crónico (Castillo C., 2003).

En base a lo antes expuesto, el propósito del presente estudio es determinar cuál de los productos, peróxido de hidrógeno al 3% o cloro 4%, es el más eficaz en la eliminación de la Biopelícula pudiendo con ello garantizar la calidad del agua encontrada en los reservorios de agua y sistemas de irrigación de las unidades dentales.

IV PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Anteriormente se pensaba que la mayor fuente de bacterias que causaban contaminación en los sistemas de transporte interno de agua de las unidades dentales provenía de los fluidos orales, que son aspirados hacia las mangueras, por medio de las piezas de alta velocidad, jeringa triple y escupidera. La biopelícula bacteriana se encuentra universalmente en el transporte de agua interno de las unidades dentales que no están bajo tratamiento. Este comienza a formarse incluso en unidades nuevas, en cuestión de días. Sin embargo, los procedimientos específicos diseñados para eliminar, atrapar o contenerlo están establecidos, hay pocas razones para creer que cualquier unidad dental puede evitar ser colonizada por bacterias.

La administración de alimentos y medicamentos de Estados Unidos (FDA) ha declarado 26 productos que tratan de mejorar la calidad de agua que se utiliza en el tratamiento dental. Estos productos se han clasificado en 4 categorías:

- Sistemas independientes de agua.
- Protocolos de tratamiento químico.
- Uso de filtros.
- Uso de sistemas esterilización integral a la unidad dental.

El hecho es que el número de conteo de bacterias varía desde cientos, miles e incluso millones por mililitro de agua en una unidad dental (Castillo C., 2003).

Por lo antes expuesto, ahora es indispensable el buscar alternativas de eliminación de biopelícula. Para así disminuir la posibilidad de poner en riesgo la salud de los paciente y personal del equipo dental, debido a que se han encontrado en diversos estudios variedad de bacterias, destacando entre ellas *Legionella pneumophila*.

Entre el manejo de sustancias recomendados se encuentra hipoclorito de sodio al 4% y peróxido de hidrógeno 3%, cuál es el más eficaz en la eliminación de la biopelícula en las líneas de agua de la unidad dental?

V. OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL: Determinar cuál es el desinfectante más eficaz, entre hipoclorito de sodio al 4% y peróxido de hidrógeno al 3%, para inhibir la formación

de biopelícula en los reservorios de agua y sistemas de irrigación de la unidad dental.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS NULA

Ho: No hay diferencia en la eficacia entre hipoclorito de sodio al 4% y peróxido de hidrógeno al 3%, como agente desinfectante en los sistemas de irrigación de la unidad dental.

HIPÓTESIS ALTERNA

H1: Si hay diferencia en la eficacia entre hipoclorito de sodio al 4% y peróxido de hidrógeno al 3%, como agente desinfectante en los sistemas de irrigación de la unidad dental.

VI METODOLOGÍA

DESARROLLO EXPERIMENTAL

A) Tipo de estudio

Experimental: El objeto de estudio no está asignado aleatoriamente. Existe tratamiento y control (antes y después).

B) Espacio-Temporal

Clínicas E, I, J, G, y H de la Facultad de Odontología de la UABC unidad Otay campus Tijuana.

C) Criterios de Inclusión y Exclusión

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

-Clínicas de la Facultad de Odontología:

Clínica de Endodoncia: E

Clínica de Odontopediatría: I-K

Clínica Restauradora: F-J

Clínica de Enseñanza: G

Clínica de Exodoncia: H

-Terminales de salida de agua.

-Sistemas de agua (contenedores de agua).

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Unidades dentales que no cuenten con sistemas de irrigación.

- Unidades dentales que estén fuera del uso diario.

- Unidades dentales que presente daños estructurales en los sistemas de irrigación

D) Variables

Variables Independientes: Hipoclorito de Sodio y Peróxido de Hidrógeno

Variables Dependientes: Biopelícula

E) Tamaño de la muestra

16 unidades dentales seleccionadas en forma aleatoria, ubicadas en cinco diferentes clínicas de la Facultad.

F) Análisis Descriptivo

Datos agrupados. Los datos se agruparon por compuesto químico a tratar contra muestreo sin tratamiento (antes de intervención). Así mismo por clínica.

a) Tratamiento de datos. El análisis de resultados, se llevó a cabo mediante gráficos.

b) Tipo de gráficos. Los resultados se expresan mediante diagramas de pastel, columnas y gráficos de barras.

G) Material

2 Lápiz de diamante

3 cajas de Porta objetos

1 caja de Cubreobjetos

Cajas de Petri 1500 cajas

Mecheros de Bunsen 3 piezas

Mangueras 3 piezas

Pizetas 2 piezas

Vidrios de reloj 20 piezas

Espátulas 3 piezas

Plumones indelebles 4 piezas

Asa bacteriológica calibradas 100 asas desechables

Guantes de Látex 50 pares

Cubre bocas 1 bolsa

Gorro 1 bolsa

Zapatos desechables 1 bolsa

Bata de laboratorio 5 piezas

Masking tape	5 piezas
Hisopos estériles	25 piezas
Matraces Earlen Mayer de 2 litros	2 piezas
Matraces Earlen Mayer de 500 ml	18 piezas
Probeta de 500 ml	2 piezas
Papel estroza	1 rollo
Tubos de ensayo con rosca	50 tubos por muestreo
Recipientes estériles	15 piezas

Equipo:

Equipo	Cantidad	Marca	Modelo
Refrigerador	1 unidad	Westinghouse	BA22527612
Incubadora	1 unidad	s/marca	699111036
Balanza granatária	1 unidad	Mettler Toledo	PB1502-1
Campana de flujo laminar	1 unidad	Envirco Class II-A	20405006
Auto clave	1 unidad	All American	
Microscopio óptico	2 unidades	Zeiss axiostar genesys	20
Parrilla eléctrica	2 unidad	VWR	Bread stadond
Micro pipetas (más puntillas)	3 piezas	Eppendorf	
Jeringas para irrigar de 20 y 50 ml.			

Químicos y líquidos:

Peróxido de hidrógeno	
Cloro	
Colorantes para tinción de gran	2 Equipos
Agua destilada	

Medios de cultivo y Marca:

a) Agar nutritivo	Difco
b) Agar sangre	Difco

c) Maconkey	Difco
d) Manitol salado	Difco
e) Bilis Esculina	Difco
f) Bioquímicas	Difco
MIO	
LIA	
KIA	
OF	
OF	
Urea	
g) Lysol	3 frascos
h) Alcohol	1 litro
i) Aceite de inmersión	15 ml

PROCEDIMIENTO

A) Tratamiento general de la muestra

Las Clínicas de la Facultad de Odontología Unidad Otay del Campus Tijuana, de la Universidad, Autónoma de Baja California (UABC), seleccionadas para el estudio fueron: G (Clínica de Prostodoncia parcial removible y Prostodoncia total), E (Clínica de Endodoncia), H (Clínica de Exodoncia), K-I (Clínica de Odontopediatría), F-J (Restauradora).

Previo al desarrollo, del muestreo de control real, se realizó una prueba para precisar detalles de la técnica a usar, toma de tiempos.

B) Muestreo

Posteriormente se realizó un muestreo de control, en las 5 clínicas seleccionadas para la fase experimental, 48 hrs. antes de agregar el compuesto químico (uno a la vez), al investigar y cumplirse este tiempo se agregó al depósito, hipoclorito de sodio al 4% aforando para 20 litros, que es la capacidad de los depósitos que abastece las clínicas, E y H; K-I, F-J y la clínica G.

El agua ya tratada con el hipoclorito de sodio al 4% se dejó en reposo dentro de los contenedores por un periodo de 48 a 60 hrs. Para posteriormente proceder al muestreo tanto de la tapa de los contenedores como de la jeringa triple de las unidades dentales. Previa a la toma de la muestra para el examen bacteriológico del agua de las jeringas triples, se dejó correr el agua a toda su capacidad durante tres minutos, para proceder con la colocación de las muestras en la bolsa "WHIRL-PAK" (previamente etiquetada), esta fue cerrada y de inmediato se colocó en hielera. Al término del muestreo fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, de la UABC, para iniciar su examen microbiológico.

Con el propósito de asegurar la formación de la biopelícula, la valoración con peróxido de hidrogeno se llevó a cabo ocho meses después, partiendo de una toma de control previo a la incorporación del peróxido de hidrogeno al tres%, replicando el protocolo descrito previamente, del hipoclorito de sodio.

C) Análisis microbiológicos de las muestras

Las muestras se trataron de acuerdo al Manual de Toma de Muestra de Laboratorio de Análisis Microbiológico y procesadas según la Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, que recomienda la técnica de diluciones con agua peptonada, posteriormente se buscaron *Mesofílicos aerobios* (NOM-092-SSA1-1994), *Coliformes totales* (NOM-112-SSA1-1993), *Salmonella spp.* (NOM-114-SSA1-1994), *Staphylococcus aureus* (NOM-115-SSA1-1994) y *Pseudomonas aeruginosa* (Bateriological standards).

Una vez procesadas de acuerdo al microorganismos de interés, se Incubación a 37°C por 24-48 hr., y se realizó conteo de UFC.

Selección de colonias para inocular en medios selectivos e identificación de género y especie, mediante pruebas bioquímicas.

D) Obtención de resultados: Análisis de resultados y procesamiento de datos.

VII RESULTADOS

Se analizaron un total de 16 unidades clínicas distribuidas en las 5 clínicas participantes muestreando en dos ocasiones, antes (control) y después de la intervención con cada uno de los compuestos a investigar. Los resultados se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 1 Resultados del muestreo control antes de la intervención con Cloro al 4%.

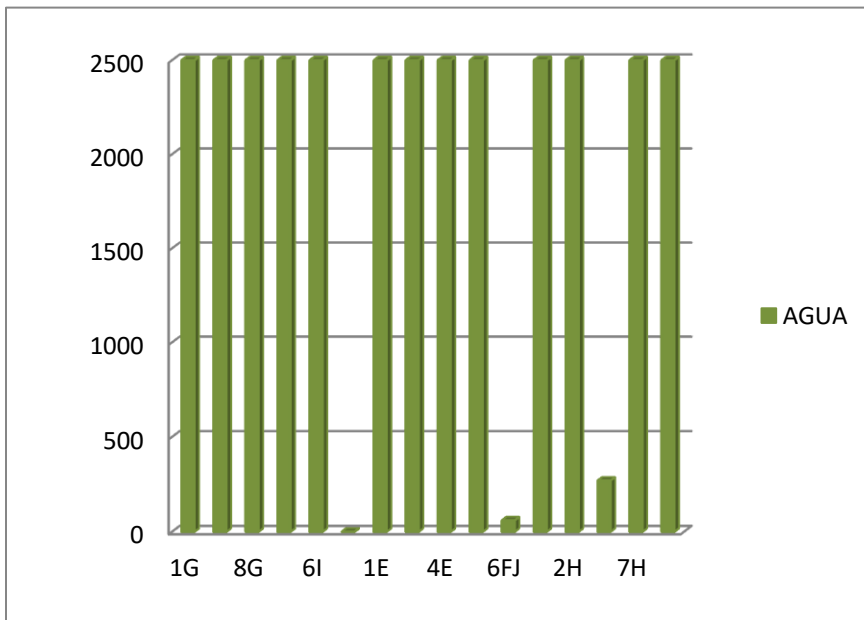
CLINICA	UD	AGUA	Coliformes	S. aureus	Enterococos	Salmonella	Pseudomonas	Otros
G	1G	2500	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	
	3G	2500	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	
	8G	2500	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	
I	1I	2500	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	
	6I	2500	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	
	8I	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	
E	1E	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Levaduras
	3E	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Levaduras
	4E	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Levaduras
F-J	1FJ	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	6FJ	60	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	8FJ	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
H	2H	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	5H	270	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	7H	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	
	8H	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	

En la Tabla.1, se observa desarrollo de UFC/mL en todas las Unidades Dentales (UD) a excepción de la clínica 8I, se detectó coliformes en 1G, 1I y 6I. *S aureus* positivo en todas las unidades dentales de las clínicas E, F-J y H, Enterococos en todas las UD de las 5 clínicas, Pseudomonas en 1E, 3E y 4E, también en 7H y 8H. Así como levaduras en la clínica E.

Tabla. 2 Resultados del muestreo después de la intervención utilizando cloro al 4%.

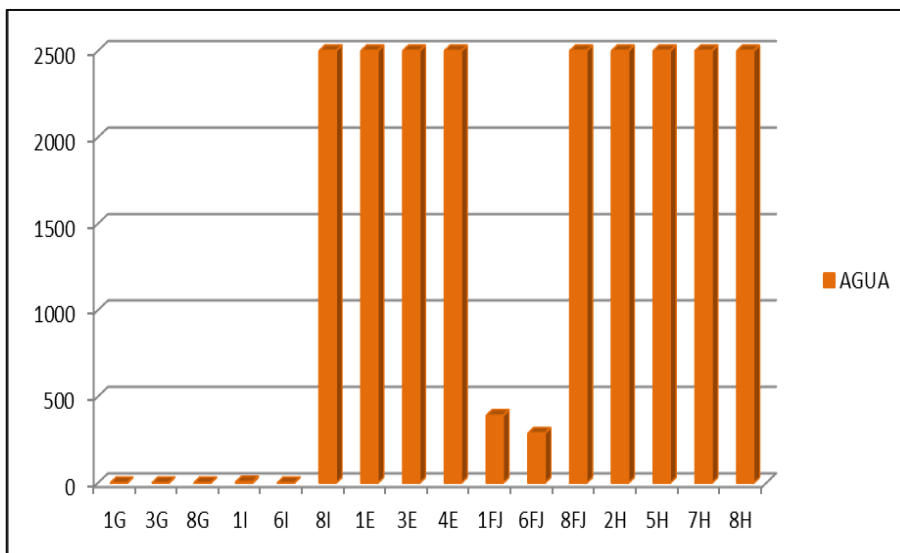
CLINICA	UD	AGUA	Coliformes	S. aureus	Enterococos	Salmonella	Pseudomonas	Otros
G	1G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	
	3G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	
	8G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	
I	1I	5	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	
	6I	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	
	8I	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
E	1E	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	3E	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	4E	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
F-J	1FJ	390	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	6FJ	287	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	8FJ	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
H	2H	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	5H	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	7H	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
	8H	2500	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	

La Tabla 2, muestra los resultados después de la intervención con Cloro al 4%, se encontró: no detectables UFC/mL en la clínica G, disminución de 2500 a 5 UFC/mL en la UD 1I, eliminación total en 6I, aumentando en 8I, viéndose a su vez un resultado favorecedor en la eliminación de coliformes en todas las clínicas, pero no para S. aureus y Enterococos, por lo que podemos indicar que el cloro es efectivo para Gram negativos pero no para Gram positivos. Para Salmonella y Pseudomonas no hubo desarrollo. También se eliminaron las levaduras de la clínica E.



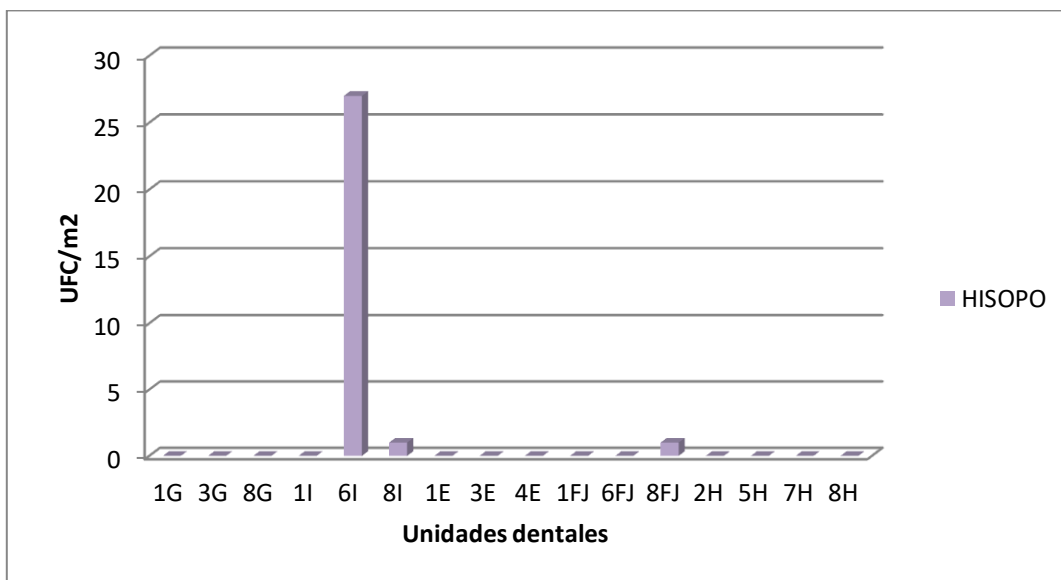
Gráfica 1 Cuenta total de Microorganismos en agua (antes de la intervención).

La Gráfica 1, antes de la intervención con cloro (control), muestra desarrolló de 2500 UFC/ml en: 1G, 3G, 8G, 1I, 6I. 1E, 3E, 4E, 1FJ, 8FJ, 2H, 7H, 8H, así como en 6FJ el desarrollo de 60 UFC/mL y en 5H 270 UFC/mL. Y sin desarrollo en 8I.



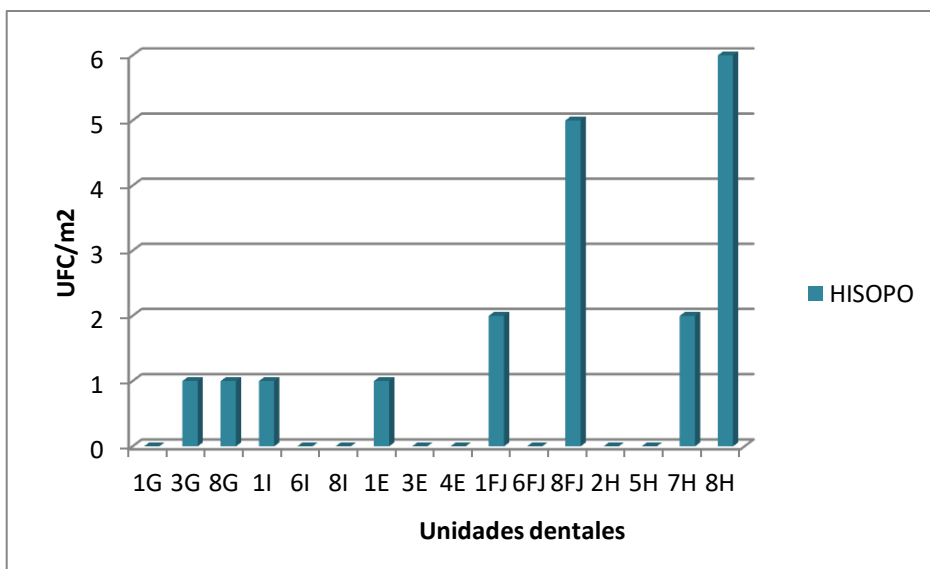
Gráfica 2 Cuenta total de Microorganismos en agua (después de la intervención).

En la Gráfica 2, después de la intervención con cloro, se observa la eliminación de UFC/mL, hasta no ser detectable en: 1G, 3G, 8G, 6I, se redujo significativamente en 1I y 1FJ. Sin presentar cambio aparente en 1E, 3E, 4E, 8FJ, 2H, 7H y 8H. Aumentando en 8I y en 5H.



Gráfica 3 Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, muestreo control antes de la intervención con cloro al 4%.

La Gráfica 3, presenta los resultados de superficies inertes en las unidades dentales (UD), con muestreo control, encontrándose desarrollo de UFC/mL en las clínicas 6I, 8I y 8FJ. Y sin desarrollo en UD: 1G, 8G, 1I, 1E, 3E, 4E, 1FJ, 6FJ, 2H, 5H, 7H, 8H.



Gráfica 4 Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, muestreo, después de la intervención con cloro al 4%.

En la Gráfica 4, presenta los resultados de superficies inertes en las UD después del tratamiento con cloro al 4%, encontrándose desarrollo de UFC/mL, en 3G, 8G, 1I, 1E, 1FJ, 8FJ, 7H y 8H, probablemente la biopelícula detectada aquí, no tuvo el arrastre suficiente para ser detectada en la etapa de control. En tanto que para 6I y 8I, se eliminó hasta no ser detectable, en 8FJ se incrementan las UFC/mL.

Tabla. 3 Resultados del muestreo control antes de la intervención con peróxido de hidrógeno al 3 %.

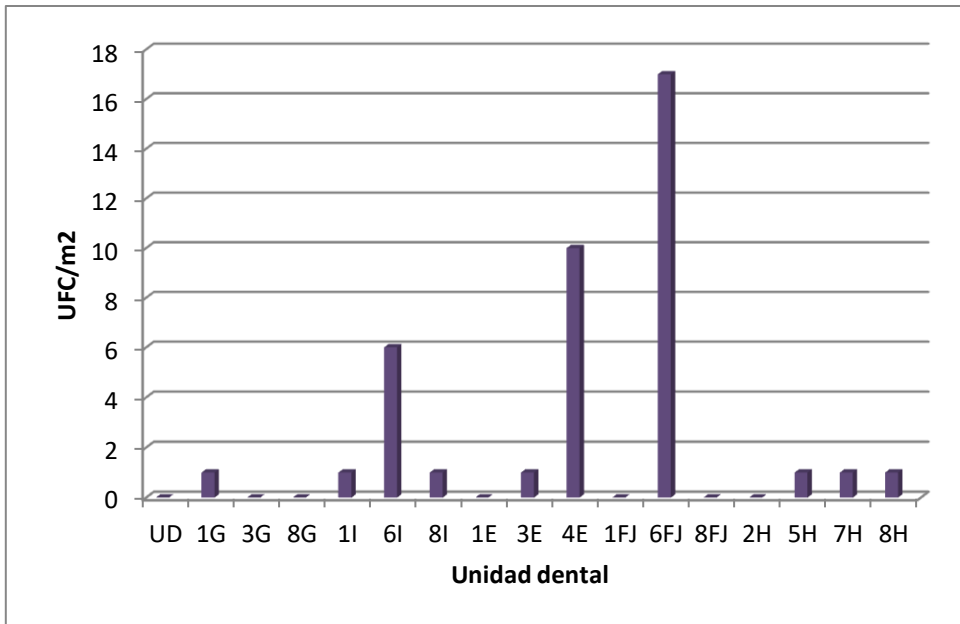
CLINICA	UD	AGUA	Coliformes	S. aureus	Enterococos	Salmonella	Pseudomonas
G	1G	250	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
	3G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
I	1I	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	6I	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8I	5	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
E	1E	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	3E	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	4E	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
F-J	1FJ	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	6FJ	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8FJ	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
H	2H	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	5H	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	7H	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8H	5	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo

En la Tabla. 3 se encontró desarrollo de UFC/mL en las unidades dentales (UD) 1G, 8I y 8H. Coliformes positivo en 1G, 8I y 8H. *S. aureus* positivo en 8H. Enterococos positivo en 1G y 8I. Salmonella negativo en todas las clínicas. Pseudomonas positiva en UD 8H.

Tabla 4. Resultados del muestreo después de la intervención con peróxido de hidrógeno al 3 %.

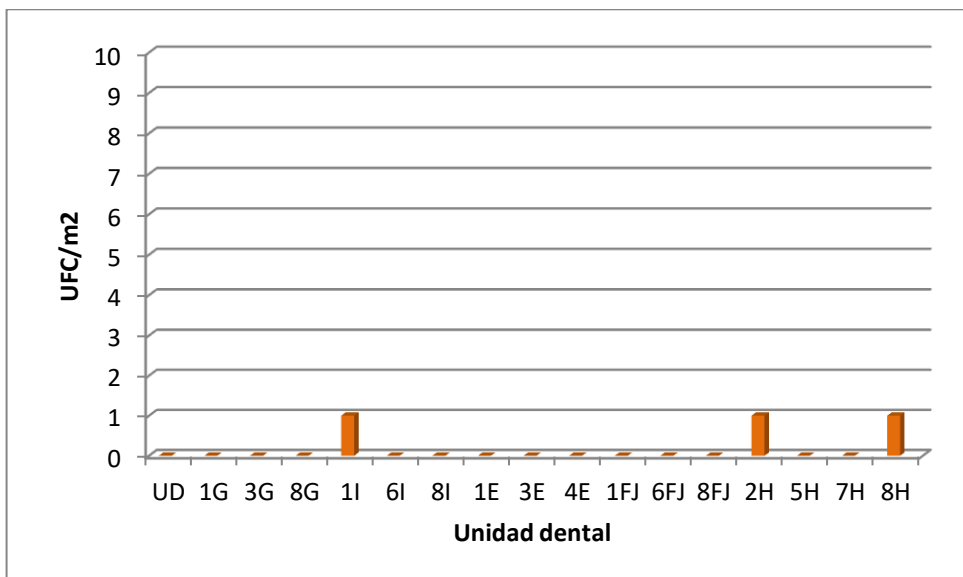
CLINICA	UD	AGUA	Coliformes	S. aureus	Enterococos	Salmonella	Pseudomonas
G	1G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	3G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8G	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
I	1I	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	6I	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8I	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
E	1E	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	3E	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	4E	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
F-J	1FJ	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	6FJ	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8FJ	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
H	2H	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	5H	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	7H	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
	8H	0	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabla.4 muestra resultados negativos después de la intervención con Peróxido de Hidrógeno al 3%. Generado por el efecto del Peróxido de hidrógeno sobre los microorganismos tanto Gram positivo, como Gram negativo. Lo que evidencia mayor efecto del Peróxido de Hidrógeno en las UD, que el cloro.



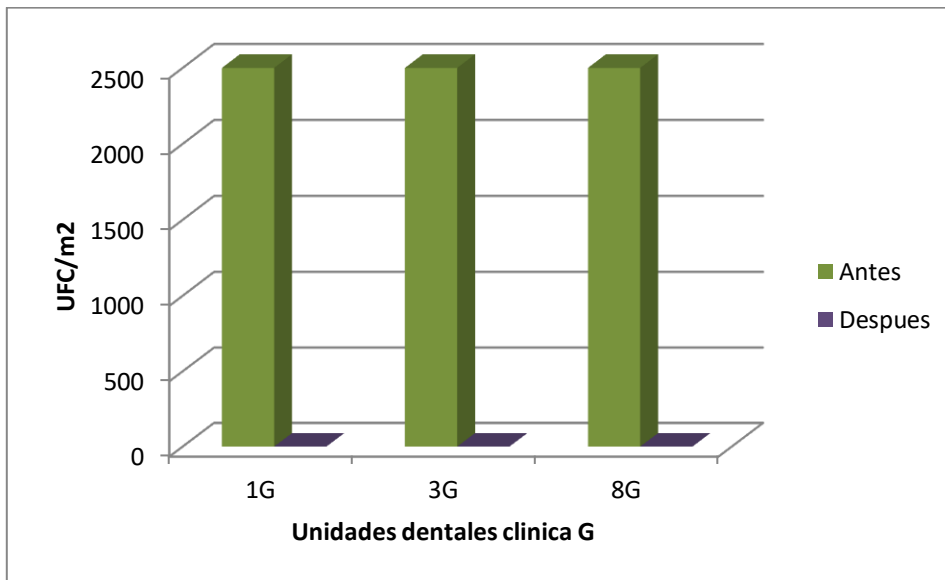
Gráfica 5 Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, antes de la intervención (control).con: Peróxido de Hidrógeno 3%.

La Gráfica.5, presenta los resultados del hisopado de superficies inertes en las unidades dentales (UD), antes de la intervención con Peróxido de Hidrógeno, encontrándose desarrollo de UFC/mL en las UD: 1G, 1I, 6I, 8I, 3E, 4E, 6FJ, 5H, 7H y 8H.



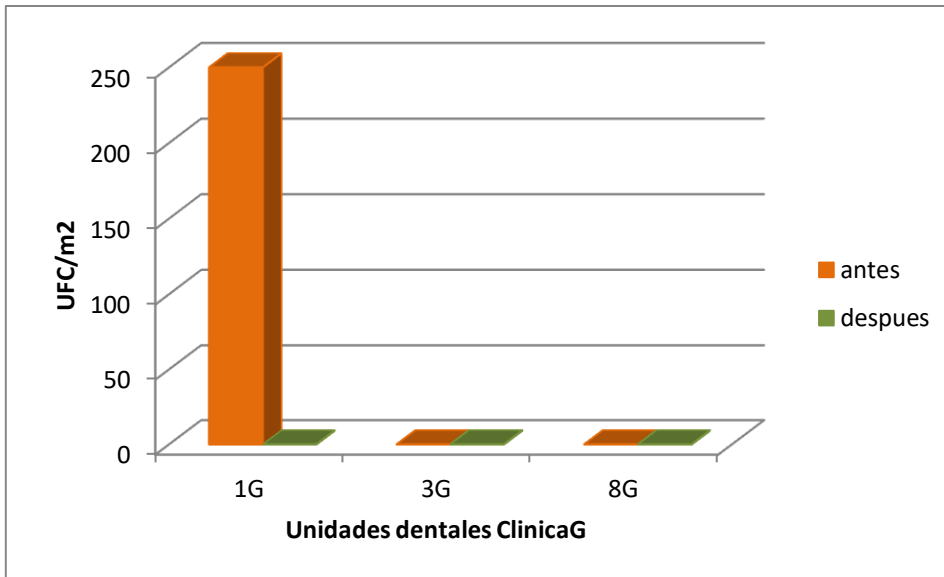
Gráfica 6 Resultados de superficies inertes en las unidades dentales, después de la intervención con Peróxido de Hidrógeno.

La Gráfica 6, con resultados de superficies inertes en las unidades dentales, después de la intervención con Peróxido de Hidrógeno, donde se encontró UFC/mL únicamente en las UD 1I, 2H y 8H. Quedando eliminadas hasta no ser detectable en: 1G, 6I, 8I, 3E, 4E, 6FJ, 5H y 7H. Evidenciando con esto, la efectividad del Peróxido de Hidrógeno, en las superficies inertes, en las UD.



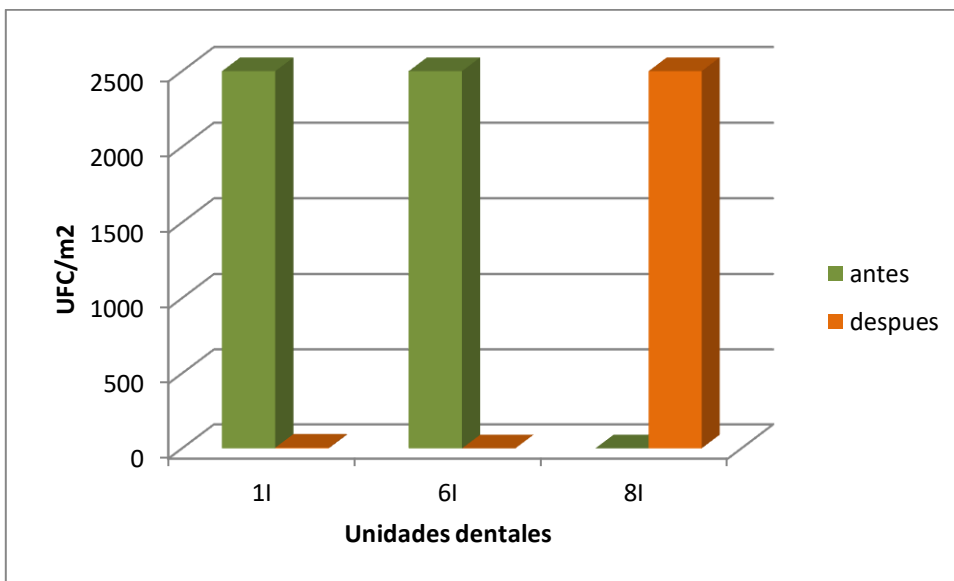
Gráfica.7 Comparación de carga microbiana antes y después del tratamiento de Cloro en la Clínica G.

Se obtuvo en muestra control de las UD el desarrollo de 2500 UFC/mL, en 1G dio positivo para Coliformes y Enterococos, en 3G y 8G positivo para Enterococos. En el muestreo con Cloro. Mientras que las tres UD, se observa eliminación total bacteriana, después del uso de Cloro.



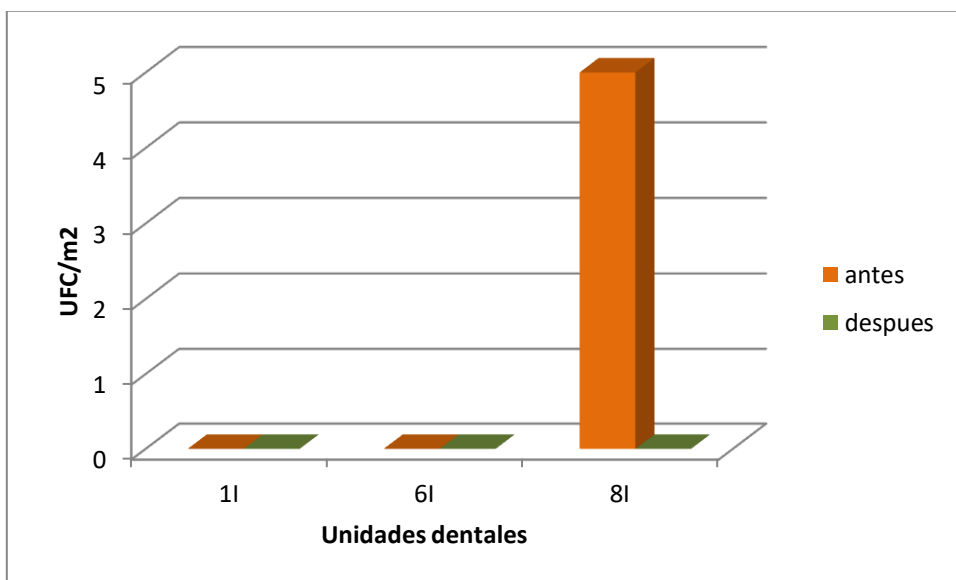
Gráfica 8 Clínica G, antes y después del tratamiento de Peróxido de Hidrógeno.

En la Gráfica.8, se muestra la comparación de carga microbiana antes y después del uso de Peróxido de Hidrógeno, en la Clínica G. Se obtuvo en muestra control de las UD el desarrollo de 250 UFC/mL, en 1G dio positivo para Coliformes y Enterococos, en 3G y 8G. En 1G se observa eliminación total bacteriana, después del uso de Peróxido de Hidrógeno.



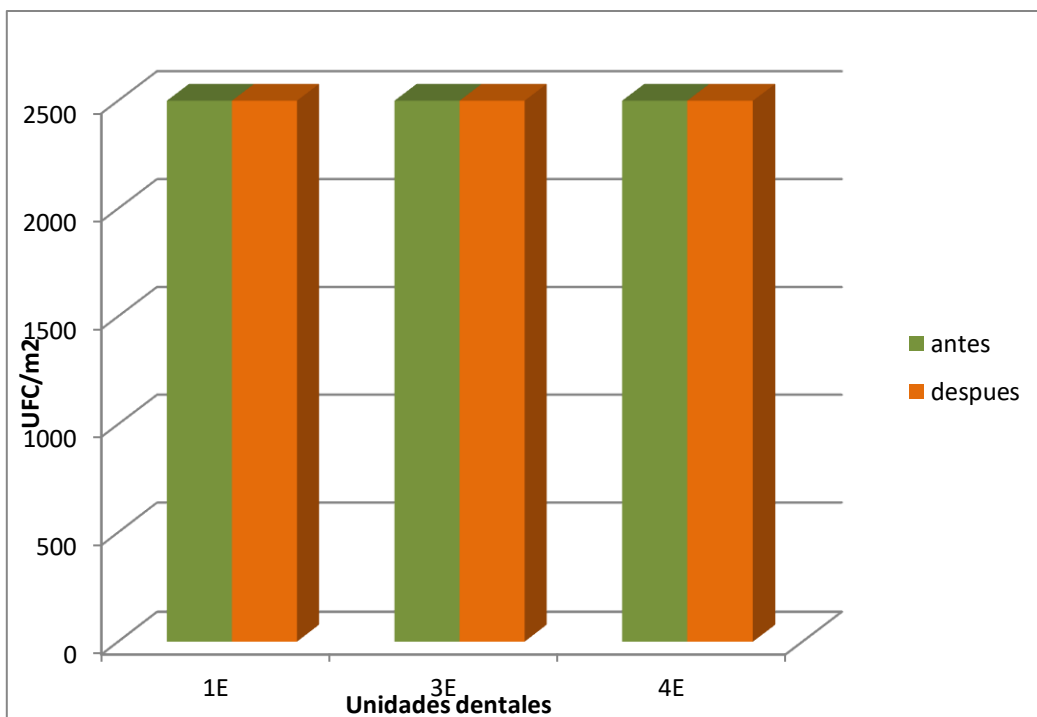
Gráfica.9 Clínica I, antes y después del tratamiento de Cloro.

En la Gráfica No.9 se muestra la comparación de carga microbiana antes y después del uso de Cloro, en la Clínica I. Se obtuvo en muestra control de las UD el desarrollo de 2500 UFC/mL, en 1I y 6I dio positivo para Coliformes y Enterococos, negativo en 8I. En comparación con el muestreo posterior a la intervención de Cloro, se obtuvo: 5 UFC/mL en 1I y positivo en Enterococos, negativo en 6I y 2500 UFC/mL en 8I, dando positivo para *S. aureus* y Enterococos posiblemente, la biopelícula no alcanzó a ser arrastrada en el muestreo de control.



Gráfica 10 Clínica I, antes y después del uso de Peróxido de Hidrógeno en agua.

En la Gráfica No.10 Se muestra la comparación de carga microbiana antes y después del uso de Peróxido de Hidrógeno, en la Clínica I. En la muestra control de las UD no hubo desarrollo en, 1I y 6I, pero sí dio positivo en 8I con 5 UFC/mL, para Coliformes y Enterococos. Se observa eliminación total bacteriana, después del uso de Peróxido de Hidrógeno en 8I.

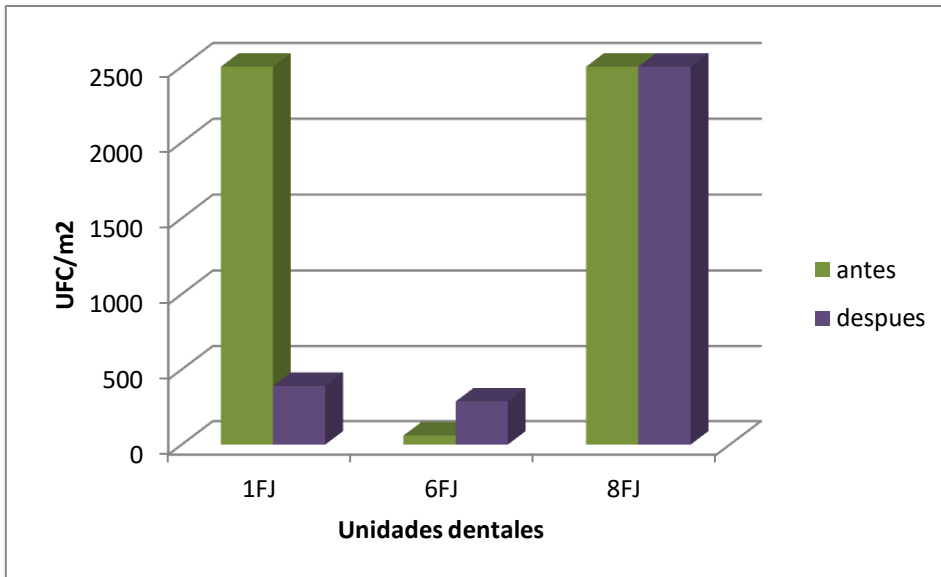


Gráfica 11 Comparación de carga microbiana antes y después del uso de Cloro.

En el muestreo control con Cloro al 4%, se desarrollaron 2500 UFC/mL, positivo en 1E, 3E y 4E para *S. aureus*, Enterococos y Pseudomonas. Así como el desarrollo de Levaduras.

Ya en el muestreo después de la intervención con Cloro, se mantuvo la carga microbiana con el desarrollo de 2500 UFC/mL, positivo en 1E, 3E y 4E para *S. aureus*, Enterococos. Demostrando ser efectivo para Pseudomonas y levaduras, pero no para otro tipo de microorganismos.

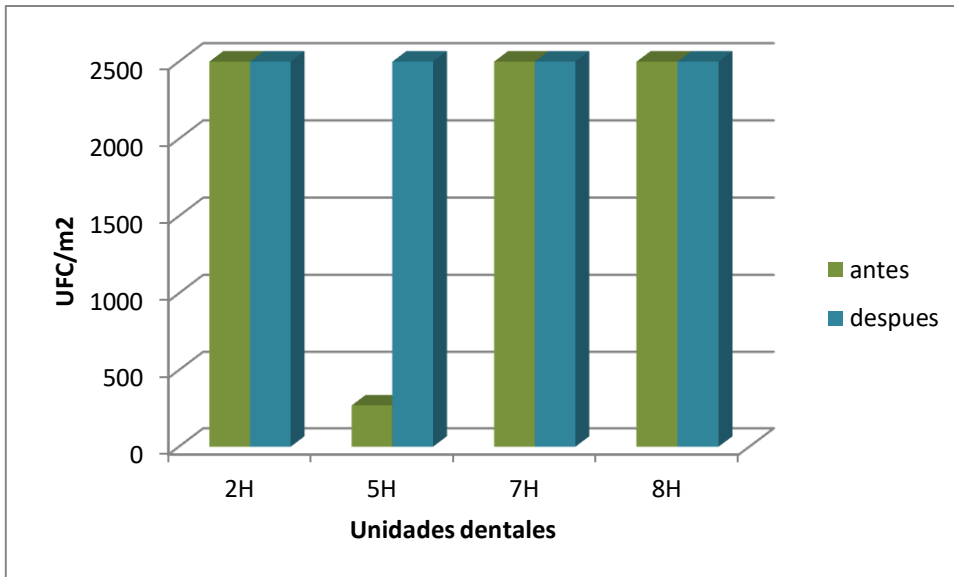
En el muestreo control con Peróxido de Hidrógeno al 3%, no se desarrolló gráfico, debido a que en la etapa de control como de saneamiento, los valores estaban en cero.



Gráfica 12 Clínica FJ, antes y después del uso de cloro en agua.

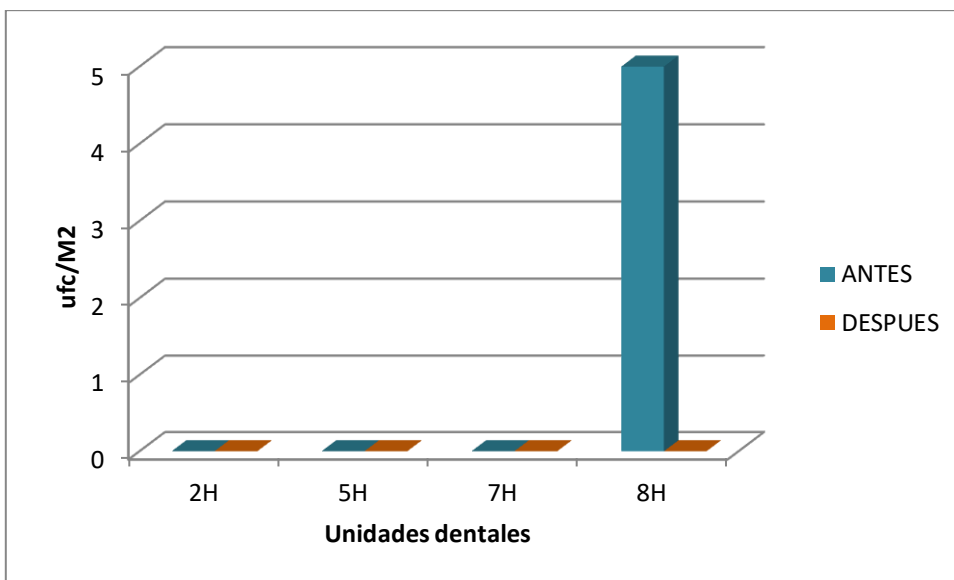
Se encontró con 2500 UFC/mL en 1FJ, positivo para *S. aureus* y Enterococos, 6FJ con 60 UFC/mL, con desarrollo en *S. aureus* y Estreptococos y en 8FJ con 2500 UFC/mL. En el muestreo con el uso del Cloro, disminuyó la cuenta bacteriana de 1FJ a 390 UFC con *S. aureus* y Enterococos, aumentó en 6FJ a 286 UFC/mL, con *S. aureus* y Enterococos. Manteniendo la misma concentración para 8FJ, positivo en *S. aureus* y Enterococos.

El muestreo control y saneamiento con Peróxido de Hidrógeno en la Clínica FJ, UD 1FJ, 6FJ y 8FJ, los resultados obtenidos fue de cero, por tal motivo no se generó gráfico.



Gráfica 13 Clínica H, antes y después del uso de cloro en agua

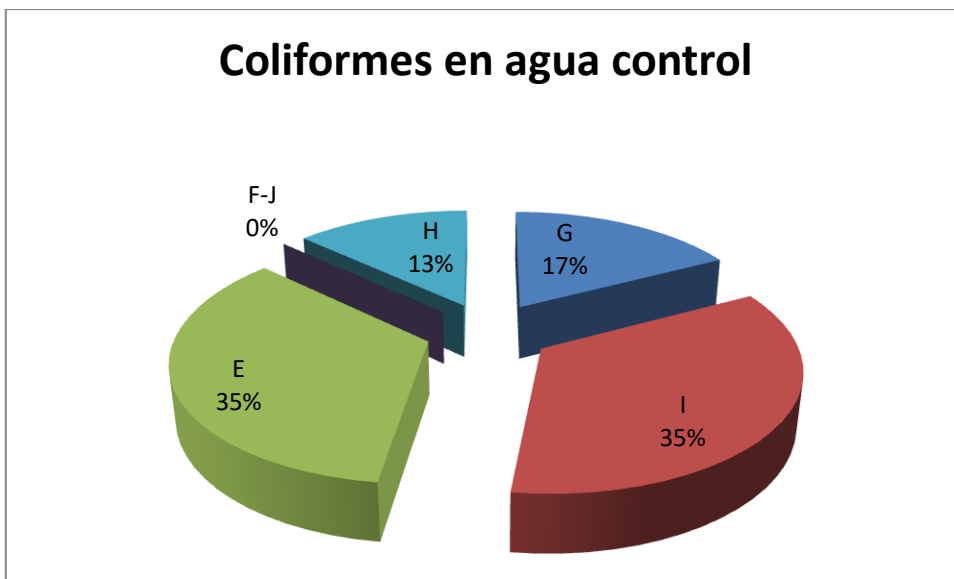
Se encontró aumento en la cuenta bacteriana en la Unidad Dental (UD) 5H, y manteniendo la misma contaminación en las UD 2H, 7H y 8H, positiva 2H en *S. aureus* y Enterococos, 7H en *S. aureus* y Enterococos, 8H *S. aureus*, Enterococos y *Pseudomonas*, 5H *S. aureus* y Enterococos.



Gráfica14 Clínica H, antes y después del uso de Peróxido de Hidrógeno en agua.

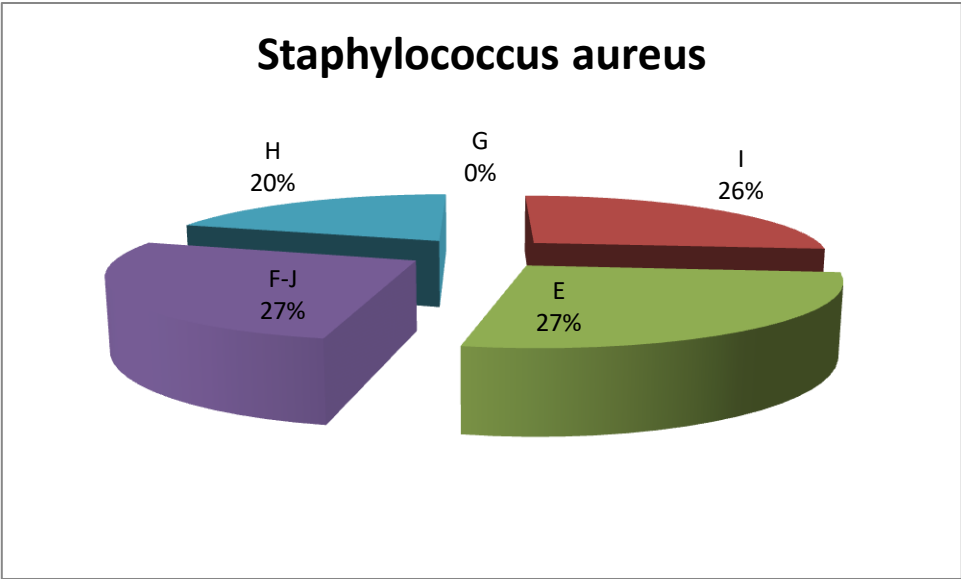
En UD sin desarrollo bacteriano ni antes ni después del saneamiento, para 2H, 5H, y 7H.

En 8H en muestreo de control 2500 UFC/mL, positivo en Coliformes, *S. aureus* y *Pseudomonas*. Después de saneamiento quedo eliminado el desarrollo bacteriano por lo que se puede decir que es un método efectivo.



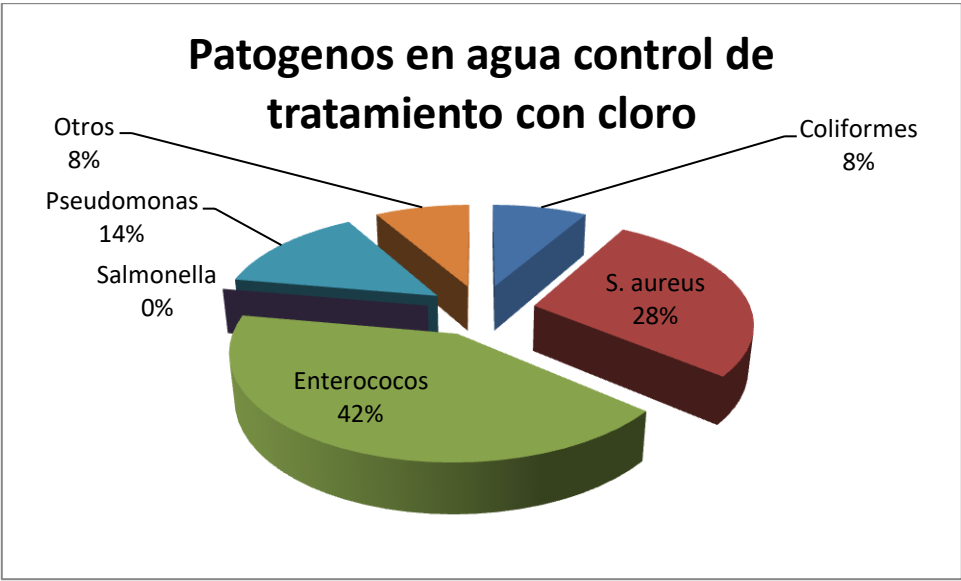
Gráfica 15 Resultados de agua control antes del tratamiento con peróxido de hidrógeno, en unidades dentales.

En las Clínicas I, E se encontró el mayor desarrollo de Coliformes, con un 35%, en la Clínica G con un desarrollo del 17%, Clínica H un 13%. Mientras que la Clínica F-J no hubo desarrollo detectable de ningún patógeno. Predominando Coliformes.



Gráfica 16 *Staphylococcus aureus*, en unidades dentales.

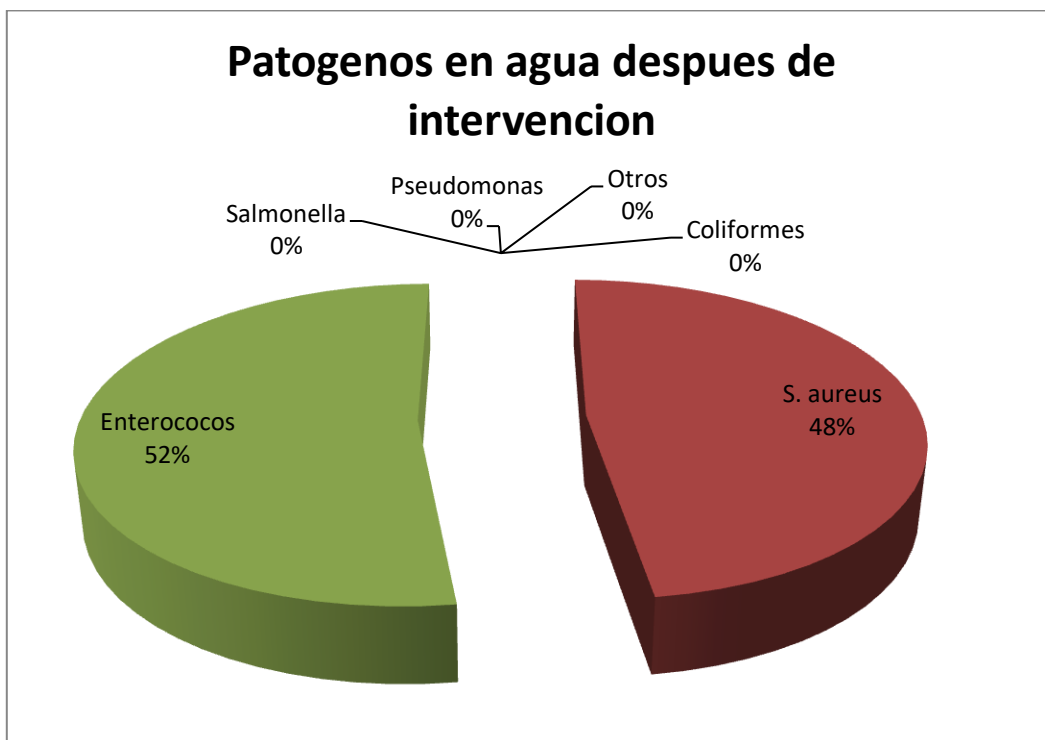
Se encontró en las clínicas F-J y E el mayor desarrollo, de *Staphylococcus aureus* en un 27%. Seguido por la Clínica I con un 26%, Clínica H con desarrollo un 20%. Mientras que en la Clínica G no hubo desarrollo detectable de *Staphylococcus aureus*.



Gráfica 17 Los patógenos en agua control de tratamientos con Cloro.

Se detectó desarrollo de Enterococos en todas las unidades dentales, de las clínicas G, I, E, F-J y H con un 42%, *Staphylococcus aureus* desarrollo en las unidades dentales de las Clínicas E, F-J y H con un 28%. Así mismo se encontró desarrollo de Pseudomonas en un 14% en las unidades dentales de las Clínicas E y H.

Coliformes en un 8% en unidades dentales de la Clínica I. Salmonella no presentó desarrollo detectable en ninguna unidad dental de ninguna Clínica. La Clínica E, desarrollo levaduras en todas sus unidades dentales.



Gráfica No.18. Los patógenos detectados en muestras de agua con Cloro.

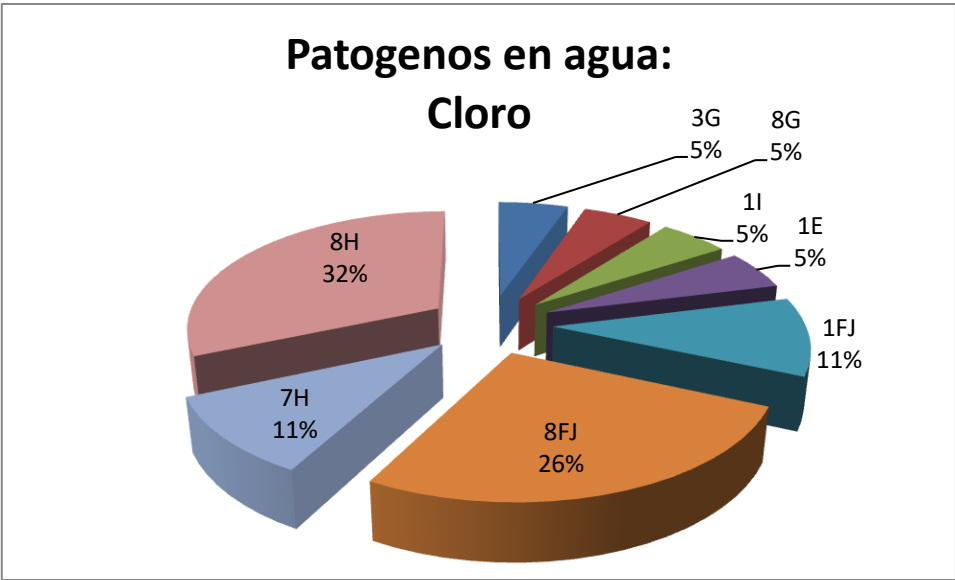
Después del saneamiento, fueron para las unidades dentales de las Clínicas F-J y Clínica H, así como las unidades dentales 1I y 8I, de la Clínica I.

Todo esto con *Enterococos* y *Staphylococcus aureus*. *Salmonella*, *Pseudomonas* y Coliformes no presentaron desarrollo detectable.



Gráfica 19. Patógenos en agua control Cloro.

Se detectó con mayor desarrollo de patógenos en agua control, de unidades dentales en la Clínica 6I con un 93% y las Clínicas con menor desarrollo fueron 8F-J y 8I.



Gráfica 20. Patógenos en agua: Cloro

Las clínicas con mayor desarrollo de patógenos en agua fueron, las Clínicas H y F-J, unidades dentales 8H, 7H, 8F-J y 1F-J. En las clínicas restantes fue menos representativa la aparición de patógenos.



Gráfica 21 Patógenos en agua control de Peróxido de Hidrógeno.

Presento desarrollo de Coliformes con un 31%, Staphylococcus con un 38%, Enterococos con un 23%, Pseudomonas con un 8% y no fue detectable Salmonella.

Peróxido de Hidrógeno

En un estudio realizado por Jackson et al. (2001), Evaluaron el Peróxido de Hidrógeno como desinfectante en líneas de unidades dentales. Se tomaron tres DUWL como control los cuales tenían un recuento promedio de 8,440 UFC/mL y otros 20 DUWL que se sometieron a la prueba tenían un recuento promedio inicial de 9,760 UFC/mL. Después de la intervención con Peróxido de Hidrógeno mostraron una reducción a menos de 200 UFC/mL. Se mostró que el Peróxido de Hidrógeno es efectivo mejorando la calidad de agua usada para procedimientos intraorales. El estudio de Jackson et al. (2001), probó que en cinco semanas consecutivas de uso del Peróxido de Hidrógeno, lograron disminuir 48 veces la concentración de UFC/mL, mientras que el presente estudio, logró demostrar una disminución de 8 veces. Lo

que sugiere, que de haber tenido una continuidad en el uso del Peróxido de Hidrógeno en el tratamiento de las líneas de agua, las cifras de patógenos presentarían aun una mayor disminución y/o erradicación de patógenos.

En un estudio realizado por Dalloio et al., (2014), se comparó la eficacia de diferentes métodos de desinfección con respecto a la calidad del agua y la presencia de biopelícula en líneas de agua de unidades dentales (UDWL). Se realizó un ciclo previo de desinfección con 250 mL de Peróxido de Hidrógeno al 3%, después de 10 minutos de contacto las líneas de agua se lavaban con agua del suministro, seguido de distintos protocolo de desinfección en cada una de las cinco clínicas. Encontrando después del primer tratamiento con peróxido de hidrogeno, una disminución de la concentración de bacterias heterótrofas concentración.

Después de tres meses de aplicación de los protocolos de desinfección, los sistemas de desinfección continúa, aseguraron una reducción total de *P. aeuroginosa*. El tratamiento de UDWL, muestra mejores resultados que los utilizados para el tratamiento intermitente. En nuestro presente trabajo fue utilizado Peróxido de Hidrógeno al 3% en dilución 1:4 a los depósitos de agua que abastecen las UDWL, y en un tiempo aproximado de 48-60 hr, fueron tomadas las muestras, logrando también eliminar los microorganismos, previamente detectados antes del saneamiento. Lo que confirma, que mantener el Peróxido de Hidrógeno en contacto permanente, con la UDWL, puede ser la respuesta, de tratamiento efectivo.

En un estudio realizado por Savina D. et al. (2016), para examinar la actividad bactericida in vitro del Peróxido de Hidrógeno contra *Legionella*, se probó el Peróxido de Hidrógeno (Peroxy Ag +) a 600 ppm en un sistema de agua de tratamiento dental

equipado con un equipo de higiene para agua que estaba artificialmente contaminado. El tratamiento de Peroxy Ag + es seguro para el contacto con el paciente, por lo que podría ser utilizado como una opción preventiva y puede ser útil en tratamientos a largo plazo, solo o acoplado con otro tratamiento diario o periódico.

Aunque en esta ocasión no se buscó *Legionella*, se puede observar que en otros estudios el Peróxido de Hidrógeno ha sido eficaz contra ella, y aunado a que *Legionella* es un patógeno presente en los sistemas de agua, y de refrigeración, sería conveniente realizar un estudio para la detección de *Legionella* en las unidades dentales, de las Clínicas tratadas en el presente estudio.

Estos estudios, al igual que el presente, evidencian una importante disminución bacteriana con la intervención de Peróxido de Hidrógeno, lo que podría ofrecer una herramienta básica y eficiente, para contrarrestar el desarrollo bacteriano en las líneas de agua de las Unidades Dentales. La mayoría de los estudios desarrollados, se caracterizan por que tienen el propósito de investigar, carga microbiana en sus líneas de agua, de las unidades dentales, sin embargo, el presente estudio, además de buscar la carga microbiana, enfatizó en la búsqueda de patógenos presentes como: Coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Enterococos*, *Salmonella* y *Pseudomonas*. Observando la eficacia del Peróxido de Hidrógeno, al no encontrar cargas detectables para coliformes, después del saneamiento, con este compuesto en todas las unidades dentales, así mismo para *Enterococos*, *S. aureus* y *Pseudomonas*, lo cual confirma que es un desinfectante efectivo tanto para bacterias Gram negativas como Gram positivas, demostrando un amplio espectro.

En un estudio realizado por Smith A.J. y et al. (2001), utilizaron diferentes protocolos, con dióxido de Cloro en 50 ppm, para desinfectar líneas de agua de cuatro unidades

dentales de una escuela. Midiendo al inicio y al final, con cada experimento del protocolo. Se observó una disminución en menos de 48 hr. en los recuentos totales, pero sin proporcionar agua de calidad potable, concluyeron que el uso de dióxido de cloro, no es adecuado para la descontaminación a largo plazo de las líneas de agua de las unidades dentales. Lo que coincide con el presente estudio, ya que el uso de cloro solo fue parcialmente efectivo sobre patógenos como Enterococos y no efectivo, como el caso de *Staphylococcus aureus*.

En un estudio realizado por Amrita Pawair y Cols.2016, utilizaron la preparación de cinco desinfectantes entre los que se encontraban y para interés de nuestro trabajo: Peróxido de Hidrógeno en diferentes concentraciones, tratamientos y combinaciones. Reportan que después de cuatro semanas todos los métodos fueron igualmente eficaces para reducir el recuento de colonias microbianas de las unidades dentales, independientemente de su concentración y método de desinfección, lo que concuerda con el presente estudio en donde recomendamos el uso de peróxido de hidrogeno para la desinfección de las unidades dentales, debido a la disminución y/o erradicación en algunos patógenos, de las líneas de agua de las unidades dentales tratadas, con Peróxido de Hidrógeno, en la Facultad de Odontología de la UABC.

En un estudio realizado por Wirthlin M.R. y Cols., 2003, compararon tres productos de limpieza de las líneas de agua de 16 unidades dentales, un producto de dióxido de cloro recién mezclado, dióxido de cloro estabilizado tampón y Peróxido de Hidrógeno alcalino. Se muestrearon diariamente durante 10 días para bacterias heterotróficas, incubadas durante 7 días a temperatura ambiente y se contaron las colonias. Las muestras de tubería de agua interna antes y después del uso de limpiadores de línea de agua fueron procesados y examinados por microscopia electrónica de barrido. Se

encontró con el dióxido de cloro recién mezclado y el dióxido de cloro estabilizado tampón, reducción en sus coberturas, pero las diferencias no fueron significativas estadísticamente. Este estudio, confirma nuevamente, comparado con el presente estudio, que el Cloro y/o químicos que lo contengan, no son la mejor opción para desinfectar y/o erradicar patógenos de las líneas de agua de las unidades dentales. Su eficacia es limitada, lo que sugiere por consecuencia el riesgo de pacientes y equipo de salud, ante el contacto con agua contaminada.

Limitaciones

1. Los limitados tiempos para muestreo matutino, entre la apertura de las clínicas por el ingreso de pacientes, alumnos y docentes a estas áreas.
2. La falta de bitácoras con información formal de las clínicas sobre el manejo de saneamiento de sus depósitos.
3. No existe un programa formal de saneamiento de los equipos.

Fortalezas

1. El Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, cuenta con la infraestructura para el desarrollo de este tipo de estudios.
2. La diversidad de clínicas dentales para trabajar.

VIII Discusion

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, muestran grandes cargas de microorganismos en las líneas de agua de las unidades dentales, que pueden afectar la salud de los pacientes y el equipo humano de trabajo dental, de no tomar medidas pertinentes. Los sistemas de irrigación de las Unidades dentales, no cuentan con protocolos de saneamiento, lo que genera la necesidad de diseñar y elaborar dichos protocolos.

Entre los microorganismos detectados en UDLW, tienen presencia los patógenos, como: Coliformes, *Staphylococcus aureus*, Enterococos y Pseudomonas. Estos patógenos son indeseables en procedimientos intraorales, por ser un riesgo de infectocontagiosidad.

De los dos desinfectantes (Cloro y Peróxido de Hidrógeno) utilizados en este trabajo, se encontró que el de mayor poder desinfectante, fue Peróxido de Hidrógeno, por lo que una vez estandarizado el procedimiento, este puede ser utilizado como desinfectante confiable para optimizar el agua de UDWL.

El Peróxido de Hidrógeno fue eficaz contra microorganismos Gram positivos G (+) y Gram negativos G (-), confirmando su valioso poder bactericida contra patógenos como: *Staphylococcus* G (+), Coliformes G(-), *Pseudomonas* G(-), Enterococos G(+), ofrece una solución viable, para el control y/o erradicación de microorganismos patógenos en las UDWL.

Ante una diversidad de protocolos, puestos en práctica por diferentes autores, así como diversos químicos propuestos, utilizables, como opción de mejora o

erradicación de biopelícula y aun con resultados favorables en algunos casos, siempre es elemental, el continuo y permanente monitoreo de las UDWL.

Otros autores demostraron el eficaz efecto de Peróxido de Hidrógeno ante la presencia de Legionella, por lo que es recomendable una investigación en las UDWL, de las Clínicas de la Facultad de Odontología.

IX Conclusion y Recomendaciones

Implementar de manera permanente como protocolo de limpieza (inicio de consulta diaria, de semana, después de días festivos, regreso de vacaciones, etc.), la depuración de agua en la manguera, de la unidad dental.

Limpieza constante y programada, del depósito de agua que abastece las mangueras de la unidad dental.

Es importante que se diseñe un protocolo de limpieza de los depósitos de agua las unidades dentales y se dé a conocer a los técnicos de mantenimiento de los equipos, capacitándolos y concientizarlos de la importancia de su seguimiento.

Maestros y alumnos de las Clínicas de la Facultad de Odontología, UABC reciban capacitación y tengan conocimiento del protocolo de limpieza.

Vigilar los espacios de contacto del depósito de agua. Para que estén limpios y libres de contaminación.

Implementar de manera regular procedimientos de desinfección para el mejoramiento del agua de la unidad dental.

Verificación y mantenimiento de las líneas de agua con regularidad, en las unidades dentales y reemplazar cuando sea necesario.

Realizar monitoreo rutinario de contaminación microbiología de las unidades dentales.

Es recomendable depurar las líneas de agua de las unidades dentales por un tiempo aproximado de entre 20 y 30 segundos, entre paciente y paciente.

Revisión constante de literatura, y actualización, búsqueda de nuevas estrategias desarrolladas o nuevos químicos y poder así ofrecer respuestas asertivas ante el problema que genera la biopelícula en las unidades dentales.

X.Referencias

- (1) ADA Council on scientific Affairs. Dental Unit Waterlines: Approaching the year 2000. Journal of American Dentist Association, 130; 1653-1664.
- (2) Aranda ZR, Quintanilla AH, Garza GA, De la Garza RM. Evaluación de la eficacia de Purevac, Cloro y Purga en el control de la Biopelícula de las mangueras de unidades dentales. Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Nuevo León.
- (3) Arraigada VA, Larrucea VC, Padilla EC. Control de Infección en los Ductos de Equipos Dentales de las Clínicas Odontológicas de la Universidad de Talca. Revista Dental de Chile 2004; 95(2):3-9
- (4) Barbot V, Robert A, Rodier M, Imbert C. Update on infectious risks associated with dental unit waterlines. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 2012.
- (5) Castillo RC. Presencia de Biofilm en el Sistema de Transporte de Agua Interno de Las Unidades Dentales. Universidad Francisco Marroquín 2003: 1-106.
- (6) Coleman DC, O'Donnell MJ, Shore AC, Russell RJ, Biofilm Problems in Dental Unit Systems and its Practical Control: Journal of Applied Microbiology 2008; 106 (5):1424-1437.
- (7) Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. AAA Magazine 1999 May; 284 (5418):1318-1322.

- (8) Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews* 2002 April; 15(2):167-193.
- (9) Ditomnaso S, Giacomuzzi M, Ricciardi E, Zotti C. Efficacy of a Low Dose of Hydrogen Peroxide (Peroxy Ag+) for Continuous Treatment of Dental Unit Water Lines: Challenge Test with *Legionella pneumophila* Serogroup 1 in a Simulated Dental Unit Waterline. *Instrumental Journal of Environmental Research and Public Health*. 2016.
- (10) Jackson B, Linger JB, Molinari JA, Forbes WC, Farthing CF, Winget WJ. Evaluation of a Hydrogen peroxide disinfectant for dental unit waterlines *J Am Dent Assoc*. 2001; 132(9):1287-1291.
- (11) Karpay RI, Plamondon TJ, Mills SE, Dove SB. Combining Periodic and Continuous Sodium Hypochlorite Treatment to Control Biofilms in Dental Unit Water Systems: *American Dental Association* 1999 July; 130:957-965.
- (12) Khalid MA, Mansour A, Maha AN, Hessa A. Microbial contamination of samples of dental unit water systems in Saudi Arabia. *Saudi Dental Journal* 2007; 19(2):110-114.
- (13) Laura Dallolio L, Scuderi A, Rini M, Valente S, Farruggia P, Bussi M, Pasquielli G, Acacci A, Roncarati G, Leoni E. Effect of Different Disinfection Protocols on Microbial and Biofilm Contamination of Dental Unit Waterlines In Community Dental Practices. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2014.

- (14) Manzanares LG, Montiel BN, Del Real SS, Flores CR. Detección de *Legionella pneumophila* en los sistemas de agua de la Facultad de Odontología de la UAEM 2014; (5): 216-220.
- (15) Milleri CH. Los microbios en el agua de las unidades dentales. *Estomatología Cubana* 1996: 33(3).
- (16) Moreno NG. Contaminación en los ductos de agua de las unidades dentales. En *Ejercicio profesional y administración. Tribuna Odontológica*. 2004; 1(4) (24/11/2007).
- (17) Organización para la seguridad y los procedimientos de Asepsia. Postura Sobre las líneas de agua en la Unidad Dental. Red dent@I.
- (18) Orru G, Erriu M, Orru G, Piras V, Del Nero S, Tuveri E, Ciusa M, Pilia F, Liciardi M, Denotti G. Evaluation of Antimicrobial Antibiofilm Activity of a Hydrogen Peroxido Decontaminating System Used in Dental. *The Open Dentistry Journal*. July 2010.
- (19) Pawar A, Garg S, Mehta S, Dang R. Breaking the chain of infection: Dental Unit Water Quality Control. *Dentistry Section*. Jul 2016.
- (20) Peterson E et al. Biofilms in Dental-Unit Waterlines. *Scientific Review of Issues Impacting Dentistry* 1999 December, Vol 1(1).
- (21) Ricci ML, Fontana S, Pinci F, Fiumana E, Pedna MF, Farolfi P, Bucci SA, Scaturro: Pneumonia associated with a dental unit waterline *The Lancet*, February 18, 2012.

- (22) Rivera TJ, Román MC. Biopelículas y Salud Pública. Anales Médicos 2005; 50(4):172-176.
- (23) Sciaky I. Importance of Dental Units in the Mechanical Transfer of Oral Bacteria: Journal of Dental Research 1962; 41, 714
- (24) Smith AJ, Bagg J, Hood J. Use of chlorine dioxide to disinfect dental unit waterlines. The Journal of hospital Infection 2001 December; 49(4)
- (25) Svensater G, Bergen HG. Biofilms in endodontic infections. Endodontic Topics 2004 ;(9):27-36.
- (26) Szymanska J. Control Methods of Microbial Water Quality in Dental Unit Waterlines: Ann Agric Environ Med 2003; 10:1-4
- (27) Szymanska J, Sitkowska J, Dutkiewicz J. Microbial Contamination of Dental Unit Waterlines: Ann Agric Environ Med 2008; 15, 173-179
- (28) Szymanska J. Risk of Exposure to Legionella in Dental Practice. Ann Agric Environ Med 2004, 11 9-12.
- (29) Viviani MJ. Patología Periapical. Estructura del Biofilm: Electronic Journal of Endodontics Rosario 2008; 01: 67-90
- (30) Williams HN, Baer ML, Kelly JI. Contribution of biofilm bacteria to the contamination of the dental unit water supply: J Am Dent Assc 1995; 126:1255-1260.
- (31) Wirthlin MR, Marshall GW, Rowland RW. Formation and decontamination of biofilms in dental unit waterlines. Journal Periodontology 2003 Nov; 74(11):1595-1609.

- (32) Zanetti F, De Luca G, Tarlazzi P, Stampi S. Decontamination of dental unit system with hydrogen peroxide. *Appl Microbiol.* 2003; 37(3):201-206.

ANEXOS

A) Fotos



Foto 1. Muestra espacio (gaveta) de almacenamiento para el depósito que almacena el agua para alimentar las Unidades Dentales. Así mismo el contenedor de agua.



Foto.2. Tapa del deposito donde se almacena el agua que alimenta las Unidades Dentales.

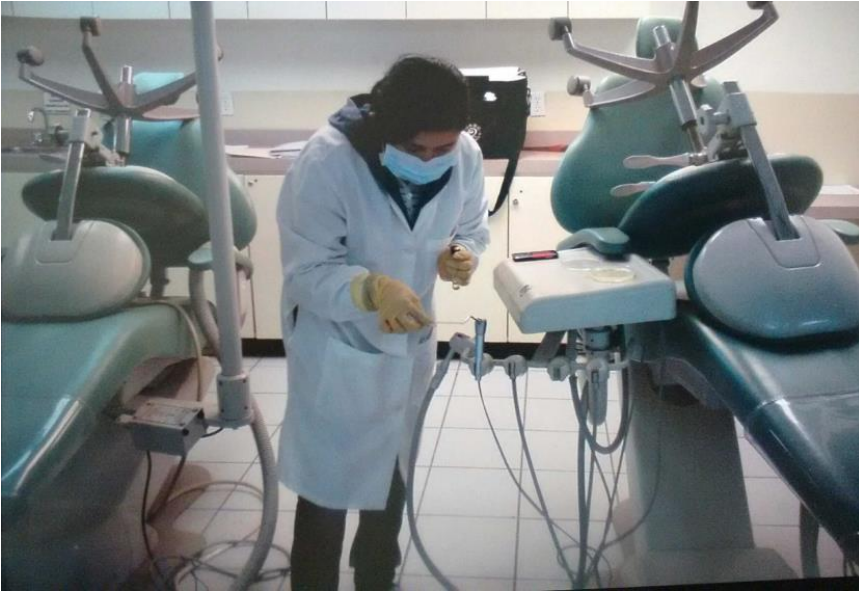


Foto 3. Muestreo de hisopado en unidades dentales.



Foto No.4. Desarrollo bacteriano en una muestra de hisopado de unidades dentales.



Foto No.5. Resultado de control de proceso microbiológico.



Foto No.6. Resultados de incubación de muestras de hisopado



Foto No.8. Coliformes por la Técnica del Número Más Probable

B) Normas oficiales

NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.-
Secretaría de Salud.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-110-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS.
PREPARACION Y DILUCION DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANALISIS
MICROBIOLOGICO.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38 fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, y

CONSIDERANDO

Que con fecha 28 de abril de 1994, en cumplimiento de lo previsto en el artículo 46 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, la Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios presentó al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, el anteproyecto de la presente Norma Oficial Mexicana.

Que con fecha 15 de agosto de 1994, en cumplimiento del acuerdo del Comité y lo previsto en el artículo 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó en el Diario Oficial de la Federación el proyecto de la presente Norma Oficial Mexicana a efecto que dentro de los siguientes noventa días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario.

Que en fecha previa, fueron publicadas en el Diario Oficial de la Federación las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado Comité, en términos del artículo 47 fracción III de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-110-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS.
PREPARACION Y

DILUCION DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANALISIS
MICROBIOLOGICO.

PREFACIO

En la elaboración de la presente norma participaron los siguientes Organismos e Instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA

Instituto Nacional de la Pesca

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

INDUSTRIAS VINICOLAS PEDRO DOMECCQ, S.A. DE C.V.

JUGOS DEL VALLE, S.A. DE C.V.

LECHE INDUSTRIALIZADA CONASUPO, S.A. DE C.V. LICONSA

SIGMA ALIMENTOS, S.A. DE C.V.

SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C.

NORMEX

INDICE

0. INTRODUCCION

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

2. FUNDAMENTO

3. REFERENCIAS

4. DEFINICIONES

5. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

6. REACTIVOS Y MATERIALES

7. APARATOS E INSTRUMENTOS

8. PROCEDIMIENTO

9. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

10. BIBLIOGRAFIA

11. OBSERVANCIA DE LA NORMA

12. VIGENCIA

0. Introducción

Esta norma está orientada a proporcionar las guías generales para la preparación de diluciones para el examen microbiológico de alimentos. En vista de la gran cantidad de productos en este campo de aplicación, estas guías pueden ser inapropiadas para todos ellos en forma detallada y para otros requerirse otros métodos diferentes. Sin embargo, en todos los casos donde sea posible se recomienda apearse a estas guías y modificarse únicamente cuando sea necesario.

La dilución primaria tiene por objeto obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos contenidos en la muestra destinada para el análisis.

La preparación de diluciones decimales adicionales, si son necesarias, tiene como objetivo reducir el número de microorganismos por unidad de volumen, para permitir, después de la incubación, la observación de la prueba en el caso de tubos o matraces y la cuenta de colonias en el caso de placas.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el procedimiento para la preparación de diluciones para el análisis microbiológico de productos alimenticios.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que se dedican a efectuar este método en alimentos nacionales o de importación, para fines oficiales.

2. Fundamento

Se basa en la preparación de diluciones primarias, para obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos presentes en la porción de muestra.

3. Referencias

Esta norma se complementa con lo siguiente:

NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, Manejo y Transporte de Muestras de

Alimentos para su Análisis Microbiológico.*

4. Definiciones

Para fines de esta norma se entiende por:

4.1 Dilución primaria, es la solución, suspensión o emulsión obtenida después de pesar o medir una cantidad del producto bajo examen y mezclarla con una cantidad de nueve veces en proporción de diluyente.

4.2 Diluciones decimales adicionales, las suspensiones o soluciones obtenidas al mezclar un determinado volumen de la dilución primaria con un volumen de nueve veces un diluyente y que por repetición de esta operación con cada dilución así

preparada, se obtiene la serie de diluciones decimales adecuadas para la inoculación de medios de cultivo.

5. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

cm centímetro

mm milímetro

g gramos

ml mililitro

l litro

pH potencial de hidrógeno

N normal

°C grado Celsius

% por ciento

h hora

6. Reactivos y materiales

6.1 Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado analítico. Cuando se indique agua debe entenderse como agua destilada.

6.1.1 Preparación de reactivos

6.1.1.1 Solución de hidróxido de sodio 1,0 N

FORMULA

INGREDIENTES CANTIDADES

Hidróxido de sodio 4,0 g

Agua 100,0 ml

Preparación:

Disolver el hidróxido de sodio y llevar a 100 ml con agua.

6.1.1.2 Soluciones diluyentes

6.1.1.2.1 Solución reguladora de fosfatos (solución concentrada).

FORMULA

INGREDIENTES CANTIDADES

Fosfato de sodio monobásico 34,0 g

Agua 1,0 l

Preparación:

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7,2 con solución de hidróxido de sodio 1,0 N.

Llevar a un litro con agua.

Esterilizar durante 15 minutos a $121^{\circ} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$.

Conservar en refrigeración (solución concentrada).

Tomar 1,25 ml de la solución concentrada y llevar a un litro con agua (solución de trabajo).

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml según se requiera.

Esterilizar a $121^{\circ} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos.

Después de la esterilización, el pH y los volúmenes finales de la solución de trabajo deberán ser iguales a los iniciales.

6.1.1.2.2 Agua peptonada

FORMULA

INGREDIENTES CANTIDADES

Peptona 1,0 g

Cloruro de sodio 8,5 g

Agua 1,0 l

Preparación:

Disolver los componentes en un litro de agua.

Ajustar el pH a $7 \pm 0,1$ con hidróxido de sodio 1,0 N.

Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 ml o en cualquier volumen múltiplo de nueve según se requiera.

Esterilizar a $121 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos.

Después de la esterilización, el pH y los volúmenes finales de la solución de trabajo deberán ser iguales a los iniciales.

Si este diluyente no es usado inmediatamente, almacenar en lugar oscuro a una temperatura entre 0 a 5°C por un tiempo no mayor de un mes, en condiciones tales que no alteren su volumen o composición.

6.2 Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 1 ml y 2 ml), con tapón de algodón. Las pipetas pueden ser graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total.

Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca.

Tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca.

Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio deberán esterilizarse mediante:

Horno, durante 2 h a 170 a 175°C o 1 h a 180°C o

Autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$.

El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por esterilización repetida y éste debe ser químicamente inerte.

7. Aparatos e instrumentos

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C.

Autoclave con termómetro y manómetro, calibrada con termómetro de máximas y mínimas.

Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de 0,1°C y que mantenga la temperatura a $45 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Licuada de una o dos velocidades controladas por un reóstato o bien un homogeneizador peristáltico (Stomacher).

Vasos para licuadora con tapa esterilizables o bolsas estériles para homogeneizador peristáltico.

Balanza granataria con sensibilidad de 0,1 g.

8. Procedimiento

8.1 Preparación de la dilución primaria.

8.1.1 A partir de muestras líquidas:

Para muestras líquidas no viscosas (agua, leche, refrescos, etc.) en las cuales la distribución de microorganismos es homogénea o fácilmente homogeneizable por medios mecánicos (agitación, etc.).

Para muestras congeladas de un alimento originalmente líquido o licuable, fundir por completo en baño de agua de 40 a 45°C un tiempo máximo de 15 minutos y homogeneizar agitando vigorosamente.

Para la parte líquida de una muestra heterogénea la cual sea considerada suficientemente representativa de la muestra total (por ejemplo la fase acuosa de grasas animales y vegetales).

8.1.1.1 Agitar la muestra manualmente con 25 movimientos de arriba a abajo en un arco de 30 cm efectuados en un tiempo de 7 segundos. Tomar 1 ml de la muestra y diluir con 9 ml del diluyente el cual debe encontrarse a una temperatura similar a ésta, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.

8.1.1.2 Siempre que la cantidad de muestra lo permita, tomar alícuotas mayores, por ejemplo volúmenes de 10 u 11 ml, diluidos con 90 o 99 ml, de la misma forma que se describió anteriormente

8.1.2 A partir de muestras sólidas o semisólidas.

Las muestras sólidas y semisólidas congeladas, deben descongelarse en refrigeración de 4 a 8°C durante 18 horas y no más de 24 horas antes de proceder a su análisis.

8.1.2.1 Pesar una cantidad de 10 u 11 g de la muestra por analizar en un recipiente o bolsa plástica estériles de tamaño adecuado.

8.1.2.2 Adicionar un volumen de 90 a 99 ml del diluyente llevado a una temperatura similar a la de la muestra.

8.1.2.3 Operar la licuadora o el homogeneizador peristáltico de 1 a 2 minutos hasta obtener una suspensión completa y homogénea según se indique en la técnica correspondiente para cada alimento. Aún en los equipos más lentos, este tiempo no debe exceder de 2,5 minutos.

8.1.2.4 Permitir que las partículas grandes se sedimenten, y transferir la cantidad deseada tomando de las capas superiores de la suspensión.

Cuando la dilución primaria es muy viscosa o pegajosa, adicionar más diluyente, lo cual debe tomarse en cuenta para las operaciones subsecuentes o expresión de resultados.

El homogeneizador peristáltico (Stomacher) puede no ser adecuado para algunos productos (por ejemplo, aquellos con partículas agudas o constituyentes que no se dispersen fácilmente). Debe ser utilizado sólo cuando exista evidencia (publicada o por ensayos comparativos) de que los resultados obtenidos no difieren significativamente con aquellos obtenidos con licuadora.

8.2 Preparación de las diluciones decimales adicionales.

8.2.1 Transferir 1 ml o un múltiplo, por ejemplo, 10 u 11 ml de la dilución primaria 1 + 9 (10^{-1}), en otro recipiente conteniendo nueve veces el volumen del diluyente estéril a la temperatura apropiada, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente.

8.2.2 Mezclar cuidadosamente cada botella de diluyente siempre de la misma manera que se describe en 8.1.1.1.

8.2.3 La selección de las diluciones que se vayan a preparar y de aquellas que se van a inocular, dependen del número esperado de microorganismos en la muestra, con base a los resultados de análisis previos y de la información que se obtenga del personal de inspección que la haya colectado. En ausencia total de información, trabajar con las diluciones de la primera a la sexta.

8.2.4 Utilizar pipetas diferentes para cada dilución inoculando simultáneamente las cajas que se hayan seleccionado. El volumen que se transfiera nunca debe ser menor al 10% de la capacidad total de la pipeta.

8.2.5 Si la pipeta es terminal y se transfiere un volumen de líquido equivalente a su capacidad total, escurrir aplicando la punta de la pipeta una sola vez en una área de la caja Petri sin líquido.

8.2.6 Mientras se afora el líquido de la pipeta, la punta de ésta debe apoyarse en el interior del cuello del frasco y mantenerla en posición vertical, para lo cual este último debe inclinarse lo necesario.

En estudios donde se busca la presencia o ausencia de una determinada especie de microorganismos en 0,1 ml o 0,1 g, no es necesario preparar diluciones mayores.

El criterio para seleccionar las diluciones a preparar de acuerdo con el número de microorganismos esperado es:

Para la técnica del número más probable utilizar tres tubos: donde sea posible demostrar el microorganismo en 10 ml de la dilución más alta.

Para la técnica de cuenta en placa, considerar aquellas en las que se puedan contar de 25 a 250 colonias en un mínimo de una de tres diluciones en el método de cuenta de bacterias aerobias en placa. En el caso de otros grupos microbianos, considerar el número especificado de colonias en la Norma Oficial Mexicana correspondiente.

8.3 Duración del procedimiento.

En general, las diluciones de la muestra deben ser preparadas inmediatamente antes del análisis y éstas deben ser usadas para inocular el medio de cultivo dentro de los 20 minutos posteriores a su preparación.

9. Concordancia con normas internacionales

Esta norma es técnicamente equivalente a la Norma ISO 6887-1983 (E) Microbiology General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination. International Organization for Standardization.

10. Bibliografía

10.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

10.2 Secretaría de Salud. 1984. Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

10.3 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.

10.4 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NOM-008-SCFI-1993. Norma Oficial Mexicana. Sistema General de Unidades de Medida.

10.5 Norma ISO 6887-1983 (E). Microbiology General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination. International Organization for Standardization.

10.6 NORMA-Z-013/02. 1981. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas. (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.)

10.7 Bacteriological Analytical Manual. 1984. Food and Drugs Administration FDA. Bureau of Foods. Division of Microbiology. 6a. Ed. Washington, D.C.

10.8 Vanderzant F., Carland S., y Don F. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association. Washington, D.C.

11. Observancia de la norma

La vigilancia del cumplimiento de la presente norma corresponde a la Secretaría de Salud.

12. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor con su carácter de obligatorio a los 30 días siguientes a partir de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 10 de mayo de 1995.- El Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, José Meljem Moctezuma.- Rúbrica.