

UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTO TORIBIO DE MOGROVEJO
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE ODONTOLOGÍA



**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DOS
DESINFECTANTES UTILIZADOS EN LAS PIEZAS DE
MANO DE ALTA VELOCIDAD DE USO
ODONTOLÓGICO. ESTUDIO IN VITRO**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
CIRUJANO DENTISTA**

Autores: Bach. ANGGY ARLENI ACUÑA ALFARO
Bach. RUTH MERY RODAS SALAZAR
Bach. LEYDI DIANA TORRES ANDAGUA

Chiclayo, 27 de Enero del 2015

**EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DOS
DESINFECTANTES UTILIZADOS EN LAS PIEZAS DE
MANO DE ALTA VELOCIDAD DE USO
ODONTOLÓGICO. ESTUDIO IN VITRO**

POR:

Anggy Arleni Acuña Alfaro

Ruth Mery Rodas Salazar

Leydi Diana Torres Andagua

Tesis presentada a la Escuela de Odontología de la Facultad de
Medicina de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, para
optar el Título de **CIRUJANO DENTISTA**

APROBADO POR:

CD. María Elizabeth Cruz Flores
Presidenta de Jurado

Mgtr. CD. Oscar Orlando Peralta Mendoza
Secretario de Jurado

Mgtr. CD. Mariano Wenceslao Ortiz Pizarro
Vocal/Asesor de Jurado

CHICLAYO, 2015

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen María por habernos acompañado y guiado en nuestra vida, por ser nuestra fortaleza constante y brindarnos una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A nuestros padres por ser excelentes ejemplos a seguir, por apoyarnos incondicionalmente en el trayecto de nuestra vida, convirtiéndose en el principal motor de nuestro esfuerzo y acompañarnos en el transcurso de nuestra principal meta, la cual hoy vemos alcanzada.

A nuestros hermanos por ser parte importante de nuestra vida, por ser nuestros pacientes, mejores amigos, confidentes y hermanos a la vez, por su apoyo en todo momento y además por llenarnos de alegrías y amor siempre.

AGRADECIMIENTO

Gracias a la Mgtr. María Teresa Sánchez Julca, por habernos brindado su amistad, paciencia y apoyo incondicional a lo largo de nuestra formación académica, sobre todo por brindarnos sus conocimientos y asesoría, siendo de gran aporte en el desarrollo del presente estudio de investigación.

Agradecemos al Mgtr. Mariano Wenceslao Ortiz Pizarro y C.D. Alberto Oliver Flores Huamaní, por su asesoría en el área metodológica y por compartir sus conocimientos de forma incondicional, sobre todo gracias por la confianza, apoyo, dedicación y amistad brindada.

Agradecemos a nuestros amigos y compañeros, por formar parte de nuestra vida, dentro y fuera de las aulas universitarias, además de darnos la motivación para seguir adelante y perseverar en nuestro principal objetivo que es la Odontología.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	9
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL.....	13
1.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA.....	13
1.2 BASES TEÓRICO CONCEPTUAL.....	14
1.2.1 Agentes antibacterianos.....	14
1.2.2 Microbiota oral.....	18
1.2.3 Identificación fenotípica bacteriana.....	21
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	30
2.1.1 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.....	30
2.1.2 Población, muestra de estudio y muestreo.....	30
2.1.3 Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	30
2.1.4 Técnicas de procesamiento de datos.....	33
2.1.5 Aspectos éticos de la investigación.....	33
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
DISCUSIÓN.....	40
.....	
CONCLUSIONES.....	44
....	
RECOMENDACIONES.....	45
....	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXOS.....	49

LISTA DE TABLAS

Tabla N°1. Efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70% utilizado en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico.....	34
Tabla N°2. Efectividad antimicrobiana in vitro del glutaraldehído al 2% utilizado en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico.....	35
Tabla N°3. Presencia de <i>Streptococcus sp.</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad después del uso de los desinfectantes.....	36
Tabla N°4. Efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70% y del glutaraldehído al 2% utilizados en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico.....	37

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70% y del glutaraldehído al 2 % utilizados en las superficies externas de las piezas de mano de alta velocidad. El diseño del estudio fue pre-experimental. La muestra estuvo conformada por 21 piezas de mano pertenecientes a los alumnos de la asignatura de Odontología Restauradora II. Todas las piezas fueron esterilizadas en autoclave, divididas aleatoriamente en 3 grupos proporcionales, siendo estos: grupo para equivalencia de las muestras, grupo desinfectado con alcohol al 70% y grupo desinfectado con glutaraldehído al 2%. Las muestras obtenidas del primer grupo se sembraron en agar tripticasa soya donde no se observó microorganismos por unidades formadoras de colonias. Las muestras obtenidas de los grupos experimentales fueron sembradas en agar tripticasa soya antes y después del uso de los desinfectantes, para determinar la efectividad antimicrobiana in vitro de estos, por último las muestras obtenidas después del uso de los desinfectantes fueron sembradas en agar sangre y agar manitol salado para detectar la presencia de *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* respectivamente. Los resultados se analizaron mediante la prueba estadística Wilcoxon y Mann Withney, leídas al 95% de confiabilidad. El estudio concluyó que la desinfección con alcohol al 70% sobre la superficie externa de las piezas de mano tuvo mayor efectividad antimicrobiana in vitro que la desinfección con glutaraldehído al 2%, además se evidenció presencia de *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* en la superficie externa de las piezas de mano después del uso de los desinfectantes.

Palabras claves: Desinfectantes, Bacterias, Efectividad.

(Fuente: Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS))

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the in vitro antimicrobial effectiveness of alcohol 70 % and 2% glutaraldehyde used in the external surfaces of the handpieces high speed. The study design was pre - experimental. The sample consisted of 21 pieces of hand belonging to the students of the subject of Restorative Dentistry II. All the pieces were sterilized by autoclaving, randomly divided into 3 groups proportional, these being: group equivalence of the samples, group disinfected with 70% alcohol group and disinfected with 2% glutaraldehyde. The obtained samples of the first group were plated in trypticase soy agar where no microorganism by colony forming units was observed. Samples obtained from the experimental groups were seeded into Trypticase Soy Agar before and after the use of disinfectants, to determine the antimicrobial effectiveness in vitro of these finally the samples obtained after the use of disinfectants were plated on blood agar and agar mannitol salt for the presence of Streptococcus sp. and Staphylococcus aureus respectively. The results were analyzed using the Wilcoxon and Mann Whitney statistical test, read at 95% confidence. The study concluded that disinfection with 70% alcohol on the outer surface of the handpieces had greater antimicrobial effectiveness in vitro disinfection with 2% glutaraldehyde, further revealed the presence of Streptococcus sp. and Staphylococcus aureus on the outer surface of the handpiece after use of disinfectants.

Key words: Disinfectants, Bacteria, Effectiveness.

(Source: Descriptors in Health Sciences (Desc))

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal está constituida por numerosos microorganismos asociados a los tejidos, conformando un ecosistema, cuando estos se encuentran en equilibrio se denomina eubiosis, sin embargo cuando se altera este medio, estaremos propensos a enfermedades bucales¹.

En la práctica odontológica tanto el operador, paciente como asistente se encuentran expuestos a una diversidad de microorganismos, siendo propensos a infecciones cruzadas, a través de contacto directo con sangre, secreciones e instrumentos contaminados^{1,2}.

Cuando un instrumento entra en contacto directo con la cavidad bucal está expuesto a múltiples microorganismos por lo cual debe ser esterilizado o desinfectado, para volver a utilizarlo en el próximo paciente, teniendo la certeza de trabajar en un ambiente adecuado^{1,3,4}.

Los instrumentos semicríticos son aquellos que no penetran la mucosa pero pueden estar en contacto con ella o expuesta a la saliva, sangre u otros fluidos siendo más susceptibles a las formas vegetativas de las bacterias, virus y micobacterias. La pieza de mano de alta velocidad es considerada un instrumento semicrítico, por lo tanto debe estar libre de microorganismos que alteren la eubiosis de la cavidad bucal siendo necesaria su esterilización. Teniendo en cuenta que las piezas de mano no pueden ser sometidos a esterilización por calor seco, debido a los posibles daños de los mecanismos internos que este posee, además el tiempo que tomaría este proceso es muy largo para realizarlo entre pacientes, por lo tanto el Ministerio de Salud (MINSA) recomienda que estos sean sometidas mínimamente a desinfección, existiendo alternativas como es el lavado con detergentes, soluciones

antisépticas o desinfección con alcohol, siendo de gran ayuda para su uso entre pacientes^{1,4}.

La American Dental Association (ADA) recomienda considerar a todos los pacientes que acuden al consultorio dental como portadores de agentes infecciosos, considerándose a la pieza de mano de alta velocidad como principal contribuyente en el aumento del riesgo de infecciones cruzadas debido al alto grado de contaminación a la que son expuestas, recomendando su esterilización en autoclave o por lo menos la desinfección antes de su uso^{1,5}.

Los protocolos de bioseguridad deben ser aplicados en todos los tratamientos odontológicos para evitar la contaminación cruzada entre pacientes, sin embargo si estos protocolos no son debidamente realizados en instrumentos y equipos odontológicos el riesgo de contaminación cruzada se incrementa, lo cual puede afectar a todas las personas involucradas en la atención odontológica.

El grado de contaminación de las piezas de mano de alta velocidad es frecuente, ya que diversos microorganismos se adhieren a su superficie durante los tratamientos odontológicos, como ha sido demostrado en diversos estudios de investigación a nivel nacional e internacional, los cuales han comparado la efectividad de distintos desinfectantes para su descontaminación^{1,2}.

El proceso de esterilización del instrumental odontológico es realizado previo a la atención de los pacientes que acuden a la Clínica Santa Apolonia de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, sin embargo las piezas de mano de alta velocidad no son esterilizadas entre pacientes debido a que no se cuenta con el número suficiente de estas, así como el tiempo que se necesita

para ello, por lo cual los estudiantes de Odontología realizan la desinfección sin contar con un protocolo adecuado para este proceso.

Por lo mencionado anteriormente se hace necesario la aplicación de un protocolo de desinfección de las piezas de mano de alta velocidad con la finalidad de evitar infecciones cruzadas entre pacientes.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70 % y del glutaraldehído al 2 % utilizado en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70% utilizado en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico.

Determinar la efectividad antimicrobiana in vitro del glutaraldehído al 2% utilizado en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico.

Detectar la presencia de *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad después del uso de los desinfectantes.

JUSTIFICACIÓN

A nivel regional no se conoce trabajos de investigación al respecto, siendo necesaria su investigación, para conocer el grado de contaminación bacteriana y el uso de agentes desinfectantes adecuados para una mejor descontaminación.

La investigación se justifica desde el punto de vista teórico pues aporta conocimientos sobre la efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70% y del glutaraldehído al 2% utilizados en las superficies externas de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico mediante el recuento de microorganismos por unidades formadoras de colonias, además se detectó la presencia de *Streptococcus sp*, y *Staphylococcus aureus* después de la desinfección.

Desde el punto de vista práctico, se dio a conocer cuál de los dos desinfectantes utilizados en el presente estudio es el más efectivo para ser implementado dentro de los protocolos de desinfección y en lo social, beneficiará a todos los pacientes que acuden a la Clínica Santa Apolonia de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo reduciendo el riesgo de infecciones cruzadas.

El propósito del presente estudio es determinar la efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70% y del glutaraldehído al 2% utilizados en las superficies externas de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

1.1. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Reyes *et al.*¹ realizaron un análisis microbiológico antes y después de la utilización de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. Se utilizaron 16 piezas de mano esterilizadas en autoclave y se tomó una al azar como grupo control siendo sembradas en agar sangre observándose ausencia de microorganismos en este grupo. Las muestras obtenidas de las piezas de mano antes de su uso, mostraron presencia de *Staphylococcus epidermidi*, *Staphylococcus aureus*, beta hemolítico y luego de ser desinfectadas con glutaraldehído al 2%, hipoclorito de sodio al 5% y alcohol al 70%, las muestras se redujeron en un 82%, 44% y 86% respectivamente. Concluyendo que el método óptimo para esterilizar las piezas de mano de alta velocidad luego de su uso y sin deteriorarla es el autoclave.

Mejía² analizó las superficies externas de 10 piezas de mano de alta velocidad evaluados antes y después de su uso, encontrando microorganismos no fermentadores antes de su uso y *Streptococcus sp*, *Staphylococcus coagulasa* negativo y los no fermentadores después de su uso, mientras que no se encontró *Pseudomona aeruginosa* en ninguna de las muestras.

Gutiérrez *et al.*⁶ realizaron una investigación, en la cual evaluaron la acción de tres desinfectantes (glutaraldehído, hipoclorito de sodio y cloruro de benzalconio) frente a superficies susceptibles con mayor

contaminación bacteriana en unidades dentales de uso continuo, comparando la población bacteriana antes y después de la desinfección. Se seleccionaron tres superficies (jeringa triple, sillón odontológico, escupidera). Los microorganismos encontrados fueron similares para todas las unidades dentales, con prevalencia de Gram negativos no fermentadores, seguido de fermentadores, Gram positivos y esporulados. En el estudio concluyeron que el glutaraldehído al 2%, logró la mayor eliminación de microorganismos por el protocolo de desinfección, seguido de hipoclorito de sodio al 0,5 % y cloruro de benzalconio al 1%.

Zeceña⁷ realizó un análisis cualitativo y descriptivo de los métodos de desinfección usados en clínicas privadas de la ciudad de Guatemala, para ello elaboró un cuestionario el cual fue llenado en 70 clínicas dentales privadas, concluyendo que el glutaraldehído al 2% da una buena esterilización y desinfección siempre y cuando se use durante el tiempo recomendado. El autoclavado es el mejor método para la esterilización de instrumental quirúrgico. Es común el uso de alcohol por medio de frotado tanto en piezas de mano como en contraángulo, por un tiempo indeterminado para la desinfección de las mismas. A pesar de que en muchas clínicas se realizan procesos de esterilización y desinfección, estos son inadecuados e ineficaces.

1.2. BASES TEÓRICO CONCEPTUAL

1.2.1. Agentes antibacterianos

1. Desinfección

Puede determinar la eliminación o la muerte de los agentes infecciosos o contaminantes, pero no asegura la desaparición de todos los

microorganismos patógenos, ni de esporas presentes sobre materiales inertes⁸.

2. Desinfectantes

Son agentes que se emplean sobre objetos inanimados o medios inertes. Para la Food and Drug Administration (FDA), los desinfectantes son sustancias químicas capaces de destruir los gérmenes depositados sobre el material inerte, debiendo alterar lo menos posible el sustrato en el que actúan⁸.

La eficacia de los desinfectantes es determinada por aspectos, como la naturaleza del objeto, número y grado de resistencia de los microorganismos contaminantes, cantidad de materia orgánica presente, tipo de desinfectante, concentración utilizada, duración y temperatura de exposición⁹.

2.1. Alcohol al 70%

El alcohol es un líquido incoloro y transparente, libre de sedimento de partículas en suspensión y de material extraño. Volátil, inflamable, higroscópico y miscible en agua, diclorometano y cloroformo⁹.

El mecanismo de acción de los alcoholes es la desnaturalización de las proteínas de los microorganismos en presencia de agua; por este motivo el alcohol absoluto presenta un poder bactericida mucho menor que las mezclas de alcoholes con agua. Podría tener cierta acción bacteriostática al inhibir la producción de metabolitos esenciales para la división celular rápida⁹.

El alcohol al 70% es bactericida de potencia intermedia, activo frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, incluyendo patógenos

multirresistentes *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, también es activo frente a microorganismos, hongos y virus y no tiene actividad esporicida⁹.

MINSA recomienda que el instrumental odontológico debe ser sumergido en alcohol al 70% durante 20 minutos, sin embargo las piezas de mano no pueden ser sumergidas, debiendo ser limpiadas cuidadosamente frotándolas con un paño con detergente y agua para remover el material adherido, además debe ser secado y limpiado con una gasa o algodón embebido en un germicida químico como alcohol al 70%, los equipos de ultrasonido y la jeringa triple deben ser tratados de manera similar entre pacientes. Luego de la desinfección, cualquier residuo químico debe de eliminarse con agua estéril o agua hervida fría⁴.

2.2. Glutaraldehído al 2%

Es un desinfectante de alto nivel, A 20°C inactiva bacterias, hongos, virus y micobacterias, esta solución es aplicada durante 30 minutos. Es efectiva como desinfectante y en aplicaciones de 10 a 12 horas se puede utilizar como esterilizante, aunque su acción micobactericida es relativamente lenta, por lo que es adecuado para desinfectar materiales semicríticos como endoscopios, instrumentos dentales, elementos de terapia respiratoria, equipos de anestesia y otros instrumentos de goma o plástico que no se pueden descontaminar con calor. Actúa afectando las lipoproteínas de la membrana celular y el citoplasma de las formas bacterianas vegetativas, altera el sistema enzimático, el daño en la membrana permite la salida de sustancias intracelulares, facilitando la entrada directa del desinfectante al citoplasma^{10,11}.

En la práctica diaria, el glutaraldehído al 2% no es un producto que presente una especial peligrosidad, ya que tiene una tensión de vapor muy baja siendo poco volátil. Así mismo es de baja irritabilidad y toxicidad pero

puede tener algunos efectos tóxicos en el personal que lo maneje inadecuadamente^{11,12}.

Algunas publicaciones indican que no es corrosivo para los metales, gomas y lentes, mientras que otras indican presencia de corrosión a largo plazo. Se debe evitar la corrosión por contacto, debido a la presencia de dos metales diferentes frente a un conductor como el agua recomendándose no mezclar acero inoxidable con el instrumental de níquel, no indicado en la limpieza de superficies no críticas, debido a su toxicidad y alto costo¹².

Los objetos sometidos a desinfección con glutaraldehído al 2% deberán ser previamente limpiados en forma manual con guantes y protección ocular. La limpieza manual se realiza cepillando la superficie de los instrumentos con cepillos duros no metálico, bajo chorro de agua fría, no se debe usar agua a más de 45° centígrados, pues coagula la albúmina y hace más difícil la limpieza, además las superficies no deben frotarse con polvos limpiadores domésticos, abrasivos, lana de acero, esponjas de metal, cepillos de alambre; porque éstos rayan los metales aumentando las posibilidades de corrosión¹².

3. Descontaminación del instrumental odontológico:

Los instrumentos y equipos de Odontología se pueden dividir en tres categorías:

3.1. Riesgo Alto: Son aquellos instrumentos que están contaminados con sangre, el método de elección es la limpieza seguida de la esterilización por medio de calor seco en una hora a 171°C, o por dos horas a 160°C, además se puede utilizar desinfección química en instrumentos sensibles al calor, siendo el método de esterilización recomendado para estos instrumentos odontológicos el calor húmedo a 121° C por 15 minutos¹⁰.

3.2. Riesgo Medio: Son aquellos instrumentos que están en contacto con la membrana de la mucosa de la cavidad oral, como las unidades de fotopolimerización, que no pueden esterilizarse, pero deben protegerse antes de ser usados. En los instrumentales de riesgo medio reutilizables, el medio apropiado de descontaminación es la limpieza seguido de la desinfección de alto nivel¹⁰.

3.3. Riesgo Bajo: Incluyen los instrumentos, equipos y superficies del consultorio dental que entran en contacto con la piel sana e intacta del paciente, para estos objetos la limpieza es suficiente, sin embargo la desinfección puede ser necesaria si existe algún riesgo conocido de infección. Los objetos de bajo riesgo incluyen manijas y superficies como son los pisos, paredes y lavados¹⁰.

La pieza de mano de alta velocidad conectada al sistema de agua y aire de la unidad dental debe ponerse a funcionar para su descarga por lo menos 30 segundos fuera de la boca del paciente. Se debe limpiar el exterior de la pieza de mano utilizando detergente con agua, si el fabricante lo recomienda, lubricar la pieza de mano y luego esterilizarla en autoclave¹⁰.

1.2.2. Microbiota oral

La cavidad bucal es considerada un ambiente donde sus propiedades influyen en la composición y la actividad de los microorganismos que en ella se encuentran. Las distintas interacciones ecológicas de la cavidad bucal son las que determinan las características cualitativas y cuantitativas de la totalidad de su microbiota, en los distintos nichos ecológicos y en las distintas situaciones de salud y enfermedad^{8,13}.

Cada superficie dentaria y unión dentogingival constituye un nicho ecológico distinto, encontrándose elementos del sistema inmune

específicos e inespecíficos capaces de guiar la acción de los microorganismos presentes, limitar la colonización microbiana e impedir la penetración de sustancias nocivas a los tejidos evitando futuros daños⁸.

El desarrollo de la comunidad de microorganismos orales implica una sucesión de poblaciones, se inicia con la colonización de microorganismos pioneros y a estos se suman una diversa y compleja comunidad microbiana, convirtiéndose la cavidad oral en un nicho ecológico con mayor biodiversidad^{8,13}.

Hasta el año 2009, se calculó unas 700 especies microbianas habitantes. La microbiota asociada a un periodonto sano está formada principalmente por bacterias grampositivos en un 85% en especial de cocos y un 75% de anaerobios facultativos. Los estudios microbiológicos generalmente concuerdan en que los microorganismos que predominan en el surco gingival sano son grampositivos, constituidas por especies de *Streptococcus* y *Actinomices*. Los bacilos gramnegativos y las espiroquetas están presentes en bajo número o no se detectan dentro de la microbiota de un surco sano⁸.

La caries dental y las enfermedades gingivoperiodontales son una problemática de salud pública a nivel mundial, la naturaleza infecciosa de estas patologías y el reconocimiento e identificación de las características específicas de los microorganismos y del biofilm ha permitido determinar un mejor entendimiento frente a la posibilidad de desarrollar estas enfermedades^{8,13}.

Las bacterias mencionadas a continuación, son de interés ya que predomina en la biopelícula de la cavidad bucal, tanto en la salud como en la enfermedad, formando parte de la etiopatogenia de la caries dental y las enfermedades periodontales, estas son:

1. *Streptococcus sp.*

Son microorganismos albergados en gran número dentro de la cavidad bucal, estos pueden provocar distintas patologías debido a sus productos o por ser altamente resistentes a la fagocitosis^{8,13}.

Poseen forma esférica y se encuentran agrupados en cadenas de longitud variable, son grampositivos y no esporulados, carecen de flagelos, presentan prolongaciones extracelulares del tipo de fimbrias y pueden tener cápsula. Son catalasa negativos, se comportan como anaerobios facultativos o estrictos. Pueden clasificarse según su hemólisis esto quiere decir según la capacidad que tienen para lizar los glóbulos rojos, poniéndose de manifiesto al sembrarlo en agar sangre^{8,13}.

- a. Cuando se produce un halo incoloro alrededor de la colonia debido a una hemólisis total de los glóbulos rojos, se denomina estreptococos β -hemolíticos.
- b. Cuando se produce un halo de color verdoso debido a una hemólisis parcial, se denomina α - hemolíticos o viridans.
- c. Cuando no se producen cambios se denominan gamma- hemolíticos.

Los *Streptococcus* son especies residentes de la boca, se encuentran aumentadas en la saliva de los niños. Algunas cepas son altamente patógenas, otras se comportan como comensales^{8,13}.

2. *Staphylococcus*

Son cocos grampositivos de 0,5 a 1,5 μ m de diámetro, presentan agrupaciones irregulares que se asemejan a racimos de uvas, considerados microbios no esporulados más resistentes e inmóviles. Estos gérmenes pueden tolerar bastante bien la desecación, el calor, las altas

concentraciones salinas e incluso algunos antisépticos. Son aerobios o anaerobios facultativos catalasa positivos, coagulasa negativo, se desarrollan bien en diferentes medios de cultivo con una amplia variación térmica, fermentan azúcares con producción de ácido láctico^{8,14}.

Posee muchas especies patógenas, en condiciones de salud no suelen encontrarse en la cavidad bucal, comportándose como biota transeúnte o como patógeno oportunista. Están ampliamente distribuidas en la naturaleza, sobre todo en la piel, glándulas cutáneas y las mucosas, tractos intestinal y genitourinario, y el aparato respiratorio superior. En la actualidad, el género comprende 35 especies y 17 subespecies, muchas de las cuales se encuentran en el ser humano^{8,14}.

2.1. *Staphylococcus aureus*

Es la especie más representativa y aislada de las infecciones humanas, único estafilococo coagulasa positivo, capaz de asociarse a infecciones endodónticas, periodontales, periapicales e infecciones supurativas de las glándulas salivales, debajo de prótesis y en pacientes inmunocomprometidos. Se ha aislado principalmente de saliva y de la biopelícula supra y subgingival^{8,14}.

Esta especie es un patógeno hospitalario muy temido, porque es responsable de altas tasas de morbimortalidad. Es capaz de producir un gran número de infecciones, localizadas o diseminadas, que pueden afectar a cualquier órgano o tejido con una gravedad variable^{8,14}.

Dentro de los cultivos de *S. aureus* es difícil reconocer la producción de un pigmento amarillo dorado debido a los pigmentos carotenoides que se forman durante su crecimiento, dándole el nombre a la especie, además, la capacidad de fermentar manitol y segregar coagulasa permite su identificación^{8,14}.

1.2.3. Identificación fenotípica bacteriana

Consiste en determinar el grupo al que pertenece una bacteria según una clasificación dada, basándose en las características macroscópicas de las colonias y morfología microscópica, agrupación y reacción tintorial así como la comparación de estas características con los diferentes géneros y especies de la clasificación considerada. Dentro de los diversos sistemas que pueden ser utilizados para la identificación existen los métodos convencionales, las pruebas bioquímicas y genotípicas⁸.

1. Características macroscópicas

La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y para la diferenciación de los microorganismos. Es muy importante el aislamiento de las bacterias ya que ésta debería estar compuesta por un solo tipo de microorganismos. Las colonias de una única especie, cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones idóneas se describen por sus características de tamaño, forma, consistencia, y a veces por su color. El tamaño de las colonias bacterianas es generalmente uniforme entre una misma especie¹⁵.

1.1. Siembra microbiana:

Consiste en colocar un microorganismo en un ambiente artificial apropiado para que lleve a cabo su metabolismo, desarrollo y reproducción. Es decir en un medio de cultivo para crecimiento bacteriano⁸.

1.2. Valoración del crecimiento bacteriano:

a. Cuantitativo: La valoración microbiana de los cultivos cuantitativos se inicia con la evaluación de la tinción Gram, tras la incubación se procede a la valoración de los aislamientos en los medios de cultivo. Se estudia fundamentalmente en medios de cultivo líquido¹⁶.

b. Cualitativo: Cuando una célula bacteriana se siembra en la superficie de un medio sólido se multiplica in situ dando lugar a un acúmulo de bacterias visible a simple vista que se denomina colonia que contiene millones de células. El tamaño varía desde puntiforme hasta varios milímetros de diámetro¹⁷.

1.3. Aislamiento bacteriano

Al sembrar el material proveniente de una muestra por lo general se obtiene un cultivo que contiene más de una clase de gérmenes, del cual es imprescindible separar los distintos tipos de colonias para obtener cultivos puros⁸.

La siembra del material clínico se efectúa con el asa bacteriológica sobre la superficie del agar contenida en una placa petri, por la técnica de agotamiento, que permitirá separar las diferentes bacterias de la mezcla. Las placas se llevan a la estufa y durante la incubación, generalmente de 18 a 24 horas, cada bacteria depositada sobre el agar se multiplica, dando lugar a unos agregados de millones de bacterias que forman las colonias, cuyo tamaño es de varios milímetros, por lo que son visibles a simple vista. Las bacterias que al final del recorrido del asa quedaron en el agar separadas entre sí dan lugar a colonias perfectamente separadas, aisladas, constituidas cada una de ellas por bacterias del mismo tipo. Al observar las colonias en los medios de cultivo debe evaluarse su tamaño, su forma, la

textura, el brillo de la superficie y el aspecto de sus bordes, lo que permitirá constatar si existe un solo tipo de colonia o más de uno⁸.

1.4. Métodos de aislamiento:

a. Siembra por agotamiento por estrías: Consiste en reseguir en zigzag la superficie del medio con el asa de siembra microbiana previamente cargada con el material a sembrar. Las células bacterianas se van depositando sobre la superficie del agar a lo largo del recorrido del asa, al final del cual quedan pocas bacterias, por lo que se depositan muy separadas unas de otras⁸.

b. Siembra por diseminación en superficie: Consiste en colocar 0.005 ml del inóculo en el centro de una placa petri con medio de cultivo⁸.

c. Siembra de diluciones seriadas: Consiste en realizar diluciones sucesivas de la muestra con el objetivo de sembrar cantidades conocidas de esas diluciones en placas petri. Esto permite conocer el número de microorganismos viables⁸.

1.5. Medios de cultivo

Un medio de cultivo es una solución equilibrada de todos los nutrientes y factores de crecimiento necesarios para el desarrollo y multiplicación de los microorganismos en el laboratorio. El aislamiento de las bacterias por cultivo permite su posterior identificación⁸.

a. Medios de cultivo generales

➤ Agar Tripticasa Soya (TSA)

Compuesto por tripticasa, soja y agua destilada. Contiene 2 peptonas ricas en fuentes de nitrógeno, obtenidas por la hidrólisis enzimática de caseína y

soja, este medio permite el desarrollo óptimo de un gran número de microorganismos, tanto exigentes como no exigentes. La Peptona de soja contiene azúcares naturales que promocionan el crecimiento bacteriano. El cloruro sódico mantiene el balance osmótico, la sangre aporta factores de crecimiento extras para el crecimiento. El agar bacteriológico es el agente solidificante. La falta de carbohidratos es muy útil en el estudio de reacciones hemolíticas. Se utilizan como tales o como base para preparar medios especiales^{15,18}.

➤ Agar Sangre

Compuesto por extracto de carne, peptosa, sangre, agar y agua destilada. Lleva como base agar nutritivo, al que se añade sangre desfibrilada en una proporción del 5-10%. La sangre se añade al agar esterilizado y enfriado a 45-50°C (sobrefusión), evitando la formación de burbujas. Se prefiere la sangre de carnero, conejo y caballo, que ofrece buenas reacciones hemolíticas. La sangre humana procedente de banco que tiene el inconveniente de contener citrato, que puede inhibir el crecimiento de algunos microorganismos, y glucosa que falsea las reacciones de hemólisis, aparte de antimicrobianos. Este medio es adecuado para la actividad y aislamiento de microorganismos exigentes, así como para estudiar la actividad hemolítica. En él crecen la mayoría de las bacterias patógenas y algunas levaduras. El *Staphylococcus aureus* en agar sangre originan colonias que miden aproximadamente de 1 a 3 mm de diámetro a las 24 horas, son de borde entero, blanquecinas, la mayoría de ellas presentan un pigmento dorado, de superficie lisa, brillantes, cremosas, elevadas o ligeramente convexas y se agrupan generalmente en racimos. Los *Streptococcus mutans* dan colonias puntiformes, pequeñas y grisáceas^{15,18}.

b. Medios de cultivo selectivos

Cuando de una mezcla bacteriana interesa aislar específicamente un solo tipo de bacteria que está en escasa cantidad, es recomendable utilizar medios selectivos. Dichos medios permiten el crecimiento de esa bacteria, inhibiendo al resto de las existentes en la muestra¹⁵.

➤ Agar Manitol Salado (Chapman)

Compuesto por extracto de levadura, triptona, gelatina, manitol, sulfato amónico, sulfato dipotásico, rojo fenol, agar y agua destilada. Es un medio altamente selectivo y diferenciador de los géneros *Estafilococos* y *Micrococos* por su alta concentración salina. El CINa a alta concentración (7,5%) actúa como inhibidor y no permite el crecimiento de ningún otro microorganismo excepto algunas cepas del género *Bacillus* y *Vidrio*. El manitol es un hidrato de carbono fermentable que genera ácido y ocasiona el viraje del indicador de pH del rojo fenol al amarillo, permitiendo así una mayor claridad de las colonias de *Staphylococcus aureus* fermentadoras de este azúcar, diferentes de las colonias blancas de la mayoría de las otras especies. Los *Estafilococos* coagulasa positiva fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color, no fermentan el manitol, se visualizan como colonias rojas, rodeadas de una zona del mismo color o púrpura. Las colonias de *Staphylococcus aureus* normalmente crecen en medios usuales y con elevadas concentraciones de sal 7,5%. Se diferencia por fermentar el manitol generalmente¹⁸.

2. Características microscópicas

El estudio microscópico en fresco y tras tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño. Las tinciones más utilizadas e imprescindibles son la del azul de metileno y la de Gram. La tinción de Gram es a menudo, la primera herramienta de la que nos

servimos para hacer un diagnóstico provisional en el proceso de identificación de la mayoría de las bacterias¹⁵.

Algunos de los términos utilizados para preparaciones teñidas son:

- Tinción: uniforme, irregular, unipolar, bipolar, etc.
- Forma: cocos, bacilos, cocobacilos, filamentosos, bacilos curvos, etc.
- Cápsula: presente o ausente.
- Endosporas: ovales, esféricas, terminales, subterminales.
- Tamaño: cortos, largos, etc.
- Bordes laterales: abultados, paralelos, cóncavos, irregulares.
- Extremos: redondeados, puntiagudos.
- Disposición: parejas, cadenas, tétradas, racimos, etc.
- Formas irregulares: variación en forma y tamaño, ramificados, fusiformes, etc¹⁵.

2.1. Tinción Gram

Esta tinción, además de facilitar la observación de las bacterias, permite diferenciarlas en dos grupos: Gram positivas y Gram negativas. En la primera parte de la tinción, la preparación se baña con violeta de genciana, quedando todas las bacterias teñidas de color violeta ultramar intenso. Al cubrirse posteriormente la preparación con una mezcla de alcohol y acetona algunas bacterias conservan dicha coloración, mientras que otras se decoloran y la pierden totalmente. Las que conservan la coloración violeta se denominan Gram positivas, y las que la pierden, Gram negativas^{17,18}.

En la segunda parte de la tinción se hace actuar un colorante que contraste notablemente con el primero para teñir las bacterias Gram negativas que han quedado decoloradas. Si se utiliza la fucsina diluida o la safranina, adquieren el color rosado. El carácter Gram positivo (violeta intenso) o

Gramnegativo (rosa suave) de las bacterias depende de la estructura de su pared. La pared de las Gram negativas es más delgada y presenta un contenido lipídico diez veces mayor que el de las Gram positivas, lo cual dificulta la tinción y la retención del colorante en el citoplasma^{17,18}.

La tinción Gram es la más utilizada de todas las tinciones bacteriológicas, ya que permite visualizar la mayoría de las bacterias. La tinción consigue:

- a. Facilitar la observación nítida de las bacterias, y por lo tanto, su diferenciación en formas redondeadas, denominadas cocos, y formas alargadas, denominadas bacilos.
- b. Su clasificación en función de su aptitud tintórea en Gram positivas y Gram negativas^{17,18}.

Su uso está particularmente indicado para orientar las técnicas de cultivo y como primer paso para la identificación bacteriana^{17,18}.

1.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

1.1. Efectividad antimicrobiana

Potencial de acción que posee una sustancia antiséptica/desinfectante para producir la muerte o inhibir el crecimiento de microorganismos sobre un material inerte o vivo¹⁹.

1.2. Desinfectante

Agente físico o químico que es efectivo reduciendo la contaminación microbiana en las superficies con las cuales tiene contacto, este debe ser capaz de reducir un 99.9% de los microorganismos patógenos o inaceptables, y reducir otros microorganismos a un nivel mínimo aceptable. Algunos desinfectantes químicos son bactericidas, actúan

matando las formas vegetativas bacterianas, pero no las esporas. Otros son bacteriostáticos que inhiben el crecimiento de las formas vegetativas²⁰.

1.3. Identificación bacteriana

Consiste en determinar el grupo que pertenece una bacteria según una clasificación dada, basándose en las características macroscópicas de las colonias, morfología microscópica, agrupación y reacción tintorial, y la comparación de estas características con los diferentes géneros y especies de la clasificación considerada. Dentro de los diversos sistemas que pueden ser utilizados para la identificación existen los métodos convencionales, las pruebas bioquímicas y genotípicas²¹.

1.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADOR	TIPO		ESCALA
			Naturaleza	Característica	
Efectividad Antimicrobiana		Diferencia entre el número total de unidades formadoras de colonias presentes antes y después de la desinfección.	Cuantitativa	Numérica discreta	De razón
Desinfectantes	Alcohol Glutaraldehído	Porcentaje de Pureza	Cualitativa	Categórica	Nominal
Identificación Bacteriana	<i>Streptococcus</i> <i>sp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Medios de cultivo: Agar sangre Agar manitol salado	Cualitativa	Categórica	Nominal

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

2.1.1. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

El tipo de investigación de acuerdo a su finalidad es básica y de acuerdo al diseño es pre-experimental.

2.1.2. Población, muestra de estudio y muestreo

Grupo de estudio

Conformado por 21 piezas de mano de alta velocidad pertenecientes a los alumnos de la asignatura de Odontología Restauradora II, en la Clínica Santa Apolonia de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.

Criterios de selección

- Piezas de mano de alta velocidad con 2 o 3 salidas de agua y aire.
- Piezas de mano de alta velocidad de superficie externa lisa.

2.1.3. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

1. Prueba piloto

Se realizó la estandarización de criterios de los investigadores, gracias a la capacitación y participación de un especialista del área (M.T.S.J) presente durante la fase experimental, además se verificó las condiciones de la aplicación, procedimientos y modificaciones necesarias durante el estudio.

2. Métodos

2.1. Obtención

Para la obtención de las piezas de mano de alta velocidad se solicitó la autorización del estudiante de Odontología. (Ver anexo 1)

2.2. Distribución

La muestra del estudio fue rotulada con fecha, hora y número de serie, luego se procedió a la esterilización en autoclave y por último se hizo la división en tres grupos proporcionales y de forma aleatoria.

a. Primer grupo: Conformado por un tercio de la población muestral de las piezas de mano de alta velocidad, seleccionadas al azar, las cuales fueron rotuladas indicándose a que grupo pertenecen. Este grupo nos sirvió para asegurar la equivalencia de las muestras.

b. Segundo grupo: Conformado por un tercio de la población muestral de las piezas de mano de alta velocidad, seleccionadas al azar para ser desinfectadas con alcohol al 70%, las cuales fueron rotuladas indicándose a que grupo pertenecen.

c. Tercer grupo: Conformado por un tercio de la población muestral de las piezas de mano de alta velocidad, seleccionadas al azar para ser desinfectadas con glutaraldehído al 2%, las cuales fueron rotuladas indicándose a que grupo pertenecen.

3. Técnicas

Se realizó la técnica de observación directa; las 21 piezas de mano de alta velocidad, fueron lavadas con detergente, cepilladas, enjuagadas a chorro de agua, secadas con papel toalla y luego esterilizadas en autoclave a 121°C por 15 minutos por 15 libras de presión en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo. El total de piezas de mano fueron divididas en tres grupos proporcionales y al azar, la selección del primer grupo nos sirvió para asegurar la equivalencia de las muestras, el segundo grupo fue desinfectado con alcohol al 70% y el tercer grupo fue desinfectado con glutaraldehído al 2%, cada pieza de mano que conformó el primer grupo fue desempaquetado y tomado con guantes estériles a nivel del mango de la pieza para luego realizar la siembra en Agar Trypticase Soya por agotamiento en estría para la cuantificación microbiana, este procedimiento se realizó frente a un mechero. Cada pieza de mano que conformó el segundo y tercer grupo fue entregado a cada estudiante para su respectivo uso en la Clínica Odontológica Santa Apolonia de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, tomando las medidas de bioseguridad necesarias.

El estudiante accionó la pieza de mano fuera de la boca del paciente para eliminar los microorganismos existentes en los conductos de salida de agua y aire de la unidad dental, se les indicó a los paciente enjuagarse con un colutorio a base de solución de gluconato de clorhexidina al 0.12% por 1 minuto para disminuir la flora microbiana oral y proceder con el tratamiento respectivo.

Al finalizar con el tratamiento, el estudiante entregó la pieza de mano de alta velocidad al personal investigador y éste lo recibió con guantes estériles para luego realizar la siembra en Agar Trypticase Soya por agotamiento en estría para la cuantificación microbiana, este procedimiento se realizó frente a un mechero.

Las piezas de mano del segundo grupo fueron desinfectadas usando gasas estériles embebidas en alcohol al 70%, frotando la superficie externa por un tiempo de 20 minutos, luego de realizar la desinfección se procedió a enjuagar las piezas de mano de alta velocidad con agua hervida fría contenida en un aspersor, facilitando así la remoción del desinfectante, y se secó con papel toalla, según el protocolo de bioseguridad establecidos por MINSA.

Las piezas de mano del tercer grupo fueron desinfectadas sumergiéndolas en recipientes estériles conteniendo 120 ml de glutaraldehído al 2% por 30 minutos, luego fueron retiradas del desinfectante para proceder a enjuagarlas con agua hervida fría contenida en un aspersor, facilitando así la remoción del desinfectante, y se secará con papel toalla, según el protocolo de bioseguridad establecidos por MINSA.

Luego de la desinfección, se procedió igual que en la siembra inicial con Agar Trypticase Soya por agotamiento en estría para la cuantificación microbiana, además se realizó la siembra en Agar sangre y Agar manitol salado por agotamiento en estría para detectar la presencia de *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus*.

Las siembras realizadas se trasladaron al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo mediante un cooler y se incubaron a 37°C por 24 horas para luego realizar el recuento y descripción de las colonias.

Las colonias que se desarrollaron en las muestras obtenidas de ambos grupos después de la desinfección, se les realizó la tinción Gram para aislar e identificar mediante medios específicos los microorganismos resistentes. Todo procedimiento realizado durante la investigación fue registrado mediante toma fotográfica.

4. Instrumentos de recolección de datos

Para el registro de la información se diseñó tablas de recolección de datos. Los datos obtenidos en el primer grupo fueron registrados indicando el número total de microorganismos por unidades formadoras de colonias después de la esterilización de las piezas de mano de alta velocidad. Los datos obtenidos en el segundo y tercer grupo fueron distribuidos en tablas indicando el total de microorganismos por unidades formadoras de colonias antes y después de la desinfección de las piezas de mano de alta velocidad y se indicó la detección del *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* presentes en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad después del uso del desinfectante.

2.1.4. Técnicas de procesamiento de datos

Los datos están consolidados en tablas estadísticas bidimensionales descriptivas e inferenciales, el análisis de los datos se ha realizado a través del promedio, media geométrica y mediana, por presentar los datos una marcada variabilidad.

Para la prueba de hipótesis en los mismos instrumentos, antes y después de la desinfección con alcohol y glutaraldehído, se aplicó la prueba estadística de Wilcoxon.

Para determinar la significancia estadística entre los datos se utilizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney, por ser las muestras pequeñas y además porque no se ajustan a una distribución normal. Todas las pruebas fueron leídas al 95% de confiabilidad, utilizando el programa SPSS, versión 22.

2.1.5. Aspectos éticos de la investigación

Las muestras fueron obtenidas de las piezas de mano de alta velocidad previa autorización de los alumnos de la asignatura de Odontología Restauradora II de la Clínica Odontológica Santa Apolonia de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, posteriormente fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología y Parasitología, tomando en cuenta las medidas de bioseguridad establecidas por MINSA.

CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TABLA N° 1

EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ALCOHOL AL 70% UTILIZADO EN LA SUPERFICIE EXTERNA DE LAS PIEZAS DE MANO DE ALTA VELOCIDAD DE USO ODONTOLÓGICO

ANTES DE LA DESINFECCIÓN CON ALCOHOL	DESPUÉS DE LA DESINFECCIÓN CON ALCOHOL
24	0
111	0
4	0
52	0
1	0
8	1
12	0
212	1

Prueba estadística Mann Whitney ($p < 0.05$)

FIGURA N° 1

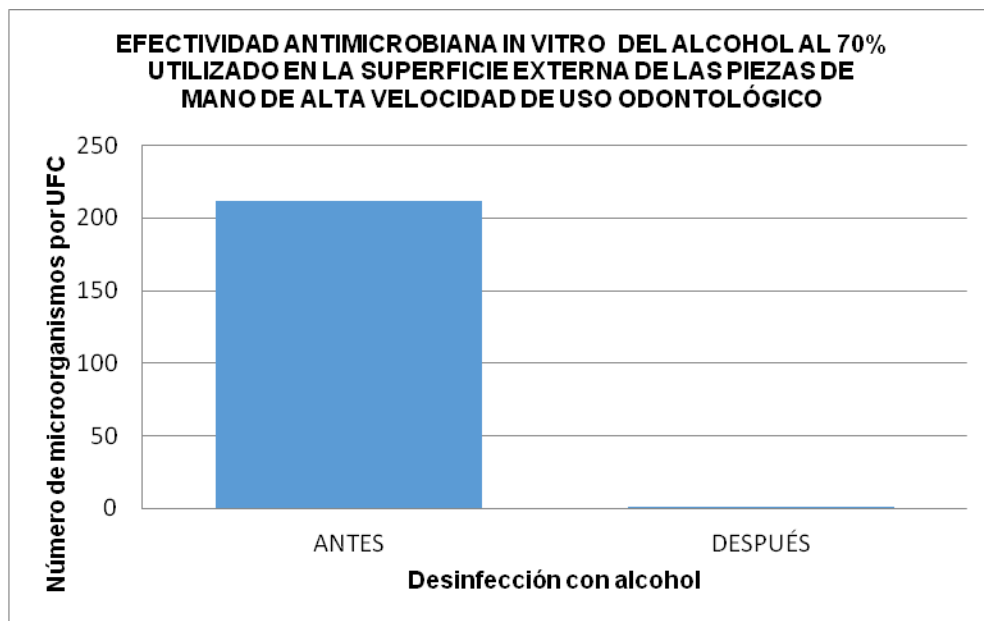


TABLA N°2

EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL GLUTARALDEHÍDO AL 2% UTILIZADO EN LA SUPERFICIE EXTERNA DE LAS PIEZAS DE MANO DE ALTA VELOCIDAD DE USO ODONTOLÓGICO

ANTES DE LA DESINFECCIÓN CON GLUTARALDEHÍDO	DESPUÉS DE LA DESINFECCIÓN CON GLUTARALDEHÍDO
1	1
15	1
8	1
1	0
2	1
66	2
6	0
99	6

Prueba estadística Mann Whitney ($p < 0.05$)

FIGURA N° 2

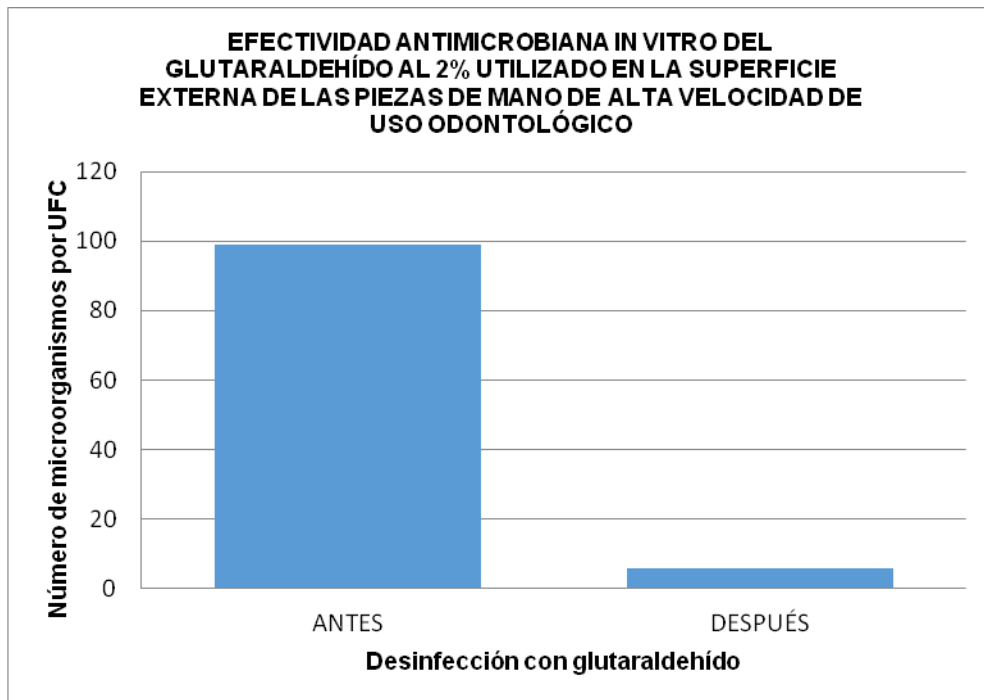


TABLA N° 3

PRESENCIA DE *Streptococcus sp.* Y *Staphylococcus aureus* EN LA SUPERFICIE EXTERNA DE LAS PIEZAS DE MANO DE ALTA VELOCIDAD DESPUÉS DEL USO DE LOS DESINFECTANTES

TIPO DE MICROORGANISMO	DESINFECCIÓN EN ALCOHOL		DESINFECCIÓN EN GLUTARALDEHÍDO	
	N° de colonias	%	N° de colonias	%
<i>Streptococcus sp.</i>	2	50.0	2	50.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	50.0	2	50.0
	4	100.0	4	100.0

FIGURA N° 3

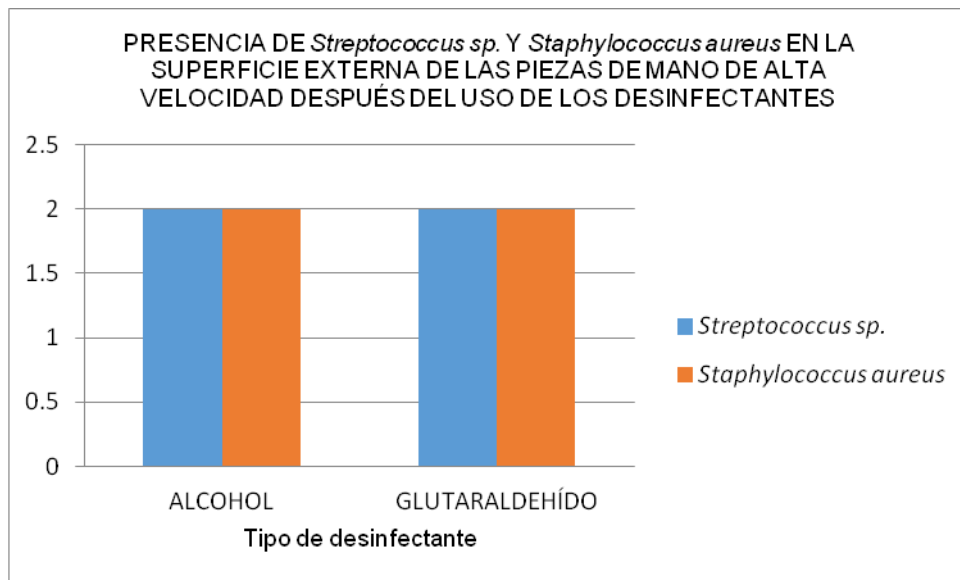


TABLA N° 4

EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ALCOHOL AL 70% Y DEL GLUTARALDEHÍDO AL 2% UTILIZADOS EN LA SUPERFICIE EXTERNA DE LAS PIEZAS DE MANO DE ALTA VELOCIDAD DE USO ODONTOLÓGICO

TOTAL DE COLONIAS DISMINUÍDAS DESPUÉS DE LA DESINFECCIÓN CON ALCOHOL	TOTAL DE COLONIAS DISMINUÍDAS DESPUÉS DE LA DESINFECCIÓN CON GLUTARALDEHIDO
24	0
111	14
4	7
52	1
1	1
7	64
12	6
211	93

Me₁ = 12

Me₂ = 6

Prueba estadística de Wilcoxon ($p < 0.05$)

FIGURA N° 4



DISCUSIÓN

El presente estudio determinó la efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70% y del glutaraldehído al 2 %, utilizado en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad. En la literatura consultada, son pocos los estudios realizados sobre el tema, entre los que se encuentra el de Reyes *et al*¹, y Gutierrez *et al*⁸, con el cual los resultados obtenidos en el presente trabajo han podido ser comparados.

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que hubo efectividad antimicrobiana in vitro del glutaraldehído al 2%, utilizados en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad, determinándose a través de la disminución del número de microorganismos por UFC antes y después del uso de dicho desinfectante, según los datos obtenidos por medio del análisis de Mann Whitney, leídas al 95% de confiabilidad. Estos resultados coinciden con el estudio de Gutiérrez *et al.* en la cual evaluaron la acción bactericida del glutaraldehído al 2%, hipoclorito de sodio al 0.5% y cloruro de benzalconio al 1%, observándose que el glutaraldehído al 2% eliminó a todos los microorganismos presentes en las superficies de la unidad dental, ejerciendo mayor efecto en las bacterias Gram positivas no esporuladas. Estos resultados similares se dieron pese a la diferencia en la metodología utilizada, ya que el estudio en mención utilizó cada desinfectante por un tiempo de 5 minutos, mientras que en el presente estudio, el glutaraldehído fue utilizado por 20 minutos, basándonos en el protocolo de desinfección del MINSA. Estos resultados se pueden explicar por la propiedad que presenta el glutaraldehído al 2%, ya que a temperatura ambiente es esterilizante y desinfectante con un amplio espectro de acción, esto dependerá del tiempo empleado, además no es inactivado frente a materia orgánica, lo cual confirma su comportamiento en ambos estudios⁸.

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que hubo efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70%, utilizados en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad, determinándose a través de la disminución del número de microorganismos por UFC antes y después del uso de dicho desinfectante, según los datos obtenidos por medio del análisis de Mann Whitney, leídas al 95% de confiabilidad. Este estudio coinciden con el de Graziano *et al.* en la cual evaluaron la eficacia de la desinfección con alcohol al 70% sin limpieza previa, en superficies contaminadas en servicios de salud, los resultados se compararon a través de la población microbiana presente después de la desinfección en superficies contaminadas con y sin limpieza previa. Resultando el alcohol al 70% eficiente en la desinfección en ambos grupos, estos resultados fueron similares al del presente estudio pese a utilizar una metodología diferente, ya que el estudio en mención se obtuvo las muestras, de superficies intencionalmente contaminadas con *Serratia marcescens* ATCC 14756 10^6 UFC/ml acrecido con 10% de saliva humana, mientras que el presente estudio se obtuvo las muestras a través de piezas de mano de alta velocidad utilizadas en los pacientes de la asignatura de Odontología Restauradora II, mientras que la técnica de fricción por un tiempo de 30 minutos durante la desinfección con alcohol al 70%, fueron similares en ambos grupos. La eficacia del alcohol al 70% se puede fundamentar por ser un agente químico conocido como solvente importante por presentar en su cadena ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-OH}$), una parte apolar y otra polar, comportándose así como disolvente de grasas y pudiendo ser disuelto en agua, siendo efectivo en superficies contaminadas con o sin limpieza previa²⁵.

El presente estudio también buscó detectar la presencia de *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad después del uso de los desinfectantes. Para asegurar la equivalencia de las muestras, se realizó la división de la población muestral en tres grupos

proporcionales. En el primer grupo se evaluaron las muestras obtenidas, donde no se evidenció presencia de microorganismos por UFC, mientras que los dos grupos restantes fueron considerados grupos experimentales.

Durante la ejecución de la prueba piloto, se determinó la presencia de *Streptococcus sp* y *Staphylococcus aureus* antes y después de la desinfección con alcohol al 70% y glutaraldehído al 2%, asumiéndose estos datos durante la ejecución del presente trabajo.

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que hubo presencia de *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* después de la desinfección de la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad, presentándose 2 colonias por cada tipo de microorganismos en cada grupo experimental.

Estos resultados coinciden con el estudio realizado por Mejía, el cual encontró como microorganismos más prevalentes al *Streptococcus sp*, *Staphylococcus coagulasa negativo* y los no fermentadores después del uso de las piezas de mano de alta velocidad. La similitud en los resultados de estos estudios se da a pesar de la diferencia en la metodología utilizada, el estudio en mención determinó el tipo de microorganismo a través de sus características macroscópicas, mientras el presente estudio lo hizo a través de pruebas bioquímicas específicas y vistas al microscopio óptico, además Mejía evaluó las muestras antes y después del uso de las piezas de mano, encontrándose que el número de colonias de *Streptococcus sp.* aumentaron, mientras que el número de colonias de *Staphylococcus aureus* disminuyeron, esto se puede deber a que existe un proceso inadecuado de descontaminación de las piezas de mano de alta velocidad, pudiendo considerarse ambos momentos como uno solo². La similitud de los resultados obtenidos en ambos estudios, nos confirma que estos microorganismos son frecuentes en la cavidad oral, siendo de gran interés su identificación en instrumentales odontológicos ya que estos

entran en contacto directo con los pacientes, ocasionando infecciones cruzadas²⁴.

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que hubo mayor efectividad antimicrobiana in vitro del alcohol al 70%, en comparación al glutaraldehído al 2%, utilizados en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad. Dicha efectividad antimicrobiana se determinó a través del número de microorganismos por unidades formadoras de colonias antes y después del uso del desinfectante, según los datos obtenidos por medio del análisis de Wilcoxon con una diferencia estadística, leídas al 95% de confiabilidad.

Estos resultados coinciden con la investigación de Reyes *et al*, quien realizó un trabajo de investigación en donde se concluyó que el alcohol al 70% presentó mayor porcentaje de desinfección a comparación del glutaraldehído al 2%, sin embargo a diferencia del presente estudio, estos valores no mostraron una diferencia significativa. Hecho que puede explicarse por la variación en la cantidad de la muestra utilizada en ambos estudios. En el estudio en mención se utilizaron 5 piezas de mano de alta velocidad por cada grupo en donde se aplicó el desinfectante mientras que en el presente estudio se utilizaron 7 piezas de mano de alta velocidad por cada grupo experimental¹. La mayor disminución de microorganismos por UFC en el alcohol al 70% se fundamenta por su acción bacteriostática ya que actúa inhibiendo la producción de metabolitos esenciales para la división celular rápida, siendo activo frente a bacterias gram positivas y gram negativas, mientras que en el glutaraldehído al 2% su acción micobactericida es relativamente lenta^{11,12}.

CONCLUSIONES

- El alcohol al 70% presentó efectividad antimicrobiana in vitro al ser utilizado en las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. (p< 0.05)
- El glutaraldehído al 2% presentó efectividad antimicrobiana in vitro al ser utilizado en las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. (p< 0.05)
- Se detectó la presencia de *Streptococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad después del uso de los desinfectantes.
- El alcohol al 70% presentó mayor efectividad antimicrobiana in vitro en comparación al glutaraldehído al 2%, al ser utilizados en la superficie externa de las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. (p< 0.05)

RECOMENDACIONES

- Se recomienda poner a prueba nuevos protocolos de desinfección en clínicas odontológicas universitarias y particulares a partir de los resultados hallados en el presente estudio.
- Realizar estudios adicionales, en la superficie interna de las piezas de mano de alta velocidad como son los rotores, conexiones de agua, etc., analizando la prevalencia de las especies bacterianas halladas, para complementar los resultados del presente estudio.
- Realizar estudios adicionales que analicen otros instrumentales odontológicos rotatorios en procedimientos quirúrgicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Reyes J, Rodríguez L, Fernández M, Iparaguirre J, Montalvo W, Bravo K, et al. Análisis microbiológico antes y después de la utilización de la pieza de mano de uso odontológico. *Kiru*. 2012; 9 (1):13-20.
2. Mejía R. Contaminación de pieza de mano de alta velocidad de alta velocidad [Tesis pre grado]. Perú: Facultad de Estomatología. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 1997.
3. Maribel de León A. Determinación de la contaminación bacteriológica del conducto de refrigeración de agua en una muestra de piezas de mano de alta velocidad autoclaveadas utilizadas en la clínica intramural de la facultad de odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala [Tesis pre grado]. Guatemala: Facultad de Odontología. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2004.
4. Chauca E. Manual de bioseguridad en Odontología. Colegio Odontológico del Perú; 2004.
5. Montúfar M. Análisis del proceso de esterilización del instrumental en la Clínica de Odontopediatría de la facultad de Odontología de la Universidad Central [Tesis pre grado]. Quito: Facultad de Odontología. Universidad Central; 2012.
6. Gutiérrez S, Dussán D, Leal S, Sánchez A. Evaluación microbiológica de la desinfección en unidades odontológicas (estudio piloto). *Rev. colomb. cienc. quim. farm* 2008; 37(2).

7. Zeceña E. Análisis cualitativo y descriptivo de los métodos de esterilización y desinfección usados en clínicas privadas de la ciudad de Guatemala [Tesis pre grado]. Guatemala: Facultad de Odontología. Universidad Francisco Marroquín; 1989.
8. Negroni M. Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2º ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
9. Alba N, Araujo F. Evaluación de los desinfectantes utilizados en el proceso de limpieza y desinfección del área de fitoterapéuticos en laboratorios pronabell LTDA [Tesis pre grado]. Bogotá. Facultad de Ciencias microbiología industrial. Pontificia universidad Javeriana; 2008.
10. Espona M, Salas E. Recomendaciones sobre el uso de desinfectantes en el ámbito sanitario. Generalitat de Catalunya Departament de Salut. Vol. 24, núm. 1. 2013.
11. Martí C, Alonso R, Constans A. Desinfectantes: Características y usos más corrientes. Centro nacional de condiciones de trabajo [en línea]. España. [acceso 07 de octubre de 2013]; URL disponible en: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/401a500/ntp_429.pdf
12. MINISTERIO DE SALUD. Norma de utilización de soluciones antisépticas, desinfectantes, y detergentes de uso hospitalario. Ministerio de Salud. 2005. [acceso 07 de octubre de 2013]; URL disponible en: http://www4.neuquen.gov.ar/salud/images/archivo/Enfermeria/Normas/NORMA_DE_UTILIZACION_DE_SOLUCIONES_ANTISPTICAS_DESINFECTANTES_Y_DETERGENTES_DE_USO_HOSPITALARIO.pdf

13. Gutierrez S, Acosta A, Barrientos S, Chavez M, Carlos M, Cuellar A, et al. Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la odontología. Bogotá: pontificia universidad Javeriana; 2006.
14. Murray P, Rosenthal M, Pfaller M. Microbiología Médica: Principios básicos de odontología. Elsevier España. Quinta Edición; 2006.
15. Fernández A, García C, Saéz J, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Sociedad de enfermedades infecciosas y microbiología clínica (SEIMC) 2010; 28(1).
16. Manuel de la Rosa, Prieto J. Microbiología en ciencias de la salud: conceptos y aplicaciones. 2º ed. Madrid: Elsevier; 2005.
17. Prats G. Microbiología Clínica. 1º ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005.
18. García P, Fernandez del Barrio M, Paredes F. Microbiología Clínica Aplicada. 3ºed. Madrid: Díaz de Santos; 1997.
19. Urdaneta V, Castillo A, Leibundgut Á, Nava S, Pérez M, Sanchez M, et al. Evaluación de la efectividad antimicrobiana del uso conjunto de puntas de hidróxido de calcio y clorhexidina al 2% e hidróxido en la desinfección de conductos durante el retratamiento endodóntico [Tesis pre grado]. Venezuela: Facultad de Odontología. Universidad del Zulia; 2002.
20. Carranza D. Evaluación del poder desinfectante en los productos del hogar que en la etiqueta indique que es antibacterial [Tesis pre grado].

Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2004.

21. Ministerio de salud. Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias. 2005; Serie de Normas Técnicas N° 28: 48-76.

22. Fuentes R. Evaluación de la efectividad de los agentes desinfectantes (germicidas), disponibles en el mercado odontológico guatemalteco, en la acción germicida contra *Escherichia coli* y *Estafilococo dorado* (*Staphylococcus aureus*) [Tesis pre grado]. Guatemala: Facultad de Odontología. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2001.

23. Graziano M, Graziano K, Pinto F, Bruna C, Queiroz R, Lascala C. Eficacia de la desinfección con alcohol al 70% (p/v) de superficies contaminadas sin limpieza previa. *Rev. Latin-Am. Enfermagem* 2013;21(2):06.

ANEXOS

Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
Facultad de Medicina
Escuela de Odontología

“Efectividad antimicrobiana de dos desinfectantes utilizados en las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. Estudio in vitro”

ANEXO 1

AUTORIZACIÓN

Yo,..... identificado con DNI..... estudiante de Odontología con código universitario..... autorizo entregar mi pieza de mano de alta velocidad para el estudio “Efectividad antimicrobiana de dos desinfectantes utilizados en las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. Estudio in vitro” por ser un trabajo que contribuye con la bioseguridad de los pacientes atendidos en la clínica odontológica Santa Apolonia, sabiendo que se adoptarán las medidas necesarias para el cuidado del instrumento que estoy entregando.

Chiclayo,..... de..... del 2014

Firma del estudiante:

Nº Serie del instrumento:.....

Cualquier duda contactarse con:

Investigadores: Anggy Arleni Acuña Alfaro: anggyaa90@hotmail.com Telef:975678788

Ruth Mery Rodas Salazar: ruthmayo5@hotmail.com Telef:954411170

Leydi Diana Torres Andagua leydi_torres16@hotmail.com Telef:947927973

Asesor: Mgtr. Mariano Wenceslao Ortiz Pizarro mortiz@usat.edu.pe Telef:979839351

Mgtr.Blga María Teresa Sánchez Julca Tsanchez@usat.edu.pe Telef:968166788

ANEXO 2
TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



Lavado de las piezas de mano



Piezas de mano divididas en tres grupos proporcionales y al azar

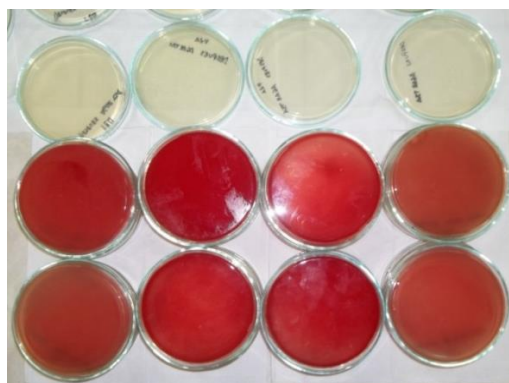


Esterilización en autoclave a 121°C por 15 minutos por 15 libras de presión

Medios de cultivo



Se vierte el medio de cultivo



Distribución de los medios de cultivos



Se conservaron en estufa a 37°C

Uso de la pieza de mano



Desinfección de la conexión



Manipulación de pieza de mano y sacafresa estériles



Se acciona la pieza fuera de la boca del paciente

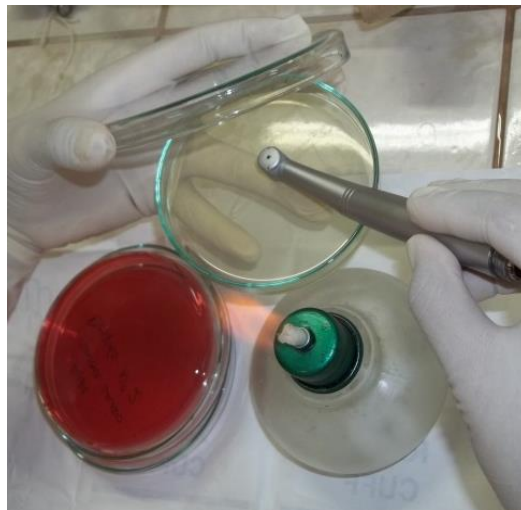
Recolección de las muestras

Grupo equivalencia de las muestras



Siembra en TSA por agotamiento en estría frente a un mechero

Antes de la desinfección



Siembra en TSA para cuantificación microbiana

Desinfección con alcohol



Se utilizó gasa estéril embebida con alcohol al 70%



Se frota la superficie externa por 20 minutos

Desinfección con glutaraldehído al 2%



Preparación del glutaraldehído con el activador



Pieza de mano sumergida en 120ml de glutaraldehído al 2% por 30 minutos

Recolección de muestras

Después de la desinfección



Siembra en TSA: Cuantificación microbiana

Siembra en AS: *Streptococcus* sp.

Siembra en AMS: *Staphylococcus aureus*

Incubación de las siembras



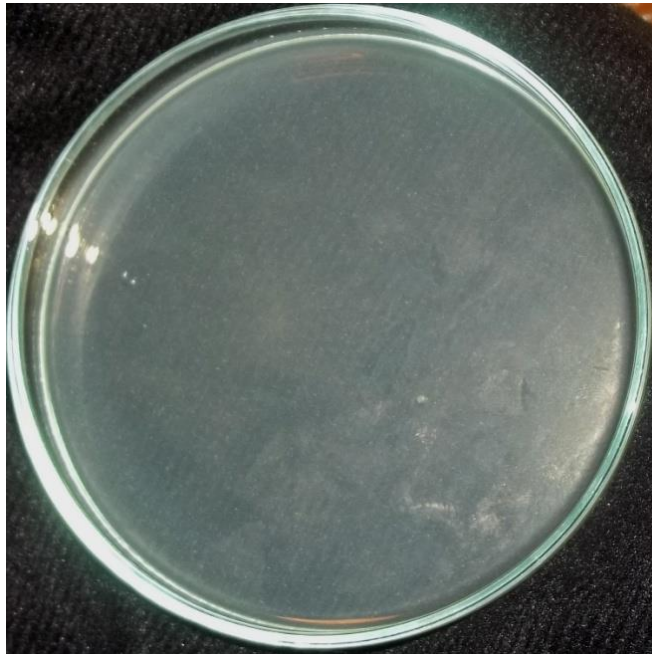
Las siembras se incubaron en una estufa a 37°C por 24 horas

Recuento de colonias

Muestra obtenida antes de la desinfección

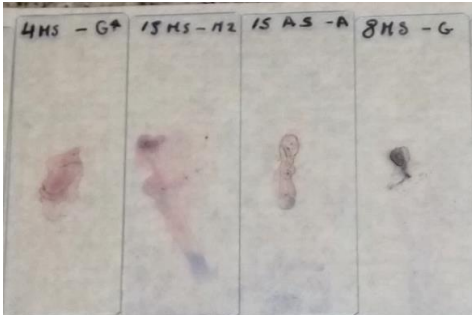


Muestra obtenida después de la desinfección



Identificación bacteriana

Tinción Gram



Fijación en láminas portaobjetos

Prueba de catalasa



Tomamos una colonia del medio de cultivo



Prueba de catalasa finalizada

Prueba de coagulasa



Colocamos la colonia en 0.5ml de plasma

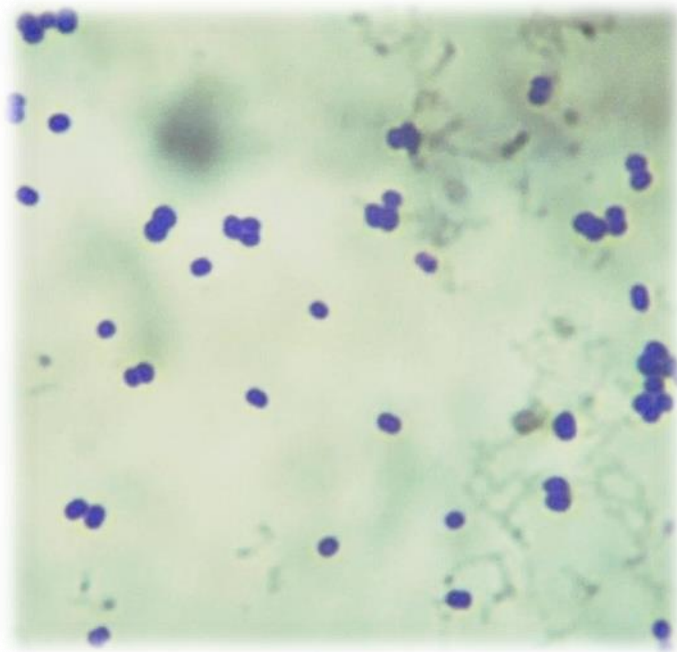


Prueba de coagulasa finalizada

Vista al microscopio óptico



Streptococcus sp.



Staphylococcus aureus

Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
Facultad de Medicina
Escuela de Odontología

“Efectividad antimicrobiana de dos desinfectantes utilizados en las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. Estudio in vitro”

ANEXO 3

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

GRUPO: EQUIVALENCIA DE LAS MUESTRAS

PIEZA	TSA	AS	MS

Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
Facultad de Medicina
Escuela de Odontología

“Efectividad antimicrobiana de dos desinfectantes utilizados en las piezas de mano
de alta velocidad de uso odontológico. Estudio in vitro”

ANEXO 4

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

GRUPO: DESINFECTADO CON ALCOHOL AL 70%

PZA	ANTES	DESPUÉS		
	TSA	TSA	AS	MS

Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
Facultad de Medicina
Escuela de Odontología

“Efectividad antimicrobiana de dos desinfectantes utilizados en las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. Estudio in vitro”

ANEXO 5

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

GRUPO: DESINFECTADO CON GLUTARALDEHÍDO AL 2%

PZA	ANTES	DESPUÉS		
	TSA	TSA	AS	MS

Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
Facultad de Medicina
Escuela de Odontología

“Efectividad antimicrobiana de dos desinfectantes utilizados en las piezas de mano de alta velocidad de uso odontológico. Estudio in vitro”

ANEXO 6

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

TIPO DE DESINFECTANTE	N° PIEZA	<i>Streptococcus sp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
ALCOHOL AL 70%			
GLUTARALDEHIDO AL 2%			