

870122
25
207

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE ODONTOLOGIA



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BACTERIAS MAS COMUNES EN LA CONTAMINACION DE LAS PUNTAS DE GUTAPERCHA.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A :

NORA EDITH FIGUEROA JIMENEZ

Asesor: DR. Rodolfo Romero Luna

GUADALAJARA, JAL.

1989.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

| | Págs |
|---|------|
| I N T R O D U C C I O N | 1 |
| <u>CAPITULO I</u> | |
| ASEPSIA Y ANTISEPSIA EN ENDODONCIA. | 3 |
| METODOS DE ESTERILIZACION Y DESINFECCION | 16 |
| <u>CAPITULO II</u> | |
| CULTIVO DE MICROORGANISMOS | 29 |
| MEDIOS DE CULTIVO SOLIDOS EN PLACAS UTILIZADOS EN LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN EL LABORA TORIO | 36 |
| REGLAS GENERALES DE LA SIEMBRA | 49 |
| DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTOS, METODOS Y TECNICAS REALIZADAS | 51 |
| R E S U L T A D O S | 62 |
| C O N C L U S I O N E S | 74 |
| B I B L I O G R A F I A | 77 |

I N T R O D U C C I O N

La Endodoncia, última especialidad odontológica reconocida por el Consejo de Educación Dental, de la Asociación Dental Americana en 1964, sigue siendo fundamento indispensable en la práctica odontológica.

El objetivo principal de esta especialidad indudablemente es mejorar cada día la calidad del tratamiento y continuar perfeccionando tanto instrumental como material de obturación de conductos radiculares.

En la práctica uno de los materiales de obturación más empleados en endodoncia son los conos de gutapercha, lo cual buscando un material que reúna cualidades precisas, la literatura narra que desde épocas pasadas ya las investigaciones se enfocaban sobre la gutapercha y sólo se pretendía perfeccionar sus componentes, como sucede hoy en nuestros días, para que algún día llegue a ser el material ideal en las técnicas endodóncicas.

Por lo tanto, el objetivo principal de la elaboración de esta tesis es para constatar la posible esterilidad de los conos de gutapercha, mediante estudios de laboratorio. Para así determinar la presencia o ausencia de bacterias

existentes en este material de obturación a la hora de ser expendido para su compra. El cual, creemos ser un material estéril, listo para su uso directo en la obturación de los conductos, y no contamos con que puede ser un motivo principal desconocido de fracaso de nuestro tratamiento.

Además se intenta explicar algunas formas de contaminación de la gutapercha en el medio de trabajo clínico.

CAPITULO I

ASEPSIA Y ANTISEPSIA EN ENDODONCIA

ASEPSIA Y ANTISEPSIA EN ENDODONCIA

Importancia y consideraciones generales:

La asepsia y antisepsia comprenden un conjunto de procedimientos de fundamental importancia, no sólo en endodoncia o en cualquier trabajo quirúrgico o aún no quirúrgico, - que involucre al ser humano, aunque no siempre haya sido éste un concepto dominante. Recién alrededor de 1867, - los estudios de las ciencias biológicas llegaron a la conclusión de que las infecciones eran causadas por algo que era impedido o destruido por la acción de ciertas sustancias químicas. Tales observaciones fueron confirmadas - por Lister, que comenzó a desinfectar el instrumental y - las manos del operador, así como a pulverizar ácido fénico sobre el campo operatorio, consiguiendo de este modo reducir notablemente la infección posquirúrgica. Mientras - tanto, 20 años antes (1847), Semmelweis, en Viena, conseguía reducir, del 12 al 1.2% la muerte por infección puerperal, simplemente aconsejando a sus alumnos que lavaran y desinfectaran sus manos con hipoclorito antes de entrar a la maternidad. Se habían lanzado las simientes de la - cirugía antiséptica.

Aproximadamente en 1878, fue Pasteur quien definió en tér

minos claros que las infecciones eran causadas por gérmenes específicos para cada tipo de enfermedad. Era el punto culminante de largos estudios y el comienzo de la era bacteriana.

En Odontología, en 1878 Rogers observó que los microorganismos eran los principales causantes de los problemas en odontócicos.

Mientras tanto, la bacteriología dental se inicia con Miller en 1890.

Desde estas fechas hasta la actualidad, la ciencia no cesa de investigar en busca de nuevos antisépticos, fungicidas, medicamentos y técnicas para combatir a los microorganismos.

Actualmente, el cuidado que se tiene en destruir los gérmenes y rodear de condiciones de higiene absoluta a cualquier intervención quirúrgica es condición fundamental para cualquier trabajo en odontología, es porque, según las observaciones de Crowley en la cavidad bucal no sólo se encuentran los microorganismos que existen normalmente en el agua, los alimentos y el aire, que rara vez provocan infección, sino también una gran cantidad de gérmenes pa-

tógenos que pueden determinar infecciones locales cuando los tejidos son traumatizados.

Existe también un grupo de gérmenes que son transitorios en la cavidad bucal, pero cuando están presentes pueden provocar fiebre tifoidea, difteria o sarampión y otras molestias de orden general. Si el odontólogo no adopta rigurosas condiciones de asepsia y antisepsia, él y su consultorio pasarán a ser transmisores de enfermedades de un paciente a otro.

Las hepatitis pueden transmitirse de un paciente a otro con relativa facilidad, siempre que los cuidados del instrumental no sean los adecuados.

Una insignificancia de 0.0001 ml de sangre infectada que permanezca en una aguja, es suficiente para la transmisión, por vía parenteral, del virus de la hepatitis sérica. La literatura relata 15 casos de este tipo de enfermedad entre los cuales hubo 3 fatales, provocados por inyecciones administradas por odontólogos a sus pacientes.

Ross, en 1971, llama la atención de la profesión odontológica afirmando que la misma no está suficientemente informada de que la esterilización inadecuada de sus instrumen

tal puede ser la responsable de la transmisión del virus de la hepatitis. (10)

Así como otros tipos de bacterias o virus que en la actualidad son de importancia médica.

El virus HTLV-III/Lav. (sida) debido a su similitud de infectar a un individuo, se ha comparado con el virus de la hepatitis B⁶. (2)

Una de sus formas de transmisión demostradas son: inoculación de sangre o productos sanguíneos contaminados de sida, inoculación percutánea, ya sea con agujas hipodérmicas contaminadas o por heridas mucosas y cutáneas en contacto con el virus.

Se cree que el virus puede ser transmitido por secreciones corporales como la saliva, ya que el virus HTLV-III/Lav. ha sido identificado en ellos. Aunque el papel de la saliva y la hemorragia bucal no es muy clara debido a que todavía no se conocen casos en que la enfermedad se haya transmitido por este medio. Sin embargo, no se ha descartado la posibilidad de infección por esta vía. (18)

En endodoncia, la falta de observación de los principios

de higiene lleva infaliblemente al fracaso, por esta razón, se contraindica totalmente el tratamiento cuando no existen condiciones de asepsia. Estos procedimientos constituyen el principio fundamental en la obtención de éxito del tratamiento endodóncico.

¿Pero, qué son entonces asepsia y antisepsia en endodoncia?

* Asepsia y antisepsia en endodoncia:

Asepsia: es un conjunto de procedimientos que tiene por objeto impedir la penetración de gérmenes en el sitio que no los contenga.

Antisepsia: es la destrucción de los gérmenes, por medio del empleo de antisépticos.

Los medios de que disponemos para la aplicación de los principios de estos dos procedimientos descrito se consiguen a través de la esterilización y la desinfección del ambiente de trabajo (consultorio y su equipamiento), del instrumental y material utilizado, así como del campo operatorio.

Dentro de una secuencia clínica de un tratamiento endodóncico, tendremos el siguiente protocolo aséptico (10):

- a) Las manos del operador deben ser cepillados minuciosamente con agua y jabón.

Si se requiere esterilidad absoluta, habrá que usar -- guantes de goma, para proteger al personal odontológico.

Siempre se usarán guantes de goma al tratar pacientes con antecedentes de hepatitis u otras enfermedades infecciosas (6).

- b) Preparación del diente:

Esta fase debe merecer del profesional mucha atención, dado que se presentan para el tratamiento endodóncico, se encuentran con caries, con hiperplasias gingivales invaginadas en las destrucciones coronarias, falta de cúspides enteras, cálculos salivales, materia alba, etc.

El primer paso sería entonces, la total limpieza del tejido cariado, el corte de la hiperplasias gingivales, la reconstrucción de las paredes perdidas, lo que

podrá hacerse con la ayuda de distintos materiales como el policarboxilato de zinc, bandas para ortodoncia, etc. La remoción del tártaro se hace necesario.

Todos los procedimientos arriba mencionados tienen por objeto proveer mejores condiciones de antiseptia al diente que se va a tratar, así como crear condiciones para realizar la aislación adecuada del campo operatorio.

Una vez que el diente está preparado para recibir la aislación; es una buena norma proceder a la antiseptia de la cavidad bucal; haciendo una atomización con un antiséptico adecuado (solución de oralina, sepaol, listerine, etc.) (10).

c) Aislamiento del campo operatorio:

Toda intervención endodóncica se hará aislando el diente mediante el empleo de grapa y dique de goma, de esta manera las normas de asepsia y antiseptia podrán ser aplicadas en toda su extensión (8).

Aunque existen aún medios químicos para disminuir la secreción salival (atropina, sus derivados y simila---

res). Y técnicas de aislamiento relativo (rollos de algodón) elementos absorbentes y sus respectivos elementos de fijación) el esfuerzo del profesional debe estar siempre dirigido en sentido de conseguir el aislamiento absoluto (10).

El objeto de la colocación del dique de goma:

1. El dique evita el peligro de la caída de los pequeños instrumentos usados en endodoncia en las vías digestivas y respiratorias.

Este tipo de accidentes, cuando se trabaja sin la protección del dique, sobre todo en molares posteriores, sucede en forma inesperada y sus consecuencias y aún fatales obligadamente. El estudiante y el profesional que aludan el uso del dique de goma en su práctica endodóncica, están cometiendo en contra de su paciente, un acto criminal.

2. Libera a los tejidos adyacentes de la acción irritante y cáustica de las sustancias usadas en endodoncia; principalmente de las empleadas en el lavado de los conductos (hipoclorito de sodio, etc.).

3. Proporciona un campo exento de saliva y microorganismos propios de la boca y, aunque se cuestiona la esterilidad completa del campo, asegura una limpieza quirúrgica.
4. Ofrece un excelente campo visual en donde la atención del operador se encuentra en la zona de donde va a intervenir (15).

El paciente podrá quizás extrañarse al principio, pero todos al terminar el tratamiento reconocen que con el dique de goma (especialmente si se coloca con servilleta protectora de papel o de tela), se encuentran más cómodos y se sienten más seguros mostrándose satisfechos al conocer el por qué del uso del sistema de aislamiento aséptico y protector (8).

d) Antisepsia del campo operatorio:

Colocado el dique de goma nuestra primera preocupación antes de cualquier intervención endodóncica será proceder a la antisepsia del campo operatorio (diente, - - Clamps, goma, dique que rodea toda la región), lo que se consigue con un trozo de gasa o algodón embebido en la sustancia antiséptica.

Conviene destacar que los antisépticos son medicamentos que pertenecen a los más variados grupos y funciones químicas. Aunque muchas de estas sustancias hayan sido usadas o aún lo sean internamente, su principal utilidad reside en los efectos obtenidos por su aplicación.

Entre los productos que pueden ser utilizados en esta fase de la secuencia endodóncica, se destacan:

1. Alcoholes: el alcohol etílico al 50-70% tiene acción sobre los microorganismos a través de la desnaturación proteica, mientras que el alcohol absoluto (100%) es sólo un desinfectante precario.

El alcohol yodado al 0.3% ha evidenciado gran eficacia en la antisepsia de la goma dique.

2. Compuestos de amonio cuaternario, aún encontramos en el mercado el Germekil, que está indicado para la desinfección del instrumental y material quirúrgico.

El Zefirol, en solución acuosa al 10% (cloruro de benzalconio), también está indicada para la antisep

sia del campo operatorio.

3. Sales de metales pesados:

Para la antisepsia del campo operatorio, algunos autores recomiendan una solución de mertiolate al 1:100, siendo incoloro, este producto no altera el color normal de los dientes. (10)

c) Esterilización y desinfección del instrumental y del material endodóncico:

La esterilización es un proceso mediante el cual se destruyen o matan todos los gérmenes contenidos en un objeto o lugar. (8).

La esterilización en endodoncia es una necesidad quirúrgica para evitar la contaminación de la cavidad pulpar y de los conductos radiculares, por ello, todo el instrumental o material que penetre o se ponga en contacto con la cavidad o apertura del tratamiento endodóncico, deberá estar estrictamente estéril, y cuando existan dudas de que pueda estar contaminado por haber sido tocado con los dedos de la mano u otro lugar no estéril, deberá reesterilizarse en los esterilizadores de bolitas de vidrio o sal, e incluso, cambiarse por

otro estéril.

La desinfección es un proceso mediante el cual la mayoría de los microorganismos pierden la capacidad de infectar, por ser destruidos los gérmenes patógenos. La desinfección no incluye la esterilización, aunque en ciertas situaciones también puede lograrse esta última.

Los diversos métodos de desinfección varían en su capacidad para destruir microorganismos, tanto cualitativa como cuantitativamente.

Una técnica es aséptica cuando todos los instrumentos y equipo se han esterilizado y se han guardado de manera que se mantengan estériles hasta el momento de usarlos. No es posible lograrla si solamente se desinfectan los instrumentos o si se esterilizan pero luego no se les protege de la contaminación del ambiente (19).

Por el contrario, todo aquello que no toque o penetre la entrada pulpar, como son las manos del operador, los mangos de los instrumentos, o la parte inactiva de cualquier instrumento manual, no se es necesario que esté estéril durante la intervención, sino tan solo

limpio y desinfectado. Por supuesto no deberán tocar la parte activa de los instrumentos estériles o el material de cura.

En ningún momento es aceptable en endodoncia corregir digitalmente la forma de una lima, enderezar una punta absorbente o enrollar una torunda deshilachada, ya que en caso de hacerlo por necesidad o capricho deberá utilizarse una gasa estéril para evitar el contacto directo con los dedos, de lo contrario, deberá sumergirse en el esterilizador de bolitas de vidrio o sal el lapso necesario para su esterilización (8).

La esterilización de los instrumentos y equipo se logra por medio del vapor a presión, (autoclave), calor seco (estufa) y calor húmedo y vapores químicos, gases tales como formaldehído y óxido de etileno, o por radiaciones ultravioletas, gamma o láser.

El material puede esterilizarse en un medio hidratado o deshidratado. Cuando las soluciones acuosas de proteínas microbianas son calentadas a temperaturas mayores de 80°C se coagulan y precipitan. El proceso de coagulación es presedido por un rompimiento de la estructura molecular, que causa la desnaturalización parcial de las proteínas -

deshidratadas son más refractarias a la desnaturalización por calor, y por tanto, se requieren altas temperaturas - para desactivar la molécula proteínica. La oxidación y - el quemado de las sustancias, en vez de la coagulación, - se presentan en ausencia de agua. La resistencia de las endósporas bacterianas al calor seco se explica por su estado completamente deshidratado. (5)

Cualquiera que sea el método empleado, no deberá olvidarse que la limpieza y eliminación previa de todos los restos que pudieron quedar depositados sobre las superficies del instrumental, son tan importantes como su esterilización propiamente dicha. (11)

MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN

1. Calor húmedo:

Una de las técnicas para esterilización más eficaces - es el vapor saturado a 121°C bajo 15 libras de presión durante 20 minutos, lo cual se logra en el autoclave. La mayor eficacia del vapor se debe a la rápida liberación y transferencia del contenido de calor húmedo al hacer contacto con objetos fríos. Esto eleva rápidamente la temperatura del material a nivel de esterili-

zación. Además, la humedad facilita la coagulación de las proteínas que pueden estar deshidratadas en condiciones normales, incluyendo las de las esporas bacterianas. (5)

Los indicadores de presión de los autoclaves no siempre son precisos, por lo cual hay que tener con preferencia a los de temperatura.

Cuando se usa el autoclave hay que tomar ciertas precauciones para mantener la máxima eficacia del aparato. Se ha de llenar completamente de vapor, sin que queden bolsas de aire; se ha de cargar de tal manera que él penetre a través y alrededor de todos los objetos contenidos en él. Como el vapor no puede penetrar en los recipientes metálicos, no deben utilizarse en el autoclave a menos que se quite la tapa para que pueda penetrar el vapor en su interior. De todos modos, el sistema de esterilizar material e instrumental en recipientes metálicos no es aconsejable.

Para comprobar la eficacia esterilizante del autoclave se usan los indicadores de esterilización. Entre ellos figuran la carga y la distribución adecuadas, así como la evacuación del aire del autoclave, la tempera-

tura del vapor y la duración de la exposición al vapor en el autoclave. Los indicadores generalmente son de dos clases, los de la primera funden o cambian de color cuando se llega a la temperatura de esterilización. Son ejemplos de este tipo de indicadores algunas bolsas o recipientes para instrumentos de uso corriente en los cuales aparece la palabra estéril, después de exponerlos a la acción del vapor. Solamente indican que se ha llegado a la temperatura correcta, pero no revelan si la carga contenida en el autoclave se ha mantenido a esta temperatura durante el tiempo requerido por la esterilización.

El segundo tipo de indicadores marcan no sólo la temperatura correcta y la carga adecuada del autoclave, sino también el tiempo necesario para la esterilización. Consisten en esporas muy resistentes en suspensión o secas sobre tiras de papel.

En el autoclave se pueden esterilizar los instrumentos que no pierdan el brillo ni se oxidan, las agujas y los instrumentos de corte no deben envolverse en algodón para evitar el efecto de empañado del vapor. Este ha de penetrar hasta el objeto si se desea lograr la esterilización. (19)

Un autoclave adecuadamente cargado es el método más eficaz y confiable para la destrucción de todos los microorganismos.

Antes, la técnica de esterilización por calor seco era la técnica más difundida en endodoncia debido a que los instrumentos para conductos, esto es: limas y escariadores de acero al carbono se oxidaban, lo que se desafilan y se vuelven posibles de fracturas, con el vapor del autoclave como presentan Sommer y col.

Sin embargo, al disponer de instrumentos endodónticos de acero inoxidable, la oxidación ha dejado de ser un problema de autoclave.

Sin embargo si en el consultorio por distintas razones no se dispone de un autoclave, el método de calor seco utilizando con todos los cuidados y requisitos necesarios podremos obtener de él buenos resultados de esterilización para nuestro instrumental endodóntico, sin dejar de tomar en cuenta que el autoclave nos brinda una mayor seguridad de esterilización. (6)

2. Calor seco:

La esterilización por medio de la estufa u horno seco

(Poupinel) está indicada en los instrumentos endodóncicos como limas, ensanchadores de conductos, tiranervios, fresas, atacadores, condensadores, etc. Así como instrumental auxiliar y también si no se dispone de autoclave: para las puntas absorbentes, torundas y rollos de algodón, vidrio para espátular, etc. (10)

Tanto el estuche o caja de endodoncia, como el envoltorio preparado con un paño o servilleta, conteniendo el instrumental será esterilizado por calor seco durante una hora a 170 grados centígrados. La destrucción de los microorganismos se realiza a través de la oxidación de los componentes celulares. (8)(5).

Aunque el calor seco no afecta en forma adversa las superficies cortantes, se ha de tener cuidado de que la temperatura de horno no rebase los 170 grados porque el material de soldadura de las limas se fundiría. Las temperaturas superiores a ésta también secan y dan calor pardo a las puntas de papel y las bolitas de algodón. (19)(5).

3. Calor húmedo y vapor químico:

El esterilizador de Harvey (Chemiclave) fue perfeccionado para eliminar los efectos nocivos de la humedad sobre los

instrumentos, conservando a la vez los efectos ventajosos del calor húmedo. En este procedimiento de esterilización se emplea una combinación de productos químicos (vapores-terile) como formaldehído, acetona, metilerilcetona, alcohol etílico, alcohol isopropílico y agua (menos de 15%). Esta mezcla de productos químicos y vapor de agua forma una atmósfera hidratada en la cual los microorganismos son susceptibles a la coagulación, así como a las actividades sinérgicas y destructivas de los componentes químicos.

Los instrumentos son colocados en la cámara precalentada. El ciclo de esterilización se activa de inmediato al colocar la solución esterilizante. Se requiere una temperatura de 126°C y 20 libras de presión durante 30 minutos. Las desventajas de este sistema son:

- La penetración de los vapores químicos a través de las cubiertas de los instrumentos es más lenta (lo que se compensa con un ciclo de esterilización un poco más prolongado).
- Al terminar la esterilización pueden disiparse vapores de formaldehído en el área de trabajo. En los nuevos modelos de estos esterilizadores se pretende retener

dichos vapores. (5)

4. Oxido de etileno:

Para esterilizar los productos farmacéuticos y biológicos se utiliza asimismo un tercer método, el óxido de etileno en freón.

Muchos hospitales también lo usan para equipos e instrumentos que son difíciles de esterilizar porque les perjudica la acción del calor o de la humedad. Asimismo, lo utilizan algunas escuelas dentales y grandes instituciones para esterilizar instrumentos, especialmente las piezas de mano de alta velocidad. Este método presenta dos inconvenientes para su uso en la práctica general de la odontología:

El costo y el mucho tiempo necesario para conseguir la esterilización. Se requiere un mínimo de dos horas para esterilizar, aunque sólo sea unos pocos instrumentos, mientras que cuando se trata de piezas grandes, incluso son necesario hasta 48 horas. El método es prometedor, y es posible que en un futuro próximo pueda ser modificada, y ser más útil en la práctica general de la odontología y de la medicina. (19).

5. Esterilización rápida:

La esterilización rápida se utiliza generalmente en los casos de emergencia y resulta aplicable a determinados instrumentos y materiales.

6. Flameado:

Este método se aplica para esterilizar la boca de los tubos conteniendo medios de cultivo. (19)

7. Incineración:

Un aparato de esterilización conteniendo esferas de vidrio o de sal, en ellos pueden esterilizarse o reesterilizarse (cuando se han contaminado durante el trabajo), los instrumentos de conductos radiculares, como limas y ensanchadores, etc. Debe evitarse la esterilización de instrumentos de mayor tamaño, ya que las temperaturas se reducen en el compartimiento para esterilización, que es pequeño. (5)

El Dr. Ingle y el Dr. J. Peter Enghardt, sugieren que el esterilizador de sal se prefiere sobre el de esferas de vidrio, ya que la sal puede ser eliminada de los conductos por lavado si accidentalmente la matriz

de calentamiento cae en los conductos. (5)(7)

En el esterilizador de sal, la inmersión de un instrumento para conductos radiculares durante 10 segundos a 118°C asegura la esterilización. Sin embargo, estas unidades de transferencia de calor requieren revisión constante de la temperatura. Pueden encontrarse grandes variaciones de temperatura entre la base y la superficie. Tanto el termómetro como los instrumentos deberán ser colocados al mismo nivel para asegurar la fidelidad del proceso de esterilización. (5)

El Dr. J. Peter Englherdt realizó una investigación en la cual se demostró la variabilidad de temperatura existente en estos aparatos, a distintas profundidades del instrumento en relación a la superficie. Con un tiempo de 10 segundos para su esterilización. (7)

Los doctores Marri, Ulfohn, y Leyba de Marti, aportan que en conclusión, consideran que los pequeños esterilizadores pueden ser de utilidad en casos de emergencias y durante el tratamiento endodóncico, pero no pueden suplir otros métodos cuya eficacia ya ha sido demostrada para realizar una primera esterilización del instrumental. (17)

8. Desinfectantes químicos:

Los objetos no esterilizables por calor pueden ser tratados con un desinfectante químico, de los cuales existen muchos en el mercado al alcance de los facultativos.

De los agentes recomendados el hipoclorito de sodio es el más práctico y eficaz. (5)

Estudios recientes han señalado asimismo que es útil para esterilizar puntas de gutapercha.

En el tratamiento para la esterilización de las puntas de gutapercha, en recientes investigaciones, reportan lo siguiente:

- El Dr. Adam Stabholz: para la esterilización en frío, los resultados indicaron que la clorexidina y el hipoclorito son los mejores y los más efectivos contra todas las bacterias.

Clorexidina (2%) las descontamina en 10 minutos.

Hipoclorito de sodio (5.25%) esteriliza en sólo 1 minuto.

Alcohol etílico (70%) y alcohol isopropílico (50%) - descontaminan en 60 minutos. (1)

- El Dr. R.J. Frank y G.B. Pelleu: el hipoclorito de sodio es una solución que esteriliza las puntas rápidamente y el sporicidín es otra alternativa de uso, pero este estudio mostró que posiblemente es tóxico a los tejidos. (16)

- El Dr. Marvin O. Ludlow: en su estudio determinó que la gutapercha es fácilmente contaminada con las manos y la saliva. Pero si estas puntas se sumergen en hipoclorito de sodio al 2.5% de uno a 10 segundos se esterilizan muy bien. (13)

Otro desinfectante químico que promete es el glutaraldehído, eficaz para destruir las formas más resistentes si se deja actuar el tiempo suficiente. Una solución de glutaraldehído al 2% amortigua hasta un pH de 7.5, es tuberculocida, esporicida, fungicida y viricida. Por tanto, se recomienda el glutaraldehído para la limpieza y desinfección de superficies que no pueden ser esterilizadas con calor o sumergidas en soluciones químicas. (5)

9. Desinfectantes de uso más frecuente.

a) Mercuriales orgánicos:

Alcohol etílico, alcohol isopropílico, alcohol-formalina, alcohol yodado al 0.3%. (8)

b) Compuestos de amonio cuaternario:

La solución de cloruro de benzalconio (zephiran, zephirol, antibenzil) utilizables para diversos instrumentos.

El jabón inactiva los compuestos de amonio cuaternario, de modo que después del lavado hay que enjuagar bien los instrumentos.

c) Nitromersol:

Compuestos a base de mercurio.

No es utilizable con los instrumentos de aluminio. La solución es muy alcalina y puede resultar desagradable al operador y al paciente, si no se enjuagan bien los instrumentos con agua antes de usarlos.

d) Sales de metales pesados:

Para la antisepsia del campo operatorio, algunos recomiendan una solución de mertiolate al 1:10000.

Siendo incoloro, este producto no altera el color natural de los dientes.

e) Germicidas de formaldehído:

El olor es desagradable y su contacto puede originar dermatitis en los individuos hipersensibles.

Paraformaldehído: su especial indicación es para esterilizar puntas absorbentes y torundas. (19)

f) Solución de hipoclorito de sodio:

Es uno de los medios mejores y más rápidos para esterilizar los conos de gutapercha. (8)

CAPITULO II

POSIBLE ESTERILIDAD DE LAS PUNTAS DE GUTAPERCHA AL
MOMENTO DE SER ADQUIRIDAS, Y DIVERSAS FORMAS DE SU
CONTAMINACION EN EL CONSULTORIO.

CULTIVO DE MICROORGANISMOS

El cultivo es el procedimiento mediante el cual se promueve el crecimiento artificial de los microorganismos. Este objetivo puede llevarse a cabo al proporcionarles un medio favorable para su crecimiento. Ello significa que las nuevas células dispongan de nutrimentos necesarios en forma adecuada para emplearlos como materiales sintéticos, asimilados en lo posible a las condiciones naturales, una fuente de energía, temperatura, oxígeno y otros factores que sean adecuados.

Finalmente, para ser disponible al organismo, todos los componentes necesarios para el crecimiento deben ser solubles en agua.

Un cultivo puro incluye un tipo único de microorganismo; un cultivo mixto consiste en la vegetación conjunta de dos o más especies distintas de microorganismos.

MEDIOS DE CULTIVO:

Un medio de cultivo es el sustrato o solución de nutrimento en que se cultivan las bacterias en el laboratorio; básicamente deben contener en forma asimilable:

Nitrógeno y peptonas (proteínas), lípidos, hidratos de carbono, distintas sales minerales, agua, extractos de carne o levadura, agentes solidificantes, como el agua y la gelatina.

Deben ser estériles, isotónicos, poseer propiedades buffer, una viscosidad óptima y un potencial óxido reductor determinado.

En la elección de medios de cultivo hay que imitar lo más posible al organismo enfermo, con tanta más aproximación cuanto más adaptado esté el correspondiente microbio a la existencia de parásito.

La siguiente manera es una definición práctica de un medio de cultivo conveniente:

Aquél que contenga los elementos nutricios esenciales en concentración adecuada, la necesaria cantidad de sal y el adecuado volumen de agua, se encuentra exento de sustancias inhibitoras del organismo que se va a cultivar.

Tenga la consistencia deseada, la reacción (pH) conveniente para el metabolismo del cultivo, y sea estéril. Esta definición se refiere a la preparación de medios de culti

vo inanimados.

También habrá que tomar en cuenta otros requisitos que surgen de las relaciones de temperatura y oxígeno del cultivo y la incapacidad de síntesis de algunos gérmenes patógenos.

Los microorganismos heterotróficos a cuyo grupo pertenecen los gérmenes patógenos, presentan una amplia variedad de exigencias para su cultivo.

Sin embargo, a pesar de ello, se dispone comercialmente de muchos medios de cultivo deshidratados, que son estables y se adaptan perfectamente a su empleo en el laboratorio de diagnóstico.

Esta facilidad reduce al mínimo las preocupaciones por el deterioro de los medios preparados y también las exigencias para su conservación.

Los componentes comunes que suelen formar parte de los medios de cultivo son los siguientes:

a) Agua: las bacterias necesitan para crecer y multiplicarse, gran cantidad de agua en sus inmediaciones. El

agua es el vehículo por el cual los materiales indispensables penetran en las células y salen todos los de desecho.

No sólo es un reactor en procesos metabólicos, sino - que también forma parte integrante del protoplasma. En los medios de cultivo se prefiere emplear agua destilada por su composición definida.

b) Extracto de carne: se añade a los medios de cultivo - para proporcionar ciertas sustancias que estimulan la actividad bacteriana, y al excitar los fermentos, aceleran el desarrollo de los microorganismos. Entre tales sustancias, contenidas en el extracto de carne, - figuran las glutaminas y muchos miembros del complejo vitamínico B.

c) Extracto de levadura: estimula notablemente el desarrollo bacteriano y se emplea con frecuencia en medios de cultivo en vez del extracto de carne.

Es una reserva de vitamina B y proporciona estos factores a los medios; por eso resulta superior al extracto de carne en este aspecto.

- d) Proteínas: (peptonas y aminoácidos): su función más importante en los medios de cultivo es suministrar nitrógeno.
- e) Sales minerales: no se sabe con exactitud que sustancias inorgánicas requieren las bacterias, por lo regular se les añaden Na, K, Mg, Fe, S. P.; y de materia orgánica se obtienen generalmente cl, C, N, y H.

El cloruro de sodio se añade por lo general a los medios para aumentar su presión osmótica, aunque no suele hacer falta. Frecuentemente se requieren medios que contienen sangre para cultivar bacterias o para apreciar una reacción hemolítica.

Los eritrocitos se hemolizan al ponerlos en agua o en medios de reducida presión osmótica; desde luego, tales medios no sirven para reconocer una reacción hemolítica, y esto puede remediarse añadiendo cloruro de sodio a concentración aproximada a la de una solución isotónica. El cloruro de sodio no actúa como amortiguador.

Algunas sales, como fosfatos o carbonatos, que tienen muy acentuada esta propiedad, se añaden con frecuencia

a los medios de cultivo con tal objeto.

- f) Gélosa (agar) o Gelatina: actúa como agente solidificante, además de tener una potente acción hormonal sobre las bacterias.

El agar o gelosa es un polisacárido capaz de producir una solución clara cuando caliente, es la substancia mucilaginosa seca que se extrae de varias especies de algas marinas. Una solución neutra al 1% se solidifica a 35-50 grados centígrados en un gel firme que funde entre 80-110°C. Se emplea con preferencia a la gelatina dado que resiste en general, la actividad de las bacterias.

La gelatina es una proteína obtenida de la hidrólisis de animales. Pocas veces sustituye la gelatina al agar en la preparación de medios de cultivo sólidos, porque la atacan y descomponen muchas bacterias y porque funde a 37°C. Se añade a los medios de cultivo principalmente para probar hasta qué punto y qué manera la licúan los microorganismos con actividades proteolíticas, o si no lo hacen, lo cual es de importancia para clasificarlas.

g) Carbohidratos: con frecuencia se agregan a los medios de cultivo sustancias fermentables con doble objeto:

1. Proporcionar reservas de energía fácilmente disponible, siempre que los gérmenes elaboren las enzimas necesarias para fermentar dichos carbohidratos. Además suministran carbono para la síntesis.
2. Mediante reacciones de fermentación, contribuyen ampliamente a identificar y clasificar microorganismos. (20)

MEDIOS DE CULTIVO SOLIDOS EN PLACAS UTILIZADOS EN
LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN EL LABORATORIO:

1. Agar Sangre: medio de cultivo de utilidad general. - Gram + y - . Su utilidad más común: aislamiento y cultivo de gérmenes delicados.

Composición: agar sangre estéril, tryptosa, cloruro de sodio.

2. Agar con eosina y azul de metileno (E.M.B.):

Composición: peptona ----- 1 g.
lactosa ----- 5 g.
sacarosa ----- 5 g.
fosfato dipotásico - 2 g.
agar -----13.5g.
eosina y ----- 0.4g
azul de metileno --- 0.065 g.
agua destilada ----- 1.000 ml.

Utilidad más común: aislamiento y diferenciación de bacilos gram negativos. Inhibe el crecimiento de gérmenes gram positivos.

3. Gelosa chocolate:

Composición: agar, almidón, peptona, sangre hemolisada por calor (achocolatada) o hemoglobina, fosfato dipotásico, cloruro de sodio.

Utilidad más común: favorece el crecimiento de Neisserias, gonococos, meningococos.

4. Agar dextrosa de sabouraud:

| | |
|--|--------|
| Composición: agar dextrosa de Saboraud ----- | 32.5 g |
| agar de polvo ----- | 2.5 g |
| agua destilada ----- | 500 ml |

Utilidad: este medio selectivo se emplea para el aislamiento de hongos cuando pueden existir otros microorganismos contaminantes.

5. Agar con Soya y Trypticase (A.S.T.):

| | |
|--------------------------------------|----------|
| Composición básica: Trypticase ----- | 15 g. |
| Peptona de Soya ----- | 5 g. |
| Cloruro de Sodio ----- | 5 g. |
| Agar ----- | 15 g. |
| agua destilada ----- | 1.000 ml |

(pH final 7.3)

Utilidad: propósitos generales gram + y -. Aerobias y anaerobias. Cultivo de bacterias delicadas. Su capacidad para favorecer el crecimiento de patógenos cubre un espectro muy amplio.

6. Brolacin Agar:

Composición: gramos por litro.

| | |
|-------------------------|----------|
| Extracto de carne ----- | 3.0 g |
| Peptona y Caseina ----- | 4.0 g. |
| Universal peptone ----- | 4.0 g. |
| Lactose ----- | 10.0 g. |
| L(-) (cystine) ----- | 0.128 g. |
| Bromothymol Blue ----- | 0.02 g. |
| agar - agar ----- | 12.0 g. |
| pH incluido ----- | 7.3 |
| uso mediano a ----- | 37°C |
| ‡ 0.1 (20) | |

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

En las ocasiones en que sea necesario preparar un medio de cultivo por no existir en forma deshidratada o por conveniencia particular, deben seguirse los principios que rigen tal preparación, siendo los más importantes:

1. Asegurar cantidades adecuadas de sustancias estimulantes del desarrollo, pesando con exactitud los distintos ingredientes, de manera que existan entre ellos las relaciones químicas y nutritivas adecuadas.
2. Adaptar la reacción final del medio de cultivo a un pH óptimo para los gérmenes que se vayan a cultivar.
3. Emplear la menor filtración posible.
Emplear el mínimo de calor en la esterilización.

Ajuste del pH:

La reacción química del medio ejerce considerable influencia sobre la germinación y desarrollo de las bacterias. La reacción óptima para la mayoría de las bacterias que se hallan en trabajos clínicos ordinarios varía entre pH 7.0 a 7.6; dado que la esterilización -

a un valor un poco más alto.

Los medios de cultivo para fines especiales requieren determinados y tal vez diferentes concentraciones de iones hidrógeno.

Para medir el pH de los medios de cultivo pueden emplearse papeles indicadores o potenciómetros, especialmente cuando los medios de cultivo son intensamente coloreados.

La reacción se corrige añadiendo el suficiente volumen de un alcalino o de un ácido débil, según sea el caso.

(20)

MEDIOS DE CULTIVO DESHIDRATADOS

Tal es el caso de los medios utilizados para este trabajo.

El número de medios de cultivo es limitado según las necesidades específicas del microorganismo para su crecimiento, así como las finalidades determinadas para lo que se empleen.

Las primeras soluciones para el cultivo de bacterias y otros microorganismos incluyeron materiales naturales, tales como sustancias orgánicas y minerales obtenidas de vegetales o extractos o cocimientos de tejidos animales.

Los extractos tisulares se conocen como infusiones. No obstante, su composición no se conocía exactamente y no podían reproducirse con precisión.

Actualmente se emplean medios precisos químicamente o medios sintéticos, que pueden reproducirse exactamente en cualquier momento dado que las fórmulas químicas de sus constituyentes son exactas.

En la actualidad la inmensa mayoría de los medios de cul-

tivo son preparados por procedimientos industriales y se expenden en forma seca, en polvo, solubles en agua.

Usualmente todo lo que se requiere en la preparación de medios deshidratados es disolver la cantidad determinada del polvo (de acuerdo con las instrucciones que acompañan al medio), en agua destilada.

Distribuirlos como se requiera y esterilizarlos.

Estos medios son muy cómodos para el trabajo, estables y muy efectivos; su composición es compleja y abarca una gran cantidad de sustancias. (20)

REHIDRATACION:

El procedimiento empleado para disolver el medio de cultivo deshidratado determina muy a menudo la claridad y acción del producto final. Es indispensable conseguir la homogeneidad y que la exposición al calor sea mínima. Por lo tanto, se realizó lo siguiente para obtener los mejores resultados:

La cantidad requerida del material en polvo se agrega a la mitad del volumen de agua, y después de mezclar bien -

se añade el resto del agua lavando las paredes del recipiente y agitándolo. Es más fácil hacer la dispersión y solución del polvo cuando se emplea agua destilada a 45 o 50°C que con agua fría para obtener buenas suspensiones - de agar se recomienda dejarlas reposar durante 5 minutos, más o menos, agitando de vez en cuando. Muchas de las fórmulas que no contienen agar, gelatina o cistina, se pueden disolver en frío, mientras que las que las contienen necesitan calentamiento a fin de poderlas distribuir y esterilizar.

No se recomienda el calentamiento sobre la llama, aunque a menudo se procede así.

Se debe preferir el empleo de baño María o de vapor.

Para disolver, hay que hacer hervir tan brevemente como sea posible, de ordinario bastan 1 o 2 minutos para obtener una disolución completa.

Los métodos inadecuados de rehidratación y esterilización pueden dar lugar a una estratificación y separación de los componentes, con formación de precipitados y obscurecimiento.

También pueden alterar seriamente las propiedades que estimulan el crecimiento, y las partes de los productos resultantes pueden variar de color, estado físico, eficacia y otras características.

De esta manera se rehidrataron los medios de cultivo utilizados, excepto, agar sangre y gelosa chocolate que se realiza con algunas pequeñas variantes.

PREPARACION DE MEDIOS ESPECIALES:

a) Agar sangre:

Para rehidratar el medio se suspenden 4.0 g. en 100 ml de agua destilada, se calienta o se coloca a baño María o de vapor para disolver el medio completamente. Se esteriliza en autoclave durante 15 minutos a 15 libras de presión. En una caja de petri estéril se colocan de 0.5 a 0.7 ml de sangre desfibrilada estéril y se agregan 10 ml de agar sangre base fundido y enfriado a 45-50 grados centígrados. Se hace girar la placa suavemente hasta que la sangre se mezcla bien con el medio. Hay que evitar la formación de burbujas de aire si esto sucede, se destapa la caja y rápidamente se hace pasar la superficie del medio la de un mechero bunsen. Las placas quedan en un color rojo vivo.

b) Gelosa chocolate:

El agar chocolatado es un agar al que se ha agregado - sangre o hemoglobina, y calentado hasta que el medio - tome un color castaño o chocolatado.

El método para prepararlo es el siguiente:

Hacer una suspensión con suficiente agar proteasa # 3, (Eugonagar) o agar base gelosa chocolate en agua destilada, hasta obtener un producto al doble de concentración. Mezclar bien y calentar hasta la ebullición, durante 1 minuto, con agitación frecuente: poner en autoclave 121°C durante 15 minutos. Al mismo tiempo, esterilizar en autoclave igual volumen de hemoglobina al 2%. Preparada por adición gradual de agua destilada a la hemoglobina deshidratada, para obtener una suspensión homogénea. Enfriar ambas soluciones hasta 50°C - aproximadamente, agregar el suplemento (enriquecimiento Iso-vitalex o suplemento B o C) y combinar, tomando precauciones bacteriológicas; volcar en cápsulas de petri desechables esterilizadas. Se obtienen resultados óptimos con las placas recién preparadas.

Para determinar la esterilidad se incuban una o dos - placas por cierto número preparadas, durante toda la -

noche a 35°C.

Estas placas se desechan. (20).

E S T E R I L I Z A C I O N

Se utilizó el método de calor húmedo. Hay que seguir las indicaciones de la etiqueta del frasco que contiene el me dio de cultivo deshidratado.

En el procedimiento se utilizó 15 libras de vapor durante 15 minutos. Temperatura 121.3°C. Cuando las cantidades a esterilizar son grandes como por ejemplo 500 ml a 1 litro debe prolongarse el tiempo de esterilización a 30 minutos, en el caso indicado; no así la temperatura o la presión.

A veces es necesario una presión inferior como en la este ril iz ac io n por calor de algunas soluciones de hidratos de carbono. Una presión de 10 a 12 libras durante 15 minutos, reducirá la posibilidad de hidrólisis.

No se recomienda utilizar un tiempo de esterilización mayor de 30 minutos, porque el recalentamiento puede ocasio nar la destrucción de los componentes nutricios de la mez

cla. Una vez hecha la preparación y la esterilización - del medio, se prosigue a la preparación de las placas.(14)

PREPARACION DE PLACAS

Para preparar placas de agar, se cuenta con cajas de petri, de vidrio o plástico (cajas desechables) previamente esterilizadas. El medio de cultivo, ya preparado, es t^{er}il, fundido a baño María y enfriado a 45-50°C, se vierte en la caja en volumen de 10 a 15 ml., según las dimensiones de la caja de petri o el grueso de la capa de agar que se requiera.

Para vaciar el líquido, hay que destapar la caja sólo lo suficiente para que pueda la boca del tubo o matraz que contenga el medio fundido, y siempre cerca de la flama de un mechero Bunsen.

Usualmente una buena llama produce una área libre de gérmenes de más o menos 10 centímetros de diámetro.

El líquido vertido se extiende uniformemente sobre el fondo de la caja, dando a ésta suaves movimientos de rotación.

Se dejan las placas a temperatura ambiente durante unos minutos y después se llevan al refrigerador, para completar la solidificación.

Se debe evitar siempre el preparar placas con el medio de cultivo muy caliente, a fin de descartar la posible formación de gotas de agua de condensación y el exceso de humedad superficial.

ALMACENAMIENTO DE LOS MEDIOS PREPARADOS

El tiempo que duran algunos medios almacenados puede prolongarse en refrigeración.

El agar en placas es preferible emplearlo el mismo día de su preparación, si esto no es posible, las placas deben colocarse en el refrigerador tan pronto como se hayan solidificado, incubándose una o más como muestras representativas para comprobar su esterilidad.

Los medios preparados que han estado en el refrigerador, deben sacarse unas horas antes de usarlos; de no hacerlo así, y como medida de seguridad, se recomienda que se incuben durante media hora, más o menos, antes de la siembra.

REGLAS GENERALES DE LA SIEMBRA

El uso de las técnicas apropiadas en la inoculación de medios de cultivo dará por resultado un rápido crecimiento de cultivos viables (con capacidad de desarrollarse).

La siembra deben hacerse evitando movimientos bruscos o excesiva lentitud en las manipulaciones para evitar contaminaciones.

Debe trabajarse siempre cerca de un mechero Bunsen al inocular, ya que la corriente ascendente de aire que va por la flama arrastra el polvo, gérmenes, etc., con el aire hacia arriba, alejándolo de la placa, cuando el aire se enfría, el polvo se precipita lejos.

La siembra se practica por lo general valiéndose de asas y alambres de inoculación.

Siempre hay que dejar enfriar el asa antes de tomar el inóculo para evitar la muerte de las bacterias.

LA TÉCNICA UTILIZADA ES LA SIEMBRA EN ESTRIAS:

La siembra en estrías es el procedimiento que se emplea -

con más frecuencia.

El estriado sobre la superficie de placas de agar es usado especialmente para aislar cultivos puros a partir de especímenes conteniendo flora mixta. Es el mejor método para obtener organismos creciendo en cultivos puros denominados cepas, lo cual se pondrá de manifiesto por la homogeneidad y características de las colonias aisladas.

También es útil para el estudio de las colonias aisladas y de las propiedades hemolíticas de las bacterias que las forman, cuando el cultivo se ha hecho sobre placas de agar sangre.

La superficie del agar debe ser suave y ligeramente húmeda, más bien seca, pues la humedad excesiva puede ocasionar crecimiento confluyente e impide los propósitos de aislamiento de colonias para obtener cultivos puros.

La siembra por estriamiento consiste en extender el material por cultivar en líneas paralelas o estriadas, cubriendo ampliamente la superficie del agar, en forma que las bacterias se distribuyan adecuadamente.

Al ir avanzando la estría, menos y menos células van sien

do dejadas con el asa y finalmente ésta puede depositar células aisladas sobre el agar. (20)

Para llevar a cabo uno de los fines pretendidos en esta tesis, lo cual es detectar el grado de asepsia en que se encuentran las puntas de gutapercha al momento de ser adquiridas, se describe la siguiente técnica realizada:

Esta prueba se practicó tres veces utilizando cajas nuevas cada vez, de las distintas marcas de gutapercha.

Material:

Puntas de gutapercha estandarizadas:

- a) DMS
- b) Hygenic
- c) Dentsply
- d) Donou-Tex
- e) Schein
- f) Endo-aide.

Medios de cultivo:

- a) Agar Eosina y Azul de Metileno (E.M.B.)
- b) Agar sangre
- c) Agar Soya y Trypticase (A.S.T.)
- d) Brolacin Agar

Material de laboratorio:

- a) Cajas de Petri

- b) Pinzas de curación.
- c) Estufa de cultivo.
- d) Mechero Bunsen
- e) Encendedor.

TECNICA:

Primeramente se numeraron las cajas de gutapercha, así como los distintos medios de cultivo, con los números del uno al seis.

Una vez en orden se procedió a la siembra, modificándola un poco de su manera frecuente de realizar: cerca de un mechero Bunsen se destapa la primera caja de gutapercha - marcada con el número uno, y se acercaron las cuatro placas de agar marcadas con el mismo.

Con unas pinzas de curación previamente esterilizadas se tomó una punta de gutapercha, estriando con ésta una parte de la superficie del agar, terminando se dió unos pequeños giros a la punta sobre el medio de cultivo (a manera de cateter).

En seguida se flamea la parte activa de la pinza, se deja enfriar un poco para luego tomar otra punta de la misma -

caja y colocarla cerca de la anterior, dando también unos pequeños giros.

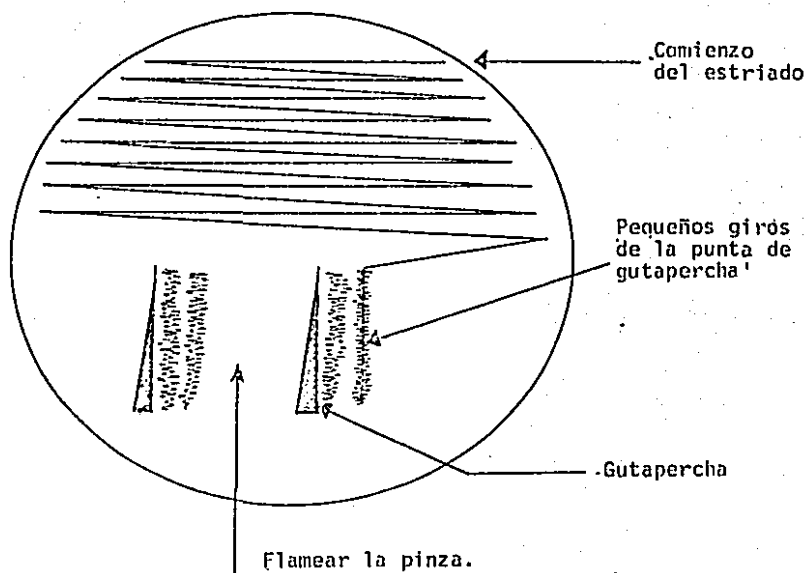
Terminando la siembra de esta primera placa se continúa - con las otras tres placas restantes de la misma numera--- ción.

Y así sucesivamente hasta terminar con las cinco cajas de gutapercha faltantes.

Terminada la siembra de las veinticuatro placas, en una - estufa de cultivo que sirvió como medio de incubación per- manecieron las muestras selladas por espacio de 72 horas a 37°C.

✓ Prolongado a 7 días el tiempo de incubación por la posi- ble aparición de algunas especies de hongos.

SIEMBRA DE MARCAS DE GUTAPERCHA



Utilizando los mismos pasos operatorios, el mismo método de siembra, con medios de cultivo como: Agar Eosina y Azul de Metileno, Agar Sangre, Agar Soya y Trypticase, Broth Agar, que el procedimiento de cultivo de puntas de gutapercha de distintas marcas y de manera como fueron adquiridas de los distintos proveedores, se llevó a cabo la siembra de algunas puntas de gutapercha, marca Hygenic - que provenían de una caja con ocho días de haberse expuesto al medio ambiente y estarse utilizando.

Tiempo de incubación: 72 horas.

A 37 grados centígrados.

Durante la realización del tratamiento endodóntico, pueden practicarse algunos procedimientos que dan como resultado la contaminación del mismo.

Como prueba complementaria y ya es común, durante la endodoncia, que se pruebe la punta principal de gutapercha en un conducto antes de obturarlo y si no es la adecuada, se regresa al recipiente original. En muchas ocasiones ya contaminada con microorganismos, probablemente patógenos para la susceptibilidad de algunos de nuestros pacientes.

En este trabajo se aplicó la misma metodología que en el anterior, para la identificación de microorganismos, a fin de comprobar que las puntas de gutapercha son susceptibles de contaminación por utilizarlas sin seguir un método de asepsia.

Se realizó en ocho pacientes que fueron atendidos por cinco odontólogos de práctica general y tres odontólogos especialistas en endodoncia.

Medios de cultivo utilizados:

- a) Gelosa sangre
- b) Gelosa chocolate
- c) Agar dextrosa de Sabouraud

d) Agar Eosina y Azul de Metileno.

TECNICA:

Primeramente se anotó el número uno a los cuatro distintos medios utilizados que correspondería al primer paciente.

Cuando el paciente está preparado, con todas las medidas asépticas como son aislamiento mediante dique de goma en la pieza a tratar, comprobando que no existe penetración de líquidos bucales.

Desinfectada toda el área operatoria con el antiséptico - (mertiolate), y en el paso operatorio deseado, el personal clínico provisto con su gorro, cubrebocas y guantes - estériles, auxiliándome de dos lámparas de alcohol juntas, unas pinzas de curación estériles, se procede a tomar la muestra y realizar el cultivo.

El odontólogo prueba su punta de gutapercha de la manera acostumbrada, y al no ser la deseada para clasificarla como punta muestra es retirada del conducto e inmediatamente cultivada.

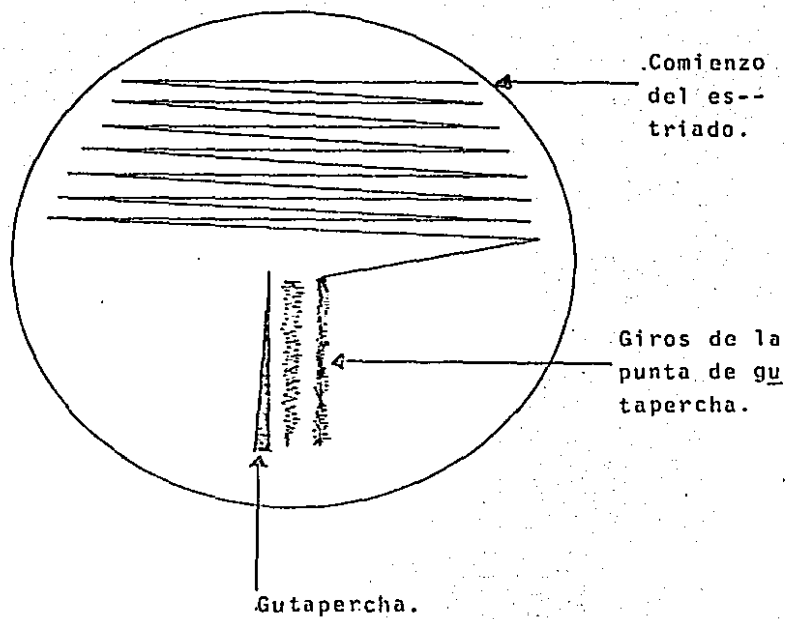
Fue necesario probar otras tres puntas más en un mismo pa

ciente, en una misma pieza dental cuando no se trataba de un diente multirradicular, para los medios de cultivo restantes.

Una vez tomada la punta que fue introducida en el conducto radicular con la pinza de curación estéril, es trasladada cerca de los mecheros y las placas de agar, que fueron colocadas lo más cerca posible a la boca del paciente.

Dentro de l área aséptica que nos proporcionan los mecheros se destapa la primera placa de agar y con la punta de gutapercha, se realiza la siembra mediante el método de estrias, que cubre una parte de la superficie del agar, - colocando en la terminación del estriado la punta de gutapercha y dando unos pequeños giros a ésta para abarcar mayor superficie en el medio de cultivo.

Una vez obtenido esto, se tapa inmediatamente la caja de petri para evitar contaminaciones.



Este mismo procedimiento se realiza para la siembra de - los otros tres medios de cultivo faltantes en este primer paciente.

De igual manera se realizó la toma y siembra de muestras en los siete pacientes restantes, siempre tomando en cuenta las reglas generales para la siembra, y sobre todo, un riguroso cuidado en la esterilización de todo el campo - operatorio, para evitar en lo máximo la posibilidad de obtener cultivos positivos falsos.

Las placas de cultivo se sellaron y se incubaron durante 72 horas a 37 grados centígrados, en estufa de cultivo. - Prolongando su incubación a 7 días (por la razón ya men- cionada anteriormente).

R E S U L T A D O S

A continuación se citan los resultados obtenidos al analizar, mediante procedimientos bacteriológicos, las puntas de gutapercha (de marcas Hygenic, DMS, Dentsply, Donau-tex, Chein, Endo-Aide), y recién adquiridas en el depósito dental y otras que habían sido probadas directamente en el conducto radicular, durante la fase de obturación - pero que por no tener el tamaño adecuado se regresaron al recipiente que las contenía.

Así como la caja de puntas de gutapercha marca Hynenic a ocho días de estarse utilizando en el consultorio.

En la primera fase de comprobación de las diversas puntas examinadas, se colocaron dos conos de gutapercha, de cada una de las marcas mencionadas, sembradas en agar Eosina y Azul de Metileno, Agar Sangre, Agar Soya y Trypticase, - Brolacin Agar.

Las veinticuatro cajas cultivadas se incubaron durante - 24, 48, 72 horas en estufa de cultivo a 37°C.

Presentó resultados negativos. Tres veces se realizó este mismo procedimiento, coincidiendo en cada uno el mismo re

sultado.

Al analizar las placas de cultivo que contenían las puntas de gutapercha de 8 días de estarse utilizando en el consultorio, se encontraron distintas colonias de bacterias en las cuales se realizó un método de coloración especial, coloración de Gram; que permite distinguir entre diferentes bacterias que pueden mostrar una morfología similar.

PREPARACION DE FROTIS BACTERIANOS PARA COLORACION

La coloración se efectúa siempre en extensiones o frotis de la muestra por examinar en una lámina portaobjetos.

Los portaobjetos deben estar limpios y desgrasados; antes de emplearlos se pasan por la llama dos o tres veces. En general, una muestra del espécimen original puede ser colocada directamente sobre el portaobjetos, o bien, ser recogida con una asa o torunda de algodón estéril, recordando siempre tener una preparación delgada y homogénea. Una colonia puede ser examinada haciendo con ésta una emulsión ténue.

En este caso se colocó una gota de agua destilada en la -

laminilla fría y una cantidad pequeña de material bacteriano, recogido con una asa de platino estéril y se extiende de manera de formar una película delgada y uniforme.

Se hace que ésta seque en el aire o con el calor moderado y en seguida se hace la fijación del frotis. Es indispensable como paso previo para la coloración, la fijación del frotis para que los microbios y los elementos celulares no sean arrastrados en las manipulaciones siguientes en que intervienen soluciones acuosas. La fijación se produce por la coagulación de las albúminas de la célula bacteriana.

La fijación consiste en pasar el frotis, ya completamente seca, unas 4 o 5 veces por la llama, procurando que la lámina no se caliente demasiado. El calor deseable es aquél en que el portaobjetos sea apenas demasiado caliente para ser colocado sobre el dorso de la mano, ya que el calor excesivo puede alterar la forma bacteriana.

Todo este procedimiento se realiza dentro del campo estéril que nos proporciona el mechero. (20)

COLORACION DE GRAM

La coloración de Gram se encuentra entre las más importantes para las bacterias.

Al examen microscópico de un extendido coloreado por el método de gram que contenga una flora bacterina mixta, aparece las características diferenciales del método.

Muchas bacterias habrán conservado la combinación violeta-yodo y se teñirán de púrpura (gram positivas), otras se colorean de rojo por la safranina (gram negativas).

De esta manera, con este procedimiento no sólo se hacen visibles la forma, tamaño y otros detalles estructurales, sino que pueden agruparse los microorganismos presentes en tipos gram positivos y gram negativos, por sus reacciones.

Constituye así un importante elemento diagnóstico en los métodos de identificación siguientes:

Es probable que la diferencia en la reacción de coloración entre las bacterias gram positivas y gram negativas se puede atribuir a su diferente composición química. Las

paredes de la célula gram negativa tiene un contenido lípido más elevado que las células gram positivas, y aunque en ambas se forma un complejo cristal violeta-yodo, el alcohol extrae el lípido de las células gram negativas y aumenta por lo tanto la permeabilidad celular. Esto da por resultado la pérdida del complejo colorante. El mismo es retenido por las células gram positivas, en las cuales la deshidratación por el alcohol ocasiona una disminución de la permeabilidad. (20).

METODO PARA LA COLORACION DE GRAM

1. El frotis fijado a calor se cubre durante un minuto con cristal violeta.
2. Lavar con agua corriente.
3. Cubrir el frotis con lugol (solución yodo-yodurada) durante un minuto.
4. Lavar con agua corriente.
5. Decolorar el frotis, hasta decoloración completa, con alcohol al 95% o con alcohol acetona a partes iguales, la decoloración suele verificarse en el término de 30 segundos. Se conoce que es completa cuando el decolorante no sale reñido con el cristal violeta; conviene que esta operación sea rápida para evitar una decoloración excesiva.

6. Lavar con agua corriente.
7. Cubrir el frotis con fusina fenicada o safranina durante 30 segundos.
8. Lavar con agua corriente, se deja secar al aire y examinar con objeto de inmersión.

Bacterias gram positivas = teñidas en azul negro o violeta obscuro.

Bacterias gram negativas = teñidas en rojo.

Al examen microscópico con objetivo de inmersión se observó los siguientes resultados:

Bacillus gram - esporulados. Bacillus S/P. Difteroides, -
Bacillus gram + esporulados.

A 72 hrs de incubación se aislaron algunos hongos, que mediante la técnica de microcultivo y la morfología colonial se identificaron como:

Hongos Penicillium S/P. Candida Albicana, y Mucor S/P.

TABLA 2

| MEDIOS DE CULTIVO | GUTAPERCHA MARCA HYGENIC 8 DIAS DE HABERSE EXPUESTO AL MEDIO AMBIENTE Y ESTARSE UTILIZANDO EN EL CONSULTORIO | | | | | |
|--------------------------------------|--|--------------------------------------|--------------------------------------|--|--------|------|
| | T I E M P O D E I N C U B A C I O N | | | | | |
| | 12 HORAS | 24 HORAS | 48 HORAS | 72 HORAS | 7 DIAS | 37°C |
| AGAR EOSINA Y AZUL DE METILENO | - | - | BACILLUS GRAM NEG. ESPORULADOS | - | - | " |
| AGAR SANGRE | - | BACILLUS GRAM POS. ESPORULADOS | - | PENICILLUM S/P CANDIDA ALBICANS | - | " |
| AGAR SOYA Y TRYPTICASE | - | - | BACILLUS S/P. DIFTEROIDES | MUCOR S/P | - | " |
| BROLACIN A G A R | - | - | - | - | - | " |

Algunas fases del procedimiento anterior se efectuaron - cuando se analizó los resultados de las cajas cultivadas con puntas que fueron aprobadas en conductos radiculares in vivo.

Se seleccionó las diferentes colonias encontradas en los distintos medios de cultivo, a las cuales se les realizó un frotis, que fue teñido mediante la técnica de coloración de Gram, lo cual se especificó su propósito y método anteriormente.

Al realizar la identificación bacteriana mediante la microscopía se observaron la existencia de:

Diplococcus gram-, Neisserias S/P. Bacillus gram+
Cocos gram+ agrupados en racimos, Difteroides, Bacillus S/P.

De la colonia que presentaba Cocos gram+ en racimos, tomando en cuenta las características microscópicas, por no considerársele ya residente normal de cavidad oral, se procedió a realizar lo siguiente:

En una placa de agar sangre se realizó la transferencia de la colonia, para la obtención de un cultivo puro.

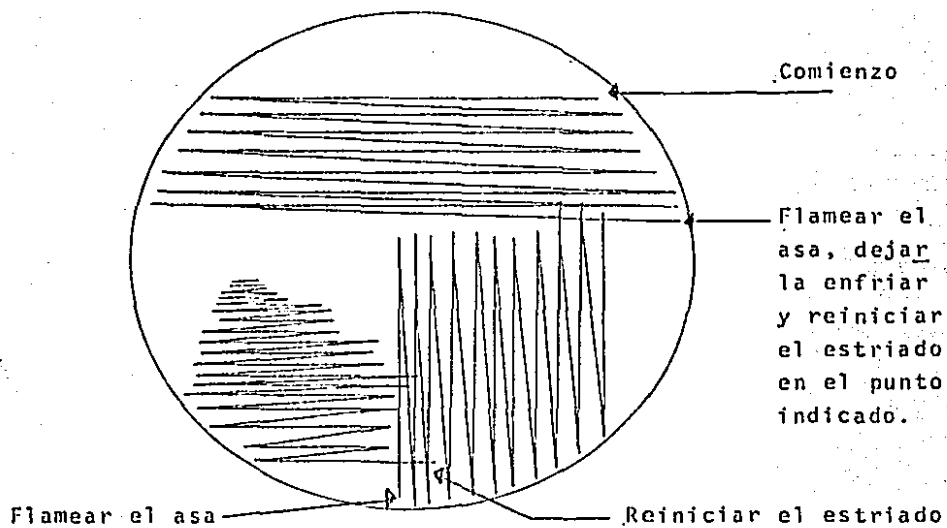
Cerca de la flama de un mechero Bunsen, mediante una asa, o alambre recto de platino o nicromo, fijado a un mango.

El asa o alambre se flamea en toda su longitud hasta el rojo vivo, manteniéndola verticalmente en la llama del mechero. Se flamea también brevemente algunas pulgadas del mango del asa, adyacentes al alambre y se deja enfriar.

Como la mano izquierda se toma la placa de cultivo sosteniéndola en tal forma que pueda verse claramente la colonia, se levanta la cubierta de la caja por uno de sus lados, apenas lo preciso para dejar pasar el alambre y con él se toca la colonia superficial seleccionada.

Se cierra inmediatamente la placa de cultivo y se toma la placa de agar en la cual se va a depositar la muestra, la siembra se realizó por medio de estrias que anteriormente se explicó la técnica.

Se incubó 24 horas a 37°C.



Una vez obtenido nuestro cultivo puro, que presentaba cocos gr+ en racimos, se realizó pruebas Bioquímicas diferenciales de las bacterias, mediante las pruebas de:

Catalasa, Manitol, Coagulasa y Caldo Soya Trypticase (plasma).

PRUEBA DE CATALAZA:

La mayoría de las bacterias producen peróxido de hidrógeno en presencia de oxígeno libre.

Dado que el peróxido de hidrógeno es tóxico para las células vivas, es importante que sea destruido. La catalaza es una enzima capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso.

Esta reacción proporciona un mecanismo de eliminación de peróxido de hidrógeno, que el contrario se acumularía en un cultivo y mataría a los microorganismos que lo producen.

Prueba: del cultivo crecido sobre agar sangre, (cultivo puro), se toma una porción del crecimiento y emulsiona con una gota de agua sobre un porta-objetos. Se agrega una gota de peróxido de hidrógeno. Lo cual en este caso resultó ser positivo, y se observaron formaciones de burbujas.

PRUEBA DE COAGULASA:

Es un producto metabólico, una enzima liberada por algunas bacterias, capaz de coagular el plasma sanguíneo huma

no.

TECNICA:

Del cultivo puro de agar sangre, se tomó una muestra de la germinación bacteriana y se añade a un tubo de ensayo que contiene 0.5 ml. de plasma fresco.

Se incubó a 37°C y se observa a los 30 minutos 1, 2, 3 y 24 horas.

La técnica de Manitol se realiza de la misma manera que la coagulasa. Sólo que se le añade la muestra a un tubo que contenga manitol.

Con el mismo tiempo de incubación y temperatura.

RESULTADOS:

| | |
|-----------------------|---|
| Catalaza | + |
| Manitol | + |
| Coagulasa | - |
| Caldo Soya Trypticase | + |

Después de haber analizado el crecimiento bacteriano al microscopio y tomando en cuenta los resultados obtenidos de las reacciones bioquímicas, se identificó la presencia de: STAPHYLOCOCCUS SAPROPHYTICUS, encontrando en el culti

vo de una de las puntas de gutapercha probadas en el conducto radicular, mesio lingual de un primer molar inferior izquierdo.

Paciente femenino de 38 años de edad. El tratamiento fue realizado por un odontólogo de práctica general.

En la placa que contenía el cultivo puro, realizado en agar sangre, se practicó la prueba de resistencia y susceptibilidad a los antibióticos:

STAPHYLOCOCCUS SAPROPHYTICUS:

Resistente:

- a) Cefalotina
- b) Cloxacilina
- c) Estreptomina
- d) Penicilina
- e) Lincomicina
- f) Sulfametoxazol y Trimetropin
- g) Novobiocina
- h) Amikacina
- i) Ampicilina
- j) Gentamicina

Susceptible: a) Eritromicina b) Tetraciclina.

C O N C L U S I O N E S

En el presente trabajo después de haber realizado los procedimientos y pruebas de laboratorio necesarios para verificar el estado de asepsia en que se expenden las puntas de gutapercha provenientes de las distintas casas comerciales como son: Endo-Aide, Donau-Tex, Hygenic, DMS, - - Dentsply, Schein, lo cual obtuvimos como resultado un material libre de bacterias.

Pero esto no quiere decir que este material no sea susceptible de contaminaciones, puesto que la muestra que contenía puntas de gutapercha de 8 días de haberse expuesto al medio ambiente y estarse utilizando en el consultorio, resultó positiva identificando:

Bacillus gram positivos esporulados, Difteroides, Bacillus gram negativos esporulados, Bacillus s/p.

Hongos como: Penicillium s/p, Candida Albicans y Mucor s/p.

Así mismo, aquellas puntas que son probadas y devueltas al recipiente original que las contiene, aumentan la posibilidad de contaminación:

Identificándose en el presente estudio:

Diplococcus gram negativas, Heisserias s/p, Bacillus -
gram positivas, Difteroides, Staphylococcus Saprophyti-
cus (con alta resistencia a los antibióticos), Baci---
llus s/p.

Esto confirma que se tendrá la certeza de utilizarse pun-
tas de gutapercha libres de gérmenes, en un tratamiento -
endodóncico realizado inmediatamente después de abrir una
caja nueva de este material.

Es la gutapercha, un material, por tanto, susceptible de
contaminación, por lo que antes de su uso clínico deberá
exigirse permanecer en inmersión en un medio antiséptico.

La posibilidad de que la acción bactericida y bacteriostá-
tica del material cementante puedan impedir la reproduc--
ción bacteriana pueden fallar por diversas causas. Por -
lo tanto, el clínico no debe basar esta propiedad en el -
éxito del tratamiento.

A través de este estudio realizado y tomando en cuenta -
los resultados obtenidos, tengo la certeza que sí es posi-
ble llegar a fracasar en un tratamiento endodóncico por -

utilizar materiales de obturación contaminados.

B I B L I O G R A F I A

1. A. Stabholz, S. Friedman
Eficacia de diferentes agentes químicos para descontaminar los conos de gutapercha.
Journal Endodontic.
Vol. 20 N° 5, Sep. 1987.

2. Banderas Tarabay José
SIDA: Manifestaciones orales y su prevención en la práctica dental.
Práctica Odontológica.
Vol. 9, N° 1, Enero 1988.

3. Cohen Stephen
Burns Richard
Los caminos de la pulpa
Editorial Intermédica.
Buenos Aires, 1979.

4. Grossman Louis I.
Práctica Endodóntica.
Editorial Mundi, S.A. I.C. y F.
Novena Edición
Argentina, 1981.

5. Ingle John Ide.
Taintor Jerry F.
Endodoncia.
Editorial Interamericana
Tercera Edición
México, 1987.
6. Ingle Berdge
Edgerton Beridge Edward
Endodoncia
Editorial Interamericana
Segunda Edición
México, 1982.
7. J. Peter Engelhardt
Factores que afectan la esterilización en esteriliza
dores de bolitas de vidrio.
Journal of Endodontics
Vol. 10, N° 10, Octubre 1984.
8. Lasala Angel
Endodoncia
Editorial Cromotip, C.A.
Segunda Edición
Venezuela, 1971.

9. Luks Samuel
Endodoncia
Editorial Interamericana
México, 1978.

10. Mario Roberto Leonardo
Leal Jayme Mauricio
Simoes Filho Ariano Penteado
Endodoncia (Tratado de los conductos radiculares)
Editorial Panamericana
Argentina, 1983.

11. Maisto Oscar A.
Endodoncia
Editorial Mundi
Segunda Edición
Argentina, 1973.

12. Mondragón Espinoza Jaime
Conos de Gutapercha
Estudio de Laboratorio
Práctica Odontológica
Vol. 8 N° 5, Mayo 1987.

13. Marvin.O. Ludlow
Rápida esterilización de la gutapercha después de -
contaminada
Quintessence International
Vol. 17, Julio 1986.

14. Nolte William A.
Microbiología Odontológica
Editorial Interamericana
Tercera Edición
México, 1982.

15. Preciado Vicente
Endodoncia
Editorial Cuéllar
México, 1984.

16. R.J. Frank y G.B. Pelleu
Descontaminación de gutapercha con glutaral dehidros
Journal Of Endodontics
Vol. 9, N° 9, Sep. 1983

17. R.A. Martí, R. Ulfohn
Efectividad de aparatos de esterilización rápida utilizados en endodoncia.
Rev. Española de Endodoncia
Vol. 6, Sept 1988, Tomo II.

18. Solís Morán Carlos
Manifestaciones orales del SIDA
Práctica Odontológica
Vol. 8, N° 8, Agosto 1987.

19. Sommer Ralph Frederick y col.
Endodoncia Clínica.
Editorial Labor, S.A.
Barcelona, 1975.

20. Sydney Martín Finegold
William J. Martín
Diagnóstico Microbiológico
Editorial Panamericana
Sexta Edición
Buenos Aires, 1983.