

145



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

## “VERIFICACIÓN BIOLÓGICA POR CICLOS DE ESTERILIZACIÓN”

### T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA:  
MARYCEL M. GUTIÉRREZ GOUTRÉZ

TUTOR: DR. ENRIQUE ACOSTA GIO



FACULTAD DE  
ODONTOLOGÍA

MÉXICO, D.F.

2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la  
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el  
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: MARIEL ANIEREZ GOMEZ 2.  
FECHA: 7. SEP. 02.  
FIRMA: [Signature]

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi papá, Josechu, por ser la persona a la que mas admiro y respeto. ¡Gracias por tanto amor y por creer en mí.**

**A mi mamá, Marycel, porque con su cariño y su impulso he logrado llegar siempre tan lejos.**

**A mi hermano, Josechu, por ser un ejemplo a seguir y un gran amigo.**

**A Ana, por ser la hermana que todos quisieran tener.**

**A mi Tita Yoya, por hacerme ver las cosas tan claras y quererme tanto.**

**A mi Tita Leonor, por el amor que tiene en cada uno de nosotros, siempre tan incondicional.**

**A mi Mamina, por hacerme sonreír tanto.**

**A Analie, por ser mucho mas que una prima.**

**A Castor, por escucharme en todo momento y hacer que mi vida sea tan divertida**

**A toda mi familia y amigos, sin los que no sería tan feliz.**

**Al Dr. Enrique Acosta, ¡muchas gracias por orientarme en este trabajo!**

**A la Dra. Leonor Sánchez, por estar siempre disponible cuando la necesité.**

**A la U.N.A.M.**

# CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
I.    Desinfección y esterilización.....	3
I.1.    Métodos de esterilización.....	9
I.2.    Características de los métodos de esterilización.....	11
I.3.    Procedimientos para la esterilización.....	13
II.   Monitoreo de los ciclos de esterilización.....	14
III.  Indicadores Biológicos.....	16
III.1.  Características que deben de reunir los IB.....	17
III.2.  Verificación biológica.....	20
III.3.  Incubación de IB.....	21
III.4.  Características del género <i>Bacillus</i> .....	23
III.5. <i>Bacillus subtilis var níger</i> .....	24
III.6. <i>Bacillus stearothermophilus</i> .....	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	29
JUSTIFICACIÓN.....	29
HIPÓTESIS.....	30
OBJETIVO GENERAL.....	30
OBJETIVOS PARTICULARES.....	31
MATERIAL.....	32
TIPO DE ESTUDIO.....	32

<b>MÉTODO.....</b>	<b>33</b>
<b>I. Base de datos.....</b>	<b>36</b>
<b>I.1. Métodos estadísticos.....</b>	<b>40</b>
<b>I.2. Fórmulas utilizadas.....</b>	<b>41</b>
<b>I.3. Criterios de inclusión.....</b>	<b>42</b>
<b>I.4. Criterios de exclusión.....</b>	<b>42</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>43</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>50</b>

## RESUMEN

La esterilización del instrumental médico y dental es fundamental para el control de infecciones.

Los dentistas deben realizar la verificación biológica de los ciclos de esterilización por lo menos una vez al mes con indicadores biológicos (IB) ya que son el control de calidad en la esterilización.

El objetivo de este estudio fue evaluar 4448 pruebas sometidas a diferentes equipos esterilizadores a lo largo de varios años con un total de 90 consultorios participantes; 77.9% participó con autoclave (n=3465), el 13.6% con calor seco (n=606), 153 quemiclave (3.4%), con óxido de etileno 90 (2%) y por medio de flujo forzado participaron 134 pruebas (3%).

Los 5 métodos de esterilización presentaron fallas con frecuencias similares durante los años de participación. ( $\chi^2=4.792$ ,  $P>0.3093$ ).

El 24.4% (n=1085) de las pruebas se realizaron mensualmente; 907 (20.4%) quincenales, con una periodicidad semanal se efectuaron 1789 pruebas (40.2%) y de manera aleatoria se registró el 15% con un total de 667 pruebas.

Se detectaron fallas en 7.98% (n=355) de todos los ciclos de esterilización.

El 8% (n=278) en autoclave, el 8.7% (n=53) en calor seco; 14 fallas (9.15%) se detectaron en el método de quemiclave, 5.55% (n=5) fue registrado dentro del método de óxido de etileno y 5 fallas (3.75%) mediante flujo forzado.

De las 355 fallas encontradas (7.98%), 8.94% (n=97) fueron semanales, 76 fallas (8.37%) de manera quincenal, semanalmente se registró el 6.59% (n=118) y 64 fallas (9.59) fueron encontradas en la categoría de aleatorias, "otra" es decir, pruebas que se realizaron sin periodicidad alguna.

## INTRODUCCIÓN

El control de infecciones es esencial para poder llevar a cabo una práctica dental segura, por lo que se han implementado las siguientes medidas para lograr la esterilización: <sup>1</sup>

- Limpieza del instrumental.
- Empaquetado.
- Distribución de la carga. (En los paquetes del instrumental y en el esterilizador).
- Operación del equipo.
- Funcionamiento del aparato.
- Entrenamiento frecuente del personal a cargo.

### I. ESTERILIZACIÓN Y DESINFECCIÓN

La utilización de esterilizadores es importante en la prevención de las enfermedades infecciosas.

La esterilización es la destrucción de toda forma de vida microbiana, incluyendo: virus, bacterias, hongos y esporas bacterianas altamente resistentes, y se logra mediante procedimientos físicos o químicos.<sup>1</sup> La esterilización se da en objetos inanimados; las técnicas de calor son las más confiables.

La desinfección de alto nivel en soluciones esporicidas o "esterilización en frío", se lleva a cabo con líquidos germicidas químicos y son aplicados solo para reprocesar instrumentos semicríticos que sean termolábiles y que no resistan otros métodos de esterilización.<sup>2</sup> (cuadro 1).

La desinfección no es tan completa como la esterilización; los artículos que fueron desinfectados no quedan estériles.

El uso adecuado de los métodos de esterilización es importante para evitar que los instrumentos contaminados lleven infecciones de un paciente a otro (infecciones cruzadas).

La principal ventaja de la esterilización sobre los desinfectantes es que pueden ser monitoreados biológicamente durante su uso, por lo que poseen un mayor rango de seguridad; sin embargo debido a los materiales que contienen algunos instrumentos, se recurre a los desinfectantes con alto nivel germicida.<sup>3</sup>

Spaulding en 1972, dividió a los instrumentos según su uso para distinguir cuales deben de esterilizarse (cuadro 1) y cuales solo se pueden desinfectar.<sup>4</sup>

Spaulding también dividió a los desinfectantes de acuerdo a su poder germicida en niveles: alto, medio y bajo. (Cuadro 2).<sup>4</sup>

Los desinfectantes de alto nivel son comúnmente utilizados en el tratamiento de material médico y dental; éstos desinfectantes actúan rápidamente en ausencia de esporas bacterianas.

La efectividad de la actividad esporicida de los desinfectantes de alto nivel depende del agente químico y de la manera en como es utilizado.

Los germicidas clasificados como esporicidas pueden matar endosporas bacterianas resistentes, pero para lograrlo se requieren de 6 a 10 horas.

Los desinfectantes de actividad intermedia son tuberculocidas; no destruyen esporas bacterianas pero son efectivos contra los hongos (incluyendo esporas asexuales) así como virus lipídicos y no lipídicos pequeños y medianos.

Estos desinfectantes son fenólicos, sinérgicos e hipoclorito de sodio.

Los desinfectantes de bajo nivel germicida no son esporicidas ni tuberculocidas; no deben emplearse en el ambiente clínico. Los desinfectantes de bajo nivel destruyen rápidamente formas vegetativas de bacterias, hongos y virus pequeños y medianos. Estos desinfectantes son: cloruro de benzalconio (alquil dimetil bencil cloruro de amonio) y amonio cuaternario.

Los antisépticos son germicidas muy diluidos que se emplean sobre tejidos vivos, como heridas superficiales de la piel, para enjuagues bucales o para el lavado de manos. Los antisépticos son muy débiles y no pueden desinfectar superficies clínicas, ciertamente no sirven para desinfectar instrumental médico o dental.

**Cuadro. 1** Clasificación de instrumentos contaminados según Spaulding.

INSTRUMENTOS	CARACTERÍSTICAS
CRÍTICOS	Son aquellos que penetran a los tejidos y a sitios normalmente estériles: fórceps, bisturí, lima para hueso, etc.
SEMICRÍTICOS	Instrumentos que solamente tienen contacto con las mucosas. Ej: espejos y condensadores.
NO CRÍTICOS	Aquellos instrumentos que solo tocan la piel, equipo que en condiciones normales no penetra o hace contacto con las mucosas. Ej. Aparato de rayos X.

Los instrumentos que son desinfectados no están estériles y la destrucción microbiana que ocurre en este proceso no puede ser verificada, por lo que la utilización de desinfectantes se debe de limitar exclusivamente a los instrumentos semicríticos que son dañados por los métodos de esterilización mediante calor.

Cuadro 2. Clasificación de los niveles de desinfección. (Spaulding)

NIVEL	DESCRIPCIÓN Y EJEMPLO
ALTO	<p>Destruyen algunas endosporas bacterianas.</p> <p>En su etiqueta llevan el término esporicida</p> <p>Son antituberculosos.</p> <p>Ej. Glutaraldehído, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno y formulaciones de ácido-base periacético.</p>
INTERMEDIO	<p>Eliminan a <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, al virus de la Hepatitis B (VHB), pero no destruye esporas. Ej. Hipoclorito de sodio.</p>
BAJO	<p>Destruyen a la mayoría de las bacterias en vida vegetativa, algunos hongos y virus.</p> <p>Ej. Compuestos de amonio cuaternario.</p>

## I.1. METODOS DE ESTERILIZACIÓN

La esterilización del instrumental es fundamental. Sin embargo aunque el dentista cuenta con diferentes equipos (cuadro 3), los ciclos de esterilización fallan con frecuencia.<sup>5</sup> Las fallas pueden ser por error humano o por descompostura del equipo. (Cuadro 4).

Cuadro 3. Métodos de Esterilización.

VAPOR DE AGUA A PRESIÓN	20 min. 121°C 15 lb de presión.
VAPOR QUÍMICO SATURADO	3-5 min. 134°C 32 lb de presión
CALOR SECO - CONVECCIÓN NATURAL	60-120 min 170°C.
- FLUJO FORZADO	15 min. 200°C para instrumental envuelto. 6 min. 200°C para instrumental sin envolver.
ÓXIDO DE ETILENO	8-10 hrs. 20°C

El vapor de agua a presión (autoclave), funciona mediante vapor de agua, al cual se exponen todas las superficies de los instrumentos, facilitando la destrucción de los microorganismos. El autoclave funciona con agua destilada.

La mayoría de los hornos de calor seco consisten en cámaras metálicas que contienen resistencias eléctricas que generan calor, el aire caliente se trasmite a los instrumentos causando la muerte de los microorganismos.

El vapor químico saturado o quemiclave es muy similar al método de vapor de agua a presión (autoclave), pero utiliza una solución química de formaldehído, quetona, acetona y agua para producir el vapor esterilizante.

Los aparatos de calor seco por flujo forzado están diseñados para hacer circular el aire caliente en el interior de la cámara de una forma más rápida, con lo cual se obtienen temperaturas mas elevadas en un menor tiempo, y por ende se obtienen ciclos más cortos.

El óxido de etileno es un método de esterilización mayormente utilizado en hospitales , ya que puede esterilizar cualquier articulo sin importar el material ni el volumen. A nivel hospitalario la esterilización por medio de óxido de etileno se realiza en cámaras especiales en las cuales se controla el paso del gas; en clínicas dentales se utiliza mediante bolsas herméticamente selladas, en las cuales se introducen los instrumentos a esterilizar junto con una cápsula que contiene el gas, la cual se rompe después de sellar la bolsa.

## **1.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN.**

El vapor de agua a presión (autoclave) esteriliza líquidos hidrofílicos, daña los plásticos termolábiles, puede corroer los metales y dañar los filos. No se deben introducir contenedores cerrados herméticamente.

El calor seco (que es el método de esterilización mas utilizado por los dentistas y médicos en general debido a su costo), no produce corrosión ni daña los filos, pero los ciclos son largos y no esteriliza líquidos. El material se puede contaminar.

El vapor químico saturado ó quemiclave, no produce corrosión y su tiempo de esterilización es bueno, sin embargo, daña los plásticos, produce vapores tóxicos irritantes y mal olor, no esteriliza líquidos y no se deben introducir contenedores herméticamente cerrados.

Mediante el método de óxido de etileno se puede esterilizar cualquier material sólido, pero los ciclos son muy largos y se requiere de una ventilación adecuada.

#### **Cuadro 4. FALLAS EN LOS CICLOS DE ESTERILIZACIÓN**

##### **Lavado inadecuado del instrumental**

Los materiales biológicos, como sangre, saliva y tejidos, así como los restos de materiales dentales pueden aislar y proteger a los microorganismos.

##### **Mala envoltura del instrumental**

Material de envoltura inadecuada: evita la penetración del agente esterilizante.

Envoltura excesiva: retarda la penetración del agente esterilizante.

Envoltura en tela: Inadecuada para quemiclave, pues absorbe los productos químicos y evita su vaporización.

Contenedores herméticos en vapor a presión: evita el contacto directo con el agente esterilizante.

##### **Carga inadecuada del equipo**

Sobrellenado: aumenta el tiempo de calentamiento y retarda la penetración del agente esterilizante al centro de la carga.

Mala colocación de los paquetes de instrumentos: el espacio entre los paquetes permite la circulación uniforme del agente esterilizante.

##### **Tiempo insuficiente a temperatura requerida**

Programación incorrecta del equipo.

Contar el "calentamiento" como parte del "tiempo de esterilización".

Abrir la puerta del equipo una vez iniciado el ciclo.

Mal funcionamiento del contador de tiempo.

Interrupción inadvertida del suministro eléctrico.

### **Temperatura Insuficiente.**

Programación incorrecta del equipo.

Mal funcionamiento del equipo: fugas de calor o presión por empaques defectuosos.

Mal funcionamiento de los manómetros: las lecturas no representan las condiciones internas del equipo.

## **I.3. PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTERILIZACIÓN**

Existe un protocolo que el dentista debe seguir para evitar la posible transmisión de enfermedades con el instrumental:

- **PRE-LIMPIEZA.** La esterilización se facilita en gran medida al eliminar los residuos del instrumental a procesar.
- **EMPAQUETAMIENTO.** El empaquetamiento protege al instrumental de la recontaminación, facilitando su transporte y almacenado.
- **ESTERILIZACIÓN.** Se obtiene con diferentes métodos como son: horno de calor seco, autoclave (vapor de agua a presión), óxido de etileno y quemiclave (vapor químico a presión).
- **MONITOREO.** Verifica el correcto funcionamiento de los procesos de esterilización utilizando indicadores biológicos.

## II. MONITOREO DE LOS CICLOS DE ESTERILIZACIÓN

Existen tres tipos de Indicadores, que son: Físicos, Químicos y Biológicos.

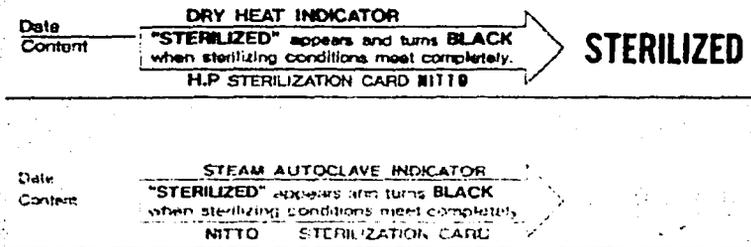
La VERIFICACIÓN FÍSICA, comprende la observación sistemática de los cronómetros, termómetros y manómetros de los aparatos de esterilización.

Las PRUEBAS FÍSICO-QUÍMICAS, comprenden el uso de indicadores por cambio cromático, las cuales son: cintas, etiquetas y marcas para bolsas. Los testigos fisico-químicos cambian de color luego de la exposición breve a una temperatura elevada. Su finalidad es diferenciar los artículos procesados de los no procesados, pero no dan certeza de esterilidad.

Los integradores de proceso se utilizan dentro de los paquetes, comprueban que el proceso de esterilización se mantuvo a una temperatura elevada, por un cierto tiempo de exposición. Estos integradores deben ser acompañados de un indicador químico para la identificación de los paquetes.

La limitación con los dos indicadores anteriores es que solamente nos muestran que el esterilizador está llegando a la temperatura correcta.

El único método para demostrar que existen microorganismos vivos es por medio de la VERIFICACIÓN BIOLÓGICA con los IB<sup>6</sup>. Los IB son preparaciones de esporas bacterianas que se encuentran contenidas, ya sea en una tira o disco de papel filtro o, en una ampolleta que contiene el caldo nutritivo. Se eligen las esporas debido a que no son patógenas al ser humano y por su resistencia conocida a las altas temperaturas, por lo que su destrucción es lo único que garantiza esterilización.



**FIG. 1. INTEGRADORES DE PROCESO.**

### III. INDICADORES BIOLÓGICOS

Se ha demostrado que los IB son el único método seguro y confiable para determinar errores en todo tipo de esterilizadores.<sup>7</sup>

Los IB se encuentran en el mercado bajo diferentes marcas y presentaciones. Así mismo, los IB son divididos por especies, de acuerdo al equipo de esterilización al que serán sometidos.

Los IB, aplicables en el consultorio dental, son preparaciones con esporas bacterianas del género *Bacillus*, que se encuentran en una forma no germinativa, de la cual salen cuando se les proporcionan los nutrientes necesarios y son incubados a una temperatura apropiada, dependiendo de la especie que contenga (*B. subtilis* a 37°C ó *B. stearothermophilus* a 57°C)

Para los procesos de esterilización por calor seco y óxido de etileno, se aplican esporas de la especie *B. subtilis* variedad *Niger*, y para los procesos de esterilización por vapor se emplean esporas de la especie *B. stearothermophilus*.

También existen en el mercado aquellos IB que contienen los 2 tipos de endosporas, y que por lo mismo podrán ser utilizados en los equipos mencionados anteriormente.

Los IB son utilizados en múltiples países del mundo, gracias a su aceptación internacional y su efectividad, además de encontrarlos fácilmente en el mercado. Algunas marcas de IB que podemos encontrar son: Merck, Becton and Dickinson, Raven, MDT. En un estudio se observó que las cepas ATCC y los IB provenientes de fabricantes extranjeros cumplen con las características morfológicas, bioquímicas y de cultivo estipuladas por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; por el contrario, algunos IB de fabricación nacional

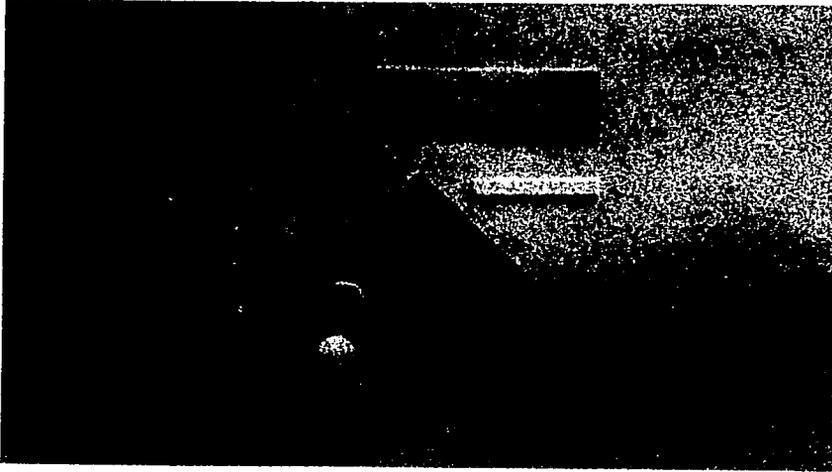
no son elaborados con las cepas de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, por sus siglas en inglés). El fabricante de IB debe documentar la veracidad de sus afirmaciones y proporcionar información que permita al usuario la selección de productos adecuados.

### **III.1. CARACTERÍSTICAS QUE DEBEN DE REUNIR LOS IB**

Los IB deben de contener en una etiqueta y/o en el instructivo los datos que especifica la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (USP):

1. Especificar que especie(s) contiene(n) los IB, para orientar al usuario sobre el tipo de esterilización al cual podrá ser sometido.
2. Origen y la cepa de donde fueron obtenidas las esporas utilizadas.
3. Indicar en que presentación se encuentran las endoesporas bacterianas, las cuales son de dos tipos:
  - a) En tiras o discos de papel filtro las cuales tienen un número específico de esporas en estado vegetativo; estos discos o tiras están contenidos en una bolsa que aísla los microorganismos del medio ambiente, una vez procesado este tipo de IB deberá ser sembrado en un medio líquido. Por lo general en esta presentación se incluyen las dos especies de microorganismos utilizados como IB.
  - b) En ampollitas, los microorganismos contenidos se encuentran suspendidos en un medio líquido con un colorante específico, una vez procesados este tipo de IB generalmente sirve para verificar ciclos de esterilización por vapor a presión.
4. Indicar el grado de exposición a la esterilización (valor D), que es el tiempo requerido, para destruir el 90% de los microorganismos.

5. **Tiempos de sobrevivencia (en el cual aún existen esporas viables) y tiempo de muerte (en el cual la posibilidad de supervivencia de esporas es mínima).**
6. **Cuenta viable de esporas, la cual puede ser determinada a través de una cuenta real, los IB no deben contener un número menor de esporas viables que la indicada en la etiqueta, ni mas del 300% de dicho valor.**
7. **Las dimensiones de las tiras de papel y la cantidad de medio, según sea la presentación.**
8. **Instrucciones para la recuperación de esporas y su destrucción segura antes de ser desechadas.**
9. **Fecha de caducidad que no debe ser menor de 24 meses a partir de la fecha de fabricación, la cual se inicia cuando fue realizada la primera cuenta viable total.**
10. **Recomendaciones sobre los cuidados de su empaque y el modo de conservación.**



**FIG. 2. INDICADORES BIOLÓGICOS**

### III.2. VERIFICACIÓN BIOLÓGICA

Distintas organizaciones a nivel mundial y nacional recomiendan la verificación biológica por ciclos de esterilización. Entre las organizaciones que destacan se encuentran la American Dental Association (ADA) que recomienda la verificación semanal, la Fundación para la Investigación de Procedimientos de Seguridad y Asepsia (OSAP), los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), la Asociación para el Avance en la Instrumentación Médica (AAMI) y la Secretaría de Salud mediante la Norma Oficial Mexicana (NOM-013-SSA2-1994) publicada en el Diario Oficial de la Federación.<sup>8</sup>

Las esporas bacterianas utilizadas como IB, deben de cumplir con las características morfológicas de cultivo y bioquímicas de las cepas correspondientes a la ATCC.<sup>9</sup>

El uso de los IB se encuentra en la FEUM<sup>10</sup> y en la USP<sup>11</sup>, las cuales indican su utilización en los siguientes casos:

- Como auxiliares en la calificación física de aparatos de esterilización
- En el desarrollo y establecimiento de un proceso de esterilización, validando para un producto.
- En la verificación periódica de esterilización de equipo, materiales y componentes de empaque, que se emplean en procedimientos asépticos y
- En programas de verificación periódica de ciclos de esterilización.

Se recomienda utilizar a los IB semanalmente como control de calidad para nuestros ciclos de esterilización; sin embargo, es de particular importancia aplicar la verificación a los aparatos nuevos, recién instalados y a aquellos aparatos reparados recientemente. Se ha demostrado la eficacia de la

verificación biológica de los ciclos de esterilización, y su uso permite detectar las fallas mecánicas del equipo para conducir a su reparación.<sup>12-14</sup>

### III.3. INCUBACIÓN DE IB

Existen dos formas de incubar a las esporas; la primera consiste en tener el equipo adecuado en el consultorio y cultivar a las esporas en un ambiente aséptico, pero este método resulta poco costeable, ya que se requiere la compra del equipo apropiado, además de los IB, medio de cultivo, incubador, etc. En Estados Unidos los registros de los cultivos se deben de guardar por lo menos 3 años. Este tipo de monitoreo se recomienda para autoclaves, ya que el medio de cultivo es menos susceptible a la contaminación. La mejor manera y la mas utilizada es por medio de correo en la cual el dentista envía al laboratorio la prueba semanal o mensual en un sobre con datos, los cuales son: ID (identificación personal), método de esterilización, fecha en la cual el IB fue sometido a esterilización nombre del operador del equipo, temperatura, presión y tiempo.<sup>15</sup>

Si el cultivo del IB resulta positivo, (crecimiento) se notifica al dentista por vía telefónica. Si el cultivo resulta negativo (sin crecimiento), el equipo está funcionando adecuadamente.<sup>16-17</sup>

Hay controversia de si el cultivo de los IB se debe de realizar antes de los siete días o no, ya que para algunos investigadores, el retraso en la incubación de las esporas nos revela los falsos positivos, pero para algunos autores, las esporas después de la esterilización no pueden presentar cambios y pueden ser cultivados normalmente.

Se debe de tener un cuidado especial al utilizar el medio de cultivo, ya que si se contamina los resultados revelan falsos-positivos.

### III.4. CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO *BACILLUS*

Las bacterias de éste género son bacilos Gram positivos y son aerobios o anaerobios facultativos, que se agrupan formando cadenas. La mayoría de este género permanecen en el suelo, aire y vegetales. Las bacterias tienen forma bacilar (de varilla) y la mayoría son móviles por flagelos laterales.

La mayoría de los miembros del género son organismos saprofitos.<sup>18</sup>

Varias especies producen pigmentos que pueden colorear las colonias de amarillo, rosado, rojo y hasta negro, tales pigmentos son: la pulquerrimina y el ácido proteoláctico.

Las esporas pueden ser ovaladas o esféricas y pueden tener ubicación central, subterminal o terminal. La presencia de la espora hace que la célula se hinche en algunas especies como *B. stearothermophilus*.<sup>19</sup>

Las endosporas no tienen metabolismo detectable, son muy resistentes a los cambios de ambiente y pueden sobrevivir durante décadas en estado latente. Resisten la acción de algunos agentes químicos, enzimas, calor, radiación ionizante y luz ultravioleta. Los alcoholes, fenoles, iones metálicos pesados y detergentes no sirven para destruir endosporas.

### III.5. *BACILLUS SUBTILIS VARIETAS NIGER*

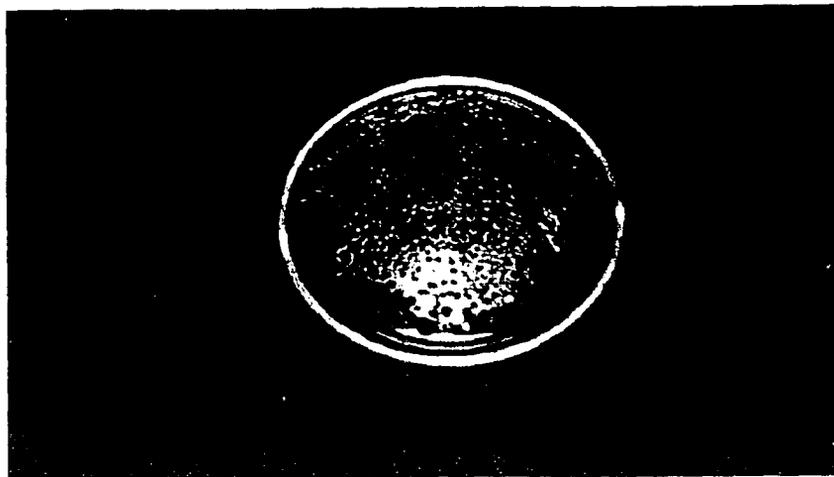
El *Bacillus subtilis varietas niger* es un bacilo Gram positivo de 0.7 a 0.8 micras de longitud, con esdoras ovales y centrales que no deforman a la célula.

Estos bacilos son cultivados a 37°C, en un ambiente aerobio ó anaerobio en agar. Las colonias tienen una apariencia opaca de color crema hasta un ligero café, si se incuban en caldo nutritivo presentan en la superficie una película de color crema y una ligera turbidez.

En el catálogo de la ATCC (American Type Culture Collection) corresponde a la cepa número 9372 (ubicada en el catálogo), y sus características se encuentran en la FEUM y USP.

Algunas de sus reacciones bioquímicas son formar un pigmento negro a partir de la tirosina, licuar la gelatina y utilizar e hidrolizar el almidón como a la glucosa sin producir gas.<sup>20</sup>

S C N  
FALLA DE ORIGEN



**FIG. 3. *BACILLUS SUBTILIS VAR NIGER***

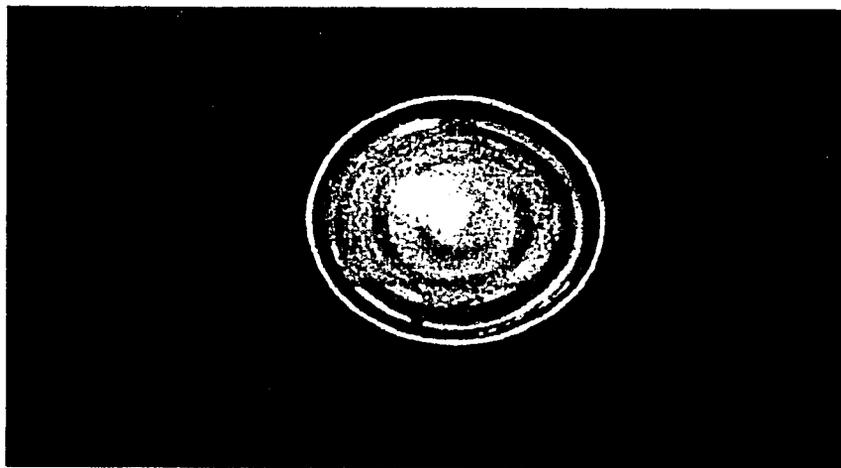
### **III.6. BACILLUS STEAROTHERMOPHILUS**

Los IB que contienen este bacilo, correspondiente a la cepa de la ATCC 7953, son utilizados para verificar los ciclos de esterilización por vapor.<sup>21</sup>

Al microscopio se observan como bacilos Gram positivos, con endosporas ovales, subterminales que deforman a la célula.

Cuando se transfiere un inóculo del crecimiento obtenido en caldo nutritivo a medios sólidos apropiados (agar nutritivo), se presenta crecimiento en incubación aeróbica y anaeróbica en 24 hrs a 57°C y no presenta crecimiento a 37°C.

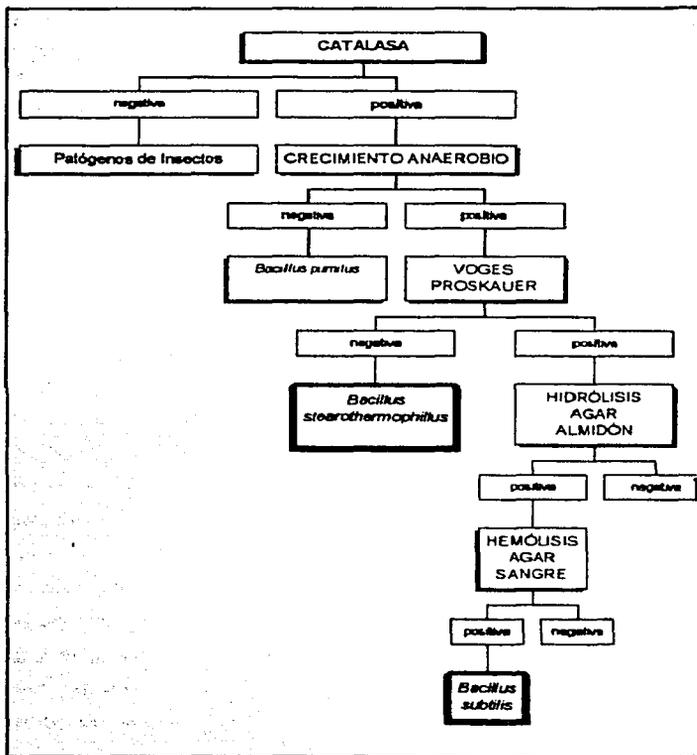
Estos IB reaccionan a diferentes pruebas bioquímicas. Reaccionan positivamente a la prueba de la catalasa y no licua la gelatina.



**FIG. 4. *BACILLUS STEAROTHERMOPHILUS***

3

**FIG. 5. REACCIONES BIOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES**



## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Existen fallas en la esterilización y se da consulta con material contaminado.

Los IB son nuestra mejor opción para disminuir los errores en los ciclos de esterilización en consultorios de dentistas en México.

En la esterilización ocurren fallas que sin el IB el dentista no puede prevenir ya que ignora cuando ocurren.

## **JUSTIFICACIÓN**

Las infecciones cruzadas, que en su mayor parte son causadas por microorganismos en los consultorios, se deben a una deficiencia en la esterilización del instrumental.

Se pueden disminuir las fallas en los ciclos de esterilización al aplicar periódicamente los IB; por lo tanto, disminuye la frecuencia de efectuar procedimientos odontológicos con instrumental no estéril.

Los ciclos de esterilización fallan con frecuencia , lo cual es grave porque se da consulta con instrumental contaminado.

## **HIPÓTESIS**

**Evaluar si la frecuencia en la utilización de los IB ayuda a corregir las fallas en la esterilización.**

**La utilización semanal de los IB disminuye el número de fallas en los esterilizadores.**

## **OBJETIVO GENERAL**

**Evaluar si el uso periódico de IB redujo la incidencia de fallas en equipos que han sido vigilados durante varios años, así como demostrar que la verificación por ciclos de esterilización utilizando IB es importante realizarla semanal o mensualmente para mantener al equipo (esterilizadores) con el menor número de fallas.**

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Demostrar la incidencia de fallas de 1992 al 2001.
- Demostrar la incidencia de fallas por equipo de esterilización.
- Demostrar la incidencia de fallas en cada equipo por frecuencia en la utilización de IB.
- Demostrar la incidencia de fallas consecutivas por equipo de esterilización.
- Demostrar la incidencia de fallas consecutivas por frecuencia en la utilización de los IB.

## **MATERIAL**

- Archivo de 4448 resultados de las pruebas biológicas en 90 consultorios dentales.
- Programa Excel para crear una base de datos.
- Paquete estadístico JMP de la compañía SAS. (Institute, Inc., Carey, USA.).

## **TIPO DE ESTUDIO**

**Retrospectivo analítico descriptivo.**

## MÉTODO

Este estudio de verificación biológica por ciclos se ha realizado mediante la revisión de un total de 4448 pruebas en 90 consultorios dentales en un periodo comprendido entre 1992 y 2001 en el cual se incluyen en su mayoría: IB que fueron procesados en autoclaves y esterilizadores de calor seco. Sin embargo existen también, aunque en mucho menor número esterilizadores por vapor químico (quemiclaves) y por óxido de etileno.

Los dentistas y el personal encargado de la esterilización del instrumental recibieron una explicación verbal e instrucciones escritas sobre el uso adecuado de los IB; así mismo, los consultorios participantes debieron de instruir al personal encargado de realizar la esterilización, desde el correcto lavado-secado-empacado del instrumental, hasta saber ajustar los ciclos adecuadamente en tiempo, temperatura, presión, y químicos.

Se utilizaron IB en su presentación por tiras (Bacterial Spore Sterilization Strip, Raven Biological Labs, Omana, U.S.A.), las cuales están impregnadas con  $1.7 \times 10^6$  esporas de *Bacillus subtilis* (ATCC-9372) y  $1.7 \times 10^5$  *B. stearothermophilus* (ATCC-7953). Los primeros para equipos de calor seco y óxido de etileno, y los segundos para equipos que funcionan a base de vapor de agua a presión y vapor químico a presión.

A cada participante se le enviaron 2 tiras de IB que utilizaron semanal, quincenal o mensualmente; de las cuáles solo una se esterilizó y la otra, llamada "control", se incubó en el laboratorio.

Los participantes interesados en control de infecciones decidieron utilizar este sistema con IB; dependiendo de la disciplina cada consultorio los utilizó semanal, quincenal o mensualmente. Los consultorios sin disciplina los utilizaron de manera aleatoria.

Los IB deben de ser colocados en paquetes que contengan instrumental, éstos paquetes se sitúan dentro de la cámara al centro de la carga o bien donde se prevé la mayor dificultad para esterilizar (por la penetración del agente esterilizante).

Los IB no deben de ser sacados de su envoltura de fábrica.

Cuando el instrumental se está esterilizando, es importante colocar también verificadores físico-químicos, esto es con el fin de saber si se está llegando a la temperatura adecuada, además estos indicadores nos son útiles para poder distinguir el instrumental procesado del no procesado.

Antes de enviar de regreso a los IB al laboratorio para ser cultivados, es importante registrar la fecha, tipo de esterilizador, temperatura y ID.

Después de esterilizar el instrumental, los IB son regresados (mediante el Servicio Postal Mexicano) al laboratorio, en donde se cultivan tanto las esporas sometidas a la esterilización, como el control (que no fue sometido a ese proceso) en un caldo nutritivo de Trypticaseína de soya (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA) en 0.25% de Dextrosa Anhidra (Mallinckrodt Baker Inc., Paris, Kentucky, USA) preparado previamente y contenido en tubos de ensayo de 3 ml.

Las muestras en la solución se incubaron por 72 hrs; para aquellas de calor seco y de óxido de etileno, a una temperatura de 37°C ; y para las pruebas sometidas en autoclave, la temperatura es de 57° C. (FEUM).

Terminado el proceso de incubación, los tubos de ensayo son observados uno por uno, para verificar si hubo o no crecimiento de las esporas; si la solución se observa turbia o existió cambio de color, nos está demostrando crecimiento, a éstos los llamamos positivos; cuando las soluciones no se observan turbias, no hay crecimiento, estas se denominan negativas.

En el caso de haber existido crecimiento en caldos de IB que fueron sometidos a esterilización, el dentista debe de ser notificado inmediatamente para no utilizar el instrumental probablemente contaminado y la prueba debe ser repetida. Los controles deben presentar crecimiento normal, ya que no fueron sometidos a esterilización.

**TEMAS CON  
FALTA DE ORIGEN**

## I. BASE DE DATOS

El diseño de la base de datos se creó en el programa Excel, mediante códigos numéricos. Esta base de datos se logró de acuerdo a la 4448 pruebas que se cultivaron y almacenaron durante un periodo que abarca 9 años (1992-2001).

Los sobres que originalmente contenían a los IB, en el exterior nos muestran los siguientes datos: (ejemplo en el cuadro 5).

- ID.
- Método de esterilización.
- Fecha en la cual el Testigo Biológico fue sometido a esterilización.
- Resultado de la prueba, que nos dice con una cruz si el resultado fue positivo (hubo crecimiento de esporas) o una paloma al haber sido negativo (no existió crecimiento de esporas).

Para crear la base de datos, primero se separaron los sobres almacenados, ordenándolos alfabéticamente, y a su vez por fechas y años. Cada consultorio participante fue asignado con un número.

Los datos obtenidos, fueron capturados en la base de datos de Excel. En la base los datos se colocaron en filas:

1. Año de la prueba.
2. Número de participante.
3. Número de prueba.
4. Frecuencia en la utilización de Testigos.
5. Método de esterilización.
6. Resultado de la prueba y,
7. Fallas consecutivas como se muestra en el ejemplo del cuadro 5:

**Cuadro. 5. Ejemplo de la base de datos**

<b>Año</b>	<b>No. de prueba</b>	<b>Frecuencia en la utilización</b>	<b>Método de esterilización</b>	<b>Resultado de la prueba</b>	<b>Fallas consecutivas</b>
93	1	1	0	1	0
94	1	2	1	1	1
95	1	3	3	0	0
96	2	1	1	0	0

**AÑO.** En esta columna se colocaron los 2 últimos dígitos del año correspondiente a cada prueba, en el caso de los años 2000 y 2001 se colocaron los cuatro dígitos.

**SUSCRIPTOR.** Ya que cada suscriptor tiene un número, se colocaron en orden en la columna siguiente a año.

**NÚMERO DE PRUEBA.** Se colocaron numéricamente las pruebas de cada suscriptor, yendo del 1-X.

**FRECUENCIA EN LA UTILIZACIÓN DE TESTIGOS.** Se utilizaron códigos numéricos (0,1,2 y 3).

- 0- Asignado cuando las pruebas se realizaron aleatoriamente, es decir, bajo ningún orden.
- 1- Pruebas mensuales.
- 2- Quincenales.
- 3- Pruebas utilizadas semanalmente.

**MÉTODO DE ESTERILIZACIÓN.** Esta columna nos dice por códigos numéricos (0,1,2,3 y 4) a través de cual medio de esterilización se realizó la prueba. El número 4 corresponde a autoclave, código 3 para calor seco, quemiclave con el número 2, 1 es óxido de etileno y 0 significa flujo forzado.

**RESULTADO DE LA PRUEBA.** Estos resultados que fueron marcados en los sobres con una cruz o una paloma, se capturaron por medio de números, 0 y 1. El cero se le asignó a las pruebas que resultaron negativas (no hubo crecimiento de esporas) el uno se colocó a los resultados de las pruebas positivas (es decir existió crecimiento en los cultivos).

**FALLAS CONSECUTIVAS.** Las fallas consecutivas se capturaron en la última columna de la base de datos. Cuando en la columna de resultado de la prueba existen seguidas dos fallas, se coloca un 1; al no existir fallas o solo una, se colocó un 0.

## I.1. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Dado que las variables de estudio son cuantitativas a niveles de escala nominal y ordinal, para el análisis de la información se utilizó la prueba de la  $\chi^2$  ( $\chi^2$ ). Se establecieron los niveles de asociación a un nivel de significancia estadística de  $P=0.05$ .

La  $\chi^2$  puede aplicarse a muchos tipos de problemas, incluidas las pruebas de hipótesis para la varianza de una población; también prueba la variabilidad de una distribución.

La variable  $\chi^2$  se utiliza comúnmente como una medida de diferencia entre las distribuciones observadas y esperadas. Cuando el tamaño de la muestra es tan grande que ninguna frecuencia esperada es menor de 5,  $\chi^2$  se distribuye aproximadamente siguiendo a la  $\chi^2$  con  $(j-1)$  grados de libertad.

Son pruebas para determinar si una varianza poblacional es igual a cierto valor mientras que una distribución observada de frecuencias es significativamente diferente de la distribución esperada o teórica y por último si la clasificación de una variable es independiente de la clasificación de otra.

## 1.2. FÓRMULAS UTILIZADAS

$$\chi^2 = \sum \frac{(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

$$F_e = \frac{T_f \times T_c}{GT}$$

$$G_l = (T_f - 1)(T_c - 1)$$

$\Sigma$ = Sumatoria

F<sub>o</sub>= Frecuencias observadas

F<sub>e</sub>= Frecuencias esperadas

T<sub>f</sub>= Total de filas

T<sub>c</sub>= Total de columnas

GT= Gran total

G<sub>l</sub>= Grados de libertad

### **I.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Resultados con datos completos

### **I.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Resultados con datos incompletos.

## **RESULTADOS**

En 9 años se realizaron 4448 pruebas con IB en 90 consultorios dentales. El 77.9% (n=3465) de los ciclos de esterilización se realizó en autoclave, el 13.6% (n=606) fue con calor seco, el 3.4% (153) correspondió al método quemiclave, 90 pruebas de IB se realizaron con óxido de etileno (2%) y con el 3% restante (n=134) se utilizó el método de flujo forzado.

De las 4448 pruebas, 1789 (40.2%) se realizaron en forma semanal, el 24.4% (n=1085) fueron mensuales, quincenalmente se verificaron 907 pruebas (20.4%), y en la categoría de "otro", donde las pruebas fueron aleatorias, se obtuvo el 15% (n=667).

Se detectaron fallas en 8% (n=355) de todos los ciclos de esterilización. El 9.15% (n=14) de fallas se detectaron en el método de quemiclave, el 8.7% (n=53) resultó del método por calor seco, se encontraron 278 fallas (8%) en el método de vapor de agua a presión, 5.5% (n=5) corresponde a óxido de etileno y 3.73% (n=5) de fallas son resultado del método de flujo forzado. Los métodos de esterilización empleados fallaron con frecuencias similares ( $\chi^2=4.792$ ,  $P=0.3093$ ).

## DISCUSIÓN

La utilización de los IB nos ayudó a encontrar fallas en el 8% de 4448 ciclos de esterilización realizados en una muestra de 90 consultorios dentales en México. Los 5 métodos de esterilización empleados (vapor de agua a presión o autoclave, vapor químico a presión o quemiclave, calor seco, óxido de etileno y flujo forzado) fallaron con frecuencias similares. (Cuadro 6).

Cuadro 6. Evaluación de ciclos y fallas detectadas

Método de esterilización	pruebas		fallas	
	n	%	n	%
0 Flujo Forzado	134	3.0	5	3.73
1 Oxido de Etileno	90	2.0	5	5.55
2 Quemiclave	153	3.4	14	9.15
3 Calor seco	606	13.6	53	8.7
4 Autoclave	3465	77.9	278	8
Total	4448	100	355	7.98

$$\chi^2 = 5.59 \quad P = 0.2314$$

De las 4448 pruebas realizadas se registró el 8% de fallas (n=355). Al aplicar la prueba de  $\chi^2$  para analizar si existía asociación entre la frecuencia de las pruebas y las fallas se estableció que existen diferencias significativas en su distribución ( $P < 0.0352$ ). Se observó que cuando las pruebas se realizan mensualmente o en la categoría de "otra" hay mas fallas mientras que cuando la frecuencia es semanal se aprecian menos fallas que las esperadas. (cuadro 7).

Cuadro 7. Frecuencia de pruebas y fallas detectadas

Frecuencia de la prueba	Total de pruebas		Total de fallas	
	n	%	n	%
1 mensual	1085	24.4	97*	8.94
2 quincenal	907	20.4	76	8.37
3 semanal	1789	40.2	118**	6.59
0 otra	667	15.0	64*	9.59
total	4448	100	355	7.98

\* $\chi^2 = 4.792$  ,  $P = 0.3093$

No se estableció que existieran diferencias significativas entre el total de fallas y las fallas consecutivas mediante el método de esterilización (cuadro 8); sin embargo, al hacer el análisis de la  $\chi^2$  en la frecuencia de la prueba se encontraron diferencias significativas ( $P=0.0050$ ). Cuadro 9.

Cuadro 8. Método de esterilización y fallas consecutivas detectadas

Método de esterilización	Total de fallas		Consecutivas	
	n	%	N	%
0 Flujo Forzado	5		0	
1 Oxido de Etileno	4		1	
2 Qemiclave	11		3	
3 Calor seco	47		6	
4 Autoclave	205		73	
Total	272		83	

$\chi^2 = 7.176$   $P = 0.1269$

**Cuadro 9. Frecuencia de la prueba y fallas consecutivas detectadas**

Frecuencia de la prueba	Total de fallas consecutivas	
	n	n %
1 mensual	78	19
2 quincenal	49	27*
3 semanal	88	30
0 otra	57	7*
total	272	83

\* $\chi^2 = 12.84$        $P = 0.0050$

El control de infecciones depende en gran parte a la esterilización. Para que el ciclo sea correcto, se deben de realizar una serie de pasos sistemáticos que van desde el lavado/secado del instrumental hasta la esterilización.

Existen diferentes tipos para la verificación de los ciclos, los cuales son indicadores físicos, químicos y biológicos. Sin embargo, la verificación química y las pruebas físico-químicas solamente nos muestran que el esterilizador llegue a la temperatura correcta.

El único método para demostrar que existen microorganismos vivos son los IB; las esporas contenidas en estas pruebas presentan una resistencia a las altas temperaturas, por lo que su destrucción es lo único que garantiza esterilización.

Se han desarrollado lineamientos con el propósito de reducir el riesgo de transmisión de enfermedades en el consultorio dental (paciente-dentista ó dentista-paciente), siendo uno de ellos la desinfección y esterilización de instrumentos.

La Norma Oficial Mexicana (NOM) para la Prevención y Control de Enfermedades Bucales, establece en el artículo número 7.3.3.6 utilizar IB para el control de ciclos de esterilización de los equipos utilizados por CD, aplicándose una vez al mes, pero aún no ha entrado en vigencia, por lo que pocos dentistas lo utilizan. La FEUM establece que para los procesos de esterilización por calor seco u óxido de etileno, se deben de emplear esporas de una subespecie de *B.subtilis* (ATCC 9372), y para los procesos con vapor se emplea *B. stearothermophilus* (ATCC7953) por la resistencia que presentan a esta forma de esterilización.

Solamente por medio de la orientación y los esfuerzos en la educación se logrará tener un buen control de infecciones. Debemos de saber elegir el IB adecuado, así como el método de esterilización. Se debe de promover la colaboración de autoridades e instituciones de la salud, asociaciones, industrias y escuelas dentales.

Existen 2 tipos de consultorios: los que tienen disciplina y los que no la tienen (irregulares, indisciplinados). Los primeros, son aquellos consultorios que utilizan los IB con una periodicidad (semanal, quincenal o mensual); los indisciplinados o irregulares son aquellos consultorios que utilizan los IB de una manera aleatoria; esto es grave, ya que se sigue dando consulta con instrumental contaminado. La realidad del asunto es que la mayoría de los dentistas mexicanos se acercan mas a los indisciplinados, pero con una mayor gravedad, ya que nunca verifican sus esterilizadores, los cuales seguramente fallan, pero no son reparados.

En este estudio se encontraron menos fallas cuando la verificación se realizó de manera semanal; esto puede deberse a diferentes causas, entre ellas puede ser la rápida reparación del equipo al haber presentado fallas. Los dentistas que aplicaron IB de manera aleatoria presentaron mas fallas de las esperadas.

La fallas en este estudio no son fáciles de determinar, aunque generalmente se atribuyen a errores del personal encargado de la esterilización.

Los esterilizadores de calor seco son muy utilizados en nuestro país debido a su bajo costo, estos equipos suelen presentar muchas fallas debido a que están fabricados con componentes de mala calidad y en algunos casos no cuentan con termómetro exterior.

Cuadro 10. Recomendaciones De IB

Realizarlo por lo menos una vez a la semana
Al realizar la instalación de un aparato de esterilización por primera vez
Después de cualquier reparación
Cuando la carga a colocar contenga cualquier tipo de implante
Cuando la configuración de la carga ha sufrido cambios.

Al tener nuestros resultados, observamos que las fallas se distribuyen de manera homogénea, no hay ninguna tendencia de algún método.

Los IB que se utilizaron en este estudio son de la marca Raven (*B.stearothermophilus* y *B.subtilis* var *niger*), ya que cumplen con todas las características tanto de empaque como en el instructivo. (cuadro. 11)

Cuadro 11. Características que deben reunir los IB

Especie especificada
Presentación
Valor D*
Tiempos de supervivencia y muerte
Cantidad de esporas**
Indicaciones para recuperación y destrucción total
Fecha de caducidad
Cuidados de empaque y conservación

\*El valor D es el grado de exposición a la esterilización; tiempo requerido para destruir el 90% de los microorganismos.

\*\*1,000,000 de esporas.

## CONCLUSIONES

La esterilización del instrumental es el primer paso hacia el control de infecciones, pero los índices de fallas siguen siendo muy elevados.

El uso de IB no es una solución para los problemas de la esterilización. Sin embargo, son muy útiles en el monitoreo de la esterilización como control de calidad cuando los procedimientos de limpieza del instrumental por parte del personal odontológico son adecuados y el equipo se encuentra en muy buen estado.

El uso de IB nos permite detectar fallas en los equipos de esterilización.

Aunque el uso de IB está indicado por distintas organizaciones no se utiliza por todos los dentistas, y algunas veces se utiliza mal, ya que no se cumple con la secuencia de los pasos que van desde lavado, secado y empaçado del instrumental.

Es importante notificar a los consultorios cuando está fallando su esterilizador, ya que de este modo el instrumental que fue sometido a esa carga no será utilizado hasta ser esterilizado nuevamente.

Aunque la utilización mensual de IB es sugerida por la NOM, la mayoría de los dentistas no lo conocen. Se deben de realizar esfuerzos conjuntos de las escuelas y facultades de odontología junto con la industria y agrupaciones para que se utilicen este tipo de controles de calidad y para que se apliquen de acuerdo con lo establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Charles J. Palenik, Thomas K. King, Carl W. Newton, Chris H. Miller, Leonard G. Koerber. A Survey of Sterilization Practices in Selected Endodontic Offices. Vol. 12: 206-209, 1986.
2. Martín S. Favero, Walter W. Bond. Sterilization, Disinfection and Antisepsis in the Hospital. CDC. Cap. 24, 183-2000, 1991
3. Enrique A. Gío, Gerardo M. Cervantes. Esterilización del instrumental. Revista PO.14: (11) 111-133, 1993.
4. CDC. Recommended Infection Control Practices for Dentistry. Vol 41, no. RR-8pp 1-1, 1993
5. B. McEriane, W.J. Rosebush, J.D. Waterfield. Assessment of the Effectiveness of Dental Sterilizers Using Biological Monitors. Journal. Speciality Feature. Vol. 58: 481-483, 1992.
6. Enrique A. Gío, Teresa S. Pérez, Alfredo A. Mejía. Verificación biológica de los ciclos de esterilización. Revista ADM. Vol. LVI, No.6. Nov-Dic. 1999.
7. Helene Bednarsh, Eve Cuny, Kathy Eklund, Therese M. Long, Chris Miller, John Molinari, Jeff Williams. Biologic Indicators. OSAP Monthly Focus. No. 7: 1-3, 1997.
8. Prevención y Control de Enfermedades Bucales. NOM-013-SSA2-1994. SS Diario Oficial de la Federación. 21 enero 1999.
9. American Type Culture Collection, R. G. Ghema, P. Pienta and R. Cote, 18<sup>th</sup> edition, 1992.
10. Farmacopea de los EUM 6<sup>a</sup> ed. Métodos generales de análisis pp 165-172. Secretaría de Salud. México 1994.
11. United States Pharmacopeia vol. XV. Rockville, Maryland. United States Pharmacopeial Convention Inc. 1995.
12. Richard J. Hastreiter, John A. Molinari, Myron C. Flaken, PhD, Mildred H. Roesh, Michael J. Gleason, Virginia A. Merchant. Effectiveness of dental office. Instrument Sterilization Procedures. JADA. Vol.122, 1991.

13. Chris H. Miller, Margie A. Sheldrake. The ability of biological indicators to detect sterilization failures. *American Journal of Dentistry*. Vol. 7: 95-97, 1994.
14. María T. Andrés, J. María Tejerán, J. Fernando Fierro. Reliability of biologic indicators in a mail-returning-sterilization-monitoring service: A review of 3 years. *Quintessence International*. Vol. 26: 865-870, 1996.
15. OSAP. Research Foundation. *Biologic Indicators*. Focus. No. 7, 1-4, 1997.
16. Nuria P. Marín, Luis Fernando T. Reyes. Uso y verificación con indicadores biológicos en esterilizadores de cirujanos dentistas de San Luis Potosí, *Salud Pública de México*. Vol.43: 277-282, 2001.
17. Enrique A. Gío. Verificación Biológica de los Ciclos de Esterilización. *Control de Infecciones*. PO. Vol. 21(4). 25, 26.
18. Brooks F. *Microbiología Médica*. Manual Moderno. 15ª ed. México.
19. Magoon C.A: *Studies Upon Bacterial Spores*, *J. Bact.* 11: 253-283, 1996.
20. Ramírez R.M. *Manual de Prácticas de Microbiología general*. Facultad de Química, 2da edición. UNAM. 1995.
21. Alfredo A. Mejía, Teresa S. Pérez; Enrique A. Gío. Verificación Biológica de los Ciclos de Esterilización. *Revista ADM*. Noviembre. Vol. LVI. (6). 234-237,1999.
22. Garza Tomás. *Probabilidad y estadística (un enfoque intuitivo con apoyo en Matemática)*. Grupo Editorial Iberoamericana. México, 1999.