

Información Importante

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

Bibliotecas Bucaramanga
Universidad Santo Tomás

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA *IN VITRO* DE SUSTANCIAS QUÍMICAS COMERCIALES PARA LA ESTERILIZACIÓN DE LIMAS ROTATORIAS EN ENDODONCIA

María Alejandra Manosalva Estrada, María Alejandra Navas Cediél y
Martha Liliana Quintana Carvajal

Trabajo presentado como requisito para optar el título de Especialista en Endodoncia

Director
Martha Elena Varón
OD, Esp

Codirectora
Laura Viviana Herrera Sandoval
Bact y L.C, MsC

Universidad Santo Tomás, Bucaramanga
División de Ciencias de la Salud
Especialización en Endodoncia
2016

Dedicatoria

Primero agradecer a Dios por escoger para mi los mejores padres del mundo a quienes hoy en día les doy infinitas gracias por hacer de mi una gran mujer y gran profesional, sin su apoyo nada de esto habia sido posible, gracias a ellos por su esfuerzo por su dedicacion y entrega, por siempre querer hacer de mi una gran persona, todo lo que soy se los debo a ustedes y más que un triunfo y satisfaccion para mi es un triunfo para ellos, los amo con todo mi corazón.

María Alejandra Manosalva Estrada

Doy infinitas gracias a Dios quien guía cada paso que doy, a mis padres que son el pilar de mi vida que con su apoyo hicieron posible este proceso de formación y a todas aquellas personas que de una u otra forma incentivaron este proyecto.

Martha Liliana Quintana Carvajal

Agradecimientos

Agradecer a las Dras. Martha Elena Varón y Laura Viviana Herrera por confiar y apoyar este proyecto, por su dedicación y paciencia agradecimientos infinitos por ser parte de este logro y este sueño sin su ayuda nada de esto fuera posible, agradecer a nuestros padres por ser nuestros pilares por su apoyo constante e incondicional, también queremos dar gracias a todas las personas encargadas del laboratorio de ciencias básicas de la Universidad Santo Tomás por acompañarnos día a día y ayudarnos a salir adelante con este proyecto.

Contenido

1. Introducción	9
1.1 Planteamiento del Problema	10
1.2 Justificación.....	11
2. Marco Teórico	11
2.1. <i>Elementos de protección personal</i>	11
2.1.1. Barreras	12
2.1.2 Limpieza.	12
2.1.3 Desinfección.....	12
2.1.4. Factores que afectan los procesos de desinfección.	13
2.2 Esterilización.....	13
2.2.1. Clasificación de objetos.....	14
2.3 Sustancias químicas para desinfección	14
2.3.1. Glutaraldehído.	14
2.4 Diseño de los Instrumentos Rotatorios.....	16
2.4.1. Conicidad.....	16
2.4.2. Superficie radial o guía lateral de penetración (radial land).....	16
2.4.3. Ángulo de corte o ángulo de la incidencia de la hoja de corte (Effective rake angle): Indica la capacidad de corte de la lima y puede determinarse midiendo el ángulo formado por el borde cortante (guía) y el radio, se puede decir que si el ángulo formado por el borde cortante (guía) y la superficie a cortar es obtuso este ángulo cortante formado es positivo mientras que si ese ángulo es agudo se puede afirmar que su ángulo de corte es negativo (19).....	16
2.4.4. Alivio de la superficie radial	16
2.4.5. Ángulo helicoidal.....	16
2.4.6. Distribución de la masa metálica.....	16
2.4.7. Diseño de la Punta.	17
2.4.8. Pitch.	17
2.4.9. Área de escape.	17
2.4.10. Limas Rotatorias.....	17
2.5 Microorganismos en Endodoncia.....	18
2.5.1. Microorganismos presentes en la periodontitis apical crónica.....	19
2.5.2. Microorganismos presentes en necrosis	20
2.5.3. Microorganismos presentes en lesiones peri radiculares	20

3. Objetivos	21
3.1. Objetivo general: Evaluar	21
3.2 Objetivos específicos:	21
4. Hipótesis.....	22
4.1. Hipótesis Nula.....	22
4.2. Hipótesis Alterna	22
5. Materiales y Métodos	22
5.1 Tipo de Estudio.....	22
5.2 Universo y Muestra	22
5.3 Variables.....	23
5.4. Procedimiento.....	24
5.4.1. Esterilización de las limas nuevas	24
Fuente: Imágenes tomadas de internet.....	25
Fuente: Imágenes tomadas de internet.....	25
5.4.2 Contaminación de las limas.	26
Fuente: Imágenes tomadas de paginas de internet.....	26
5.4.3. Pruebas de esterilización con sustancias químicas.....	27
5.4.4 Procesamiento de Muestras Microbiológicas: Recuento de Unidades Formadoras de colonias	30
6. Análisis Estadístico	30
6.1Análisis Univariado.	31
6.2 Análisis Bivariado	31
7. Consideraciones éticas	31
8. Resultados	31
9. Discusión.....	34
Referencias Bibliograficas	38
Apéndices	40
Apéndice A (Ver en formato digital)	40

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Clasificación de Objetos de uso clínico</i>	14
Tabla 2 <i>Especies Microbianas Encontradas en conductos necróticos</i>	20
Tabla 3 <i>Microorganismos presentes en Infecciones Primarias</i>	21
Tabla 4 <i>Variables</i>	23
Tabla 4.a <i>Variables</i>	24
Tabla 5 <i>Recuento de B. staerothermophilus en las limas antes y después del tratamiento con soluciones de limpieza y desinfección.</i>	32
Tabla 6 <i>Valores de P, para las comparaciones pareadas entre los grupos de estudio.</i>	33
Tabla 7 <i>Porcentaje de reducción de la carga microbiana en los grupos de estudio.</i>	33
Tabla 8 <i>Eficacia de las sustancias y protocolos utilizados en el estudio</i>	34

Lista de figuras

<i>Figura 1</i> Proceso de preesterilización de las limas en cabina flujo laminar	25
<i>Figura 2</i> Proceso de esterilización en autoclave	25
<i>Figura 3</i> Proceso de contaminación de las limas	26
<i>Figura 4</i> Prueba de esterilización grupo 1 jabón enzimático.....	27
<i>Figura 5</i> Prueba de esterilización grupo 2 Glutaraldehído	28
<i>Figura 6 .</i> Prueba de esterilización grupo 3 jabón enzimático+glutaraldehído	29
<i>Figura 7 .</i> Prueba de esterilización grupo control solución salina	29

1. Introducción

Los microorganismos son los agentes causales de las enfermedades infecciosas que se presentan en diversas partes del cuerpo humano incluyendo la cavidad bucal; Sundquist demostró que estos minúsculos seres vivos producen enfermedades pulpares y periapicales (1,2). Por lo anterior, todos aquellos entornos de atención en salud tanto médicos como odontológicos en los que se pueda presentar contaminación directa o indirecta a los usuarios deben contar con estrategias para el control de infecciones. Entre ellas es posible mencionar los métodos de limpieza, desinfección y esterilización y las prácticas asépticas en la atención al paciente (1, Manual de esterilización de la OPS).

En la atención en odontología, existe una alta posibilidad de contaminación cruzada; principalmente por el hecho de usar instrumentos reutilizados que entran en contacto directo con las mucosas y los tejidos bucales. Por ello, se han propuesto varios elementos desechables y para aquellos con reuso se han diseñado protocolos de limpieza, desinfección y esterilización, estos procesos permiten que los instrumentos queden libres de toda forma de vida microbiana incluyendo esporas y microorganismos que puedan ser muy difíciles de eliminar (3). De acuerdo al nivel de contaminación, el instrumental clínico se ha clasificado en crítico, semi-crítico y no crítico; de acuerdo a estos niveles, se requiere de procesos de esterilización y desinfección más altos.

La Endodoncia, como especialidad de la odontología, tiene como objetivo eliminar el tejido pulpar infectado, reducir las enfermedades de tipo periapical y promover un ambiente propicio para la cicatrización de lesiones (2). Utiliza dentro de sus instrumentos limas de tipo manual y rotatorio, cuyo objetivo es realizar una preparación mecánica del espacio del conducto radicular, eliminando gran parte de microorganismos presentes (3). Estos instrumentos cuentan con un diseño en forma de espiral que permite eliminar gran parte de la carga microbiana presente dentro del conducto radicular. También, por el diseño y la forma permite que la conformación del conducto radicular se torne de manera cónica y con ello reducir los microorganismos causantes de las lesiones de tipo periodontal (2).

Debido al reuso de estos instrumentos es esencial seguir un protocolo de desinfección y esterilización estricto ya que puede presentarse mayor riesgo de contaminación cruzada (2,4), ocasionando reinfecciones, fracaso de los tratamientos y en el peor de los casos infecciones que puedan comprometer la vida e integridad del ser humano. Se han propuesto varios métodos de esterilización los cuales buscan eliminar la mayor cantidad de microorganismos presentes en los instrumentos de uso endodóntico, entre ellos se encuentran la esterilización con calor seco, autoclave, gas de óxido etileno, esterilización con perlas de vidrio (1), y métodos con sustancias desinfectantes de alto nivel como el Glutaraldehído. El propósito de este estudio fue investigar si diversas sustancias reducen la carga microbiana y muestran eficacia en la esterilización de limas contaminadas; entre estas sustancias podemos encontrar, el jabón enzimático considerado una sustancia de bajo nivel para la limpieza y desinfección antes de ser aplicado el Glutaraldehído, una sustancia química de alto nivel, también se buscó evaluar la eficacia del Glutaraldehído durante 16 horas y la combinación de las dos sustancias (jabón enzimático y glutaraldehído) como un protocolo. A partir de los hallazgos de este trabajo, se espera a futuro realizar un protocolo de desinfección y esterilización de limas rotatorias de uso endodóntico con sustancias químicas para aplicar en las clínicas odontológicas de la Universidad Santo Tomás.

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA *IN VITRO* DE SUSTANCIAS QUÍMICAS COMERCIALES PARA LA ESTERILIZACIÓN DE LIMAS ROTATORIAS EN ENDODONCIA

1.1 Planteamiento del Problema. En endodoncia el uso de limas es de uso constante, permitiendo la conformación y limpieza del conducto radicular, estos instrumentos entran en contacto con los tejidos humanos por lo cual es necesario implementar medidas que controlen la propagación de infecciones y garanticen su esterilidad asegurando de esta manera la salud y protección del paciente, el profesional, y la disminución de factores que afecten el pronóstico del tratamiento endodóntico (1,5).

Este tipo de instrumentos deben ser sometidos a un proceso de limpieza, desinfección y esterilización antes y después de su uso a fin de eliminar los residuos biológicos y los microorganismos evitando así la contaminación cruzada (2,5). Instituciones como la Asociación dental Americana (ADA), también el Centro de control y prevención de Enfermedades Infecciosas (CDC) establecen normas para la prevención y control de infecciones cruzadas. El tema sobre la reutilización de limas de uso endodóntico es de gran controversia debido a que diferentes autores indican que excesivos ciclos de desinfección y esterilización pueden incrementar el riesgo de fractura del instrumento (2); según el trabajo descrito por D.Viana indica el efecto de los ciclos de caliente y enfriamiento influye sobre las propiedades mecánicas y resistencia de la fractura del instrumento (5).

Ingle define esterilización “como la destrucción total de una vida microbiana lográndose mediante el calor, gases o por radiación” (6). Desinfección proceso mediante el cual se elimina la carga de gérmenes patógenos de un área determinada excepto las esporas, generalmente se hace mediante sustancias químicas (7).

En el año 2007 se evaluó la reutilización de limas en el departamento de salud del Reino Unido, tratando los instrumentos de un solo uso, puesto que el calor de la esterilización fija los residuos sobre la superficie de la lima (2). Sin embargo, esto no se aplica debido a su costo como también por políticas del sistema de salud.

En Colombia se ha reglamentado de manera general, el proceso de uso, re uso, esterilización y desinfección de dispositivos médicos en el área de la salud. Sin embargo, hasta el momento se desconocen datos oficiales de consumo e información sobre reprocesamiento. Según el INVIMA, en Colombia existen falencias en la normatividad para el re uso de dispositivos médicos, en consecuencia en la mayoría de los casos este se rige por las especificaciones del fabricante que pueden responder a intereses comerciales. En el decreto 4725 del 2005 “por el cual se reglamenta el régimen de registro sanitario, permiso de comercialización y vigilancia sanitaria de los dispositivos médicos para uso humano”, carece de aspectos sobre el re-uso de las limas (8).

Aunado a lo anterior, la posibilidad de que una lima sea de uso único, se aleja de nuestro medio. Desde el punto de vista costo-beneficio se considera que el valor de los tratamientos y el instrumental no es proporcional con lo que se invertiría, además de los altos costos de este tipo de instrumento endodóntico, algunos componentes de su diseño dificultan su esterilización por métodos tradicionales como calor seco y húmedo; sistemas como Wave One y Reciproc utilizados por la gran mayoría de especialistas en endodoncia, poseen un anillo que al ser llevado al autoclave se dilata y la lima pierde su funcionalidad puesto que ya no encaja en el motor rotatorio. Resulta perentoria la búsqueda de nuevos métodos que ayuden a realizar la

esterilización de este tipo de instrumental sin afectar su estructura y funcionalidad sin dejar atrás la importancia de velar por la seguridad y bienestar del paciente.

Existen en el mercado diversidad de sustancias químicas que ayudan a la eliminación total o parcial de residuos biológicos presentes en el instrumental o dispositivos médicos, entre ellos se incluyen jabones enzimáticos, amonios cuaternarios, Glutaraldehído 2%, hipoclorito de sodio 0,25% entre otras. En las clínicas de endodoncia de la universidad Santo Tomas se realizan procesos de desinfección con sustancias químicas como glutadina al 2% y el alkacyde al 2% por 20 minutos provocando la eliminación de microorganismos excepto esporas. Sin embargo, se desconoce la eficacia de este proceso en las limas endodónticas. Por todo lo anterior, surge la pregunta: ¿Cuál es la eficacia *In vitro* de sustancias química comerciales en la esterilización de limas rotatorias de uso endodóntico?

1.2 Justificación Los microorganismos causantes de infección periapical son inherentemente resistentes, por ello, no siempre pueden ser removidos solo con la preparación mecánica lo que puede conducir a fracasos en el tratamiento de conductos, como consecuencia de la infección persistente en el procedimiento endodóntico. En consultorios o instituciones donde se presten servicios de endodoncia, debido al gran flujo de pacientes se deben utilizar métodos de esterilización del instrumental, esto se hace con el fin de mejorar las condiciones de bioseguridad y de esta manera evitar ocasionar daños contra la salud de los pacientes(4), uno de los métodos de esterilización más usado es el autoclave con el cual se logra la destrucción total de los microorganismos que quedan en los instrumentos. Pero otra parte también existen otros métodos que pueden ser rápidos, efectivos y menos dispendiosos, dentro de los cuales podemos encontrar las sustancias químicas de alto nivel, estas sustancias pueden requerir un poco más de tiempo para lograr la esterilización pero pueden llevar a ser igual de efectivos que el autoclave u otros métodos físicos.

En el ejercicio de la profesión, invertir en un paquete de limas para cada paciente, resulta muy costoso y poco rentable para el especialista. Esto sumado a los bajos costos de los tratamientos y a la posibilidad del reuso hacen que las limas no se desechen en su primer uso. De este modo establecer procedimientos para la limpieza, desinfección y esterilización es prioritario en el control de infecciones en endodoncia.

Uno de los propósitos del estudio se basó en el uso de dos sustancias, jabón enzimático (alkazyme 2%) y glutaraldehído 2% que al ser empleadas como método de esterilización, demuestren eficacia al momento de su reutilización.

La finalidad de la investigación fue comprobar la eficacia del jabón enzimático (alkazyme) y glutaraldehído, ambas al 2%, midiendo en cada una el tiempo de esterilización, y mostrar resultados en cuanto a eliminación de microorganismos. Con los hallazgos de este trabajo, se contribuye a recomendar la mejor sustancia química, que demuestre una excelente eficacia a la hora de sumergir las limas endodónticas, y que no provoquen futuras infecciones y/o contaminaciones cruzadas en su reutilización.

2. Marco Teórico

2.1. Elementos de protección personal

2.1.1. Barreras. Son los procedimientos tendientes a evitar la contaminación bacteriana de los diferentes elementos presentes en el consultorio como los pisos, lámparas, teléfonos, jeringas de agua, micro motores, entre otros, a través del contacto de las manos de los operadores y el personal asistente y de los aerosoles originados con sangre y saliva. Esto corresponde a la protección de los ambientes de trabajo, uso de guantes, uso de mascarilla, aseo de las manos, uso de anteojos, control de aerosoles, uso de protectores en las superficies de contacto como lámparas, entre otros y deberán ser cambiados entre paciente y paciente (9). Esto corresponde a la protección de los ambientes de trabajo, uso de guantes, uso de mascarilla, aseo de las manos, uso de anteojos, control de aerosoles, uso de protectores en las superficies de contacto como lámparas, entre otros y deberán ser cambiados entre paciente y paciente (9).

- Guantes: debe ser usado por todo el equipo de trabajo, ayuda a proteger de microorganismos patógenos presentes en la cavidad oral, superficies o instrumental contaminado (10).
- Mascarilla: barrera contra microorganismos presentes en el tracto respiratorio; protege la mucosa de nariz y boca tanto del paciente como operador que se encuentran en los aerosoles y residuos orgánicos como sangre o saliva (10).
- Protectores oculares: cumple la función de barrera y protege la conjuntiva y globo ocular contra microorganismos presentes en aerosoles, sangre y saliva; agentes patógenos como virus de la hepatitis B y herpes (10).

2.1.2 Limpieza. Proceso que elimina la suciedad orgánica e inorgánica (11), garantizando los procesos de esterilización y desinfección (12) En este proceso el trabajador de la salud debe tener presente riesgos como aerosoles y salpicaduras que pueden presentarse durante el proceso y se debe tener en cuenta elementos de protección como usar guantes de caucho calibre 35, delantal impermeable, bata manga larga preferiblemente desechable, gafas de protección o máscara, tapabocas y gorro (13).

2.1.3 Desinfección. Es un proceso físico químico, que destruye microorganismos patógenos, no patógenos y rara vez elimina esporas, no es algo absoluto, lo que se busca con el proceso de desinfección es disminuir la patogenicidad de los microorganismos para que evitar que estos puedan ocasionar un daño(4,12). Existen tres niveles de desinfección que se basan en el efecto microbicida de los agentes químicos sobre los microorganismos (14), y estos pueden ser:

- Desinfección de alto nivel (DAN): es realizado con agentes químicos líquidos que eliminan todos los microorganismos ejemplo: glutaraldehído, ácido paracético, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno, formaldehído (14).
- Desinfección de nivel intermedio (DNI): este proceso se realiza utilizando agentes químicos que eliminan bacterias vegetativas y algunas esporas bacterianas en el que se incluye el grupo de los fenoles, hipoclorito de sodio (14).
- Desinfección de bajo nivel (DBM): se realiza con agentes químicos que eliminan formas vegetativas de las bacterias, hongos y algunos virus en un período de tiempo corto (menos de 10 minutos), ejemplo: grupo de los amonios cuaternarios (14).

2.1.4. Factores que afectan los procesos de desinfección. Cantidad y ubicación de los microorganismos: cuanto mayor sea la biocarga, mayor debe ser el tiempo en que un desinfectante debe actuar, por eso es necesario hacer una rigurosa limpieza de las superficies de los instrumentos (14).

- Resistencia de los microorganismos a los agentes químicos: se refiere al espectro de acción con el que cuenta el método y el agente utilizado (14).
- Concentración de los agentes: está relacionado con la potencia de cada uno de los agentes para que produzca la acción esperada. Las concentraciones varían dependiendo de los agentes desinfectantes (14).
- Factores físicos y químicos: se relaciona con la temperatura a la que debe ser utilizado para lograr su efectividad (14).
- Materias orgánicas: se refiere a la presencia de materia orgánica como sangre, pus, saliva que puedan inactivar la acción y la efectividad del agente desinfectante (14).
- Duración de la exposición: se relaciona con el tiempo que cada método y agente desinfectante tiene para lograr el nivel deseado (14).
- Presencia de materiales extra-celulares y biofilm: son aquellos que generan una barrera contra el proceso de desinfección (14).

2.2 Esterilización. Es un proceso físico y químico en el cual se busca la destrucción o muerte de toda vida microbiana incluyendo un número considerable de esporas resistentes de bacterias (7), es algo absoluto. Todo artículo crítico debe ser sometido a algún método de esterilización de acuerdo a su compatibilidad, existen dos métodos de esterilización cuando el material es compatible a la humedad y cuando no es compatible y estos dos tipos de métodos son (14).

- Autoclave: todo material resistente al calor, compatible con humedad debe ser auto clavado (14).
- Calor seco: todo material resistente al calor e incompatible a la humedad debe ser esterilizado por calor seco (14), procedimiento realizado en horno de calor seco y cuyo mecanismo de acción es por coagulación de proteínas. Su efecto depende de la difusión de calor, calor disponible y pérdida de calor; la temperatura usada es 170°C durante 60 minutos o 150°C por 150 minutos (10,15).
- Calor húmedo: este proceso de esterilización se realiza en autoclave y se encarga de destruir los microorganismos por el método de coagulación y desnaturalización de las proteínas; se considera el proceso de primera elección en el área de la odontología en materiales cuyas características sean resistentes al calor (10,15). Los tiempos de exposición depende de la temperatura o presión que se utilice, por lo tanto, si la presión es de 1,5 y 121°C de temperatura el tiempo de exposición

será 15 segundos, por el contrario a 2,0 atm y 126°C de temperatura el tiempo de exposición será 10 segundos (10).

- Esterilización con métodos químico gaseosos: deberán realizarse en cámaras con ciclos automatizados que brinden seguridad al usuario y garantía de los procesos (14).
- Esterilización con métodos químico líquidos por inmersión: se realiza de forma manual, debe utilizarse como último método de elección, estos procesos son difíciles de controlar, con grandes posibilidades de re-contaminación durante el enjuague o secado, y no permite su almacenado (14).

2.2.1. Clasificación de objetos

Tabla 1 *Clasificación de Objetos de uso clínico*

Tipo de objetos	Ejemplos	Métodos
Críticos Penetran en los tejidos y cavidades normalmente estériles	Instrumental quirúrgico, jeringa de anestesia, elevadores, curetas, tijeras, pinzas	Siempre estériles
Semicríticos Entran en contacto con membrana, mucosa y piel no intacta	Instrumental básico de operatoria y endodoncia	Estériles o mínimamente sometidos a desinfección de alto nivel (DAN)
No críticos Solamente entran en contacto con piel sana	Objetos de uso del paciente: batas, loza, vasos	Limpieza adecuada y limpieza en algunas ocasiones desinfección de nivel intermedio o bajo

Protocolo de limpieza, desinfección y esterilización en el Servicio de Odontología. Universidad Industrial de Santander, proceso bienestar estudiantil, subproceso atención en salud. 2008; 1-10

2.3 Sustancias químicas para desinfección

2.3.1. Glutaraldehído. Es un compuesto del aldehído y se presenta en soluciones acuosas, ácidas y alcalinas. Las soluciones ácidas son no esporicidas, pero utilizando un agente alcalizante como activador este producto se torna esporicida. Tiene pH alcalino (14), después de 20 minutos de inmersión se garantiza la desinfección de alto nivel, por su composición se considera irritante para tejido mucoso como boca, nariz, ojos (12).

Espectro: Bactericida, fungicida, virucida, micobactericida y esporicida (14).

Ventajas y desventajas: no es corrosivo, para DAN (45 minutos) a temperatura ambiente tiene actividad germicida en presencia de materia orgánica, la gran desventaja del glutaraldehído es que es tóxico, ya que una vez activado puede producir vapores irritantes para la mucosa, el sistema respiratorio y la piel, por este motivo debe ser utilizado en ambientes muy ventilados (14).

Indicaciones de uso: Está indicado para la desinfección de alto nivel de artículos y materiales de metal e instrumentos de usos odontológico (14).

Concentraciones de uso: solución al 2%, se requiere de 45 minutos para lograr la desactivación de alto nivel a una temperatura de 20° centígrados.

En odontología uno de los procesos más importantes en cuanto a la seguridad del paciente es la desinfección y esterilización de los instrumentos utilizados durante la práctica clínica los cuales deben brindarse al paciente en el momento de su atención, siendo de suma importancia pues nos permite evitar infecciones y afecciones a la salud de estos pudiendo afectar su integridad, es de esta manera y mediante estos procesos que se logra el éxito en cada procedimiento que se realice (16).

En los últimos años en la especialidad de endodoncia han ocurrido cambios notables, sobre todo relacionados con las propiedades metalúrgicas y diseño de nuevos instrumentos endodónticos, mejorando flexibilidad, capacidad de corte, y resistencia a la torsión, así como también en las técnicas de instrumentación de los conductos radiculares (16).

Los nuevos instrumentos rotatorios tienen variaciones en el diámetro y conicidad (16), lo cual permite que estos diseños complejos tengan mayor facilidad de retención y acumulación de microorganismos entre sus estrías al momento de ser usados en conductos radiculares contaminados, también puede ocurrir durante la manipulación del operador durante la precurvación de los instrumentos, es por esto que este tipo de instrumental deben tener un riguroso proceso de limpieza, desinfección y esterilización para evitar llevar de paciente a paciente bacterias, virus, priones, tejido de pulpa infectada, saliva o sangre por medio de la infección cruzada ya que estos van actuar como antígeno, agentes infecciosos o irritantes inespecíficos en la cavidad bucal impidiéndonos lograr el objetivo del tratamiento(17), el cual busca disminuir ese número de bacterias que causan afección en el tejido pulpar por medio de estos instrumentos, además pueden ayudar a la corrosión del mismo lo cual nos va a disminuir el corte de la dentina y obstrucción del canal con virutas y restos de esta durante la instrumentación impidiendo disminuir lesiones presentes y evitar reinfecciones después del tratamiento(17).

Los diferentes avances tecnológicos y la asociación de la metalúrgica con la endodoncia permitieron que nuevos instrumentos rotatorios se fabricaran con aleación de níquel-titanio, la cual les confiere superelasticidad, flexibilidad, resistencia a la deformación plástica y a la fractura (16).

La superelasticidad es la propiedad de ciertas aleaciones que les permite a las limas retornar a su forma original, después de haberse ejercido una fuerza que lleve a la deformación del instrumento (18).

Las aleaciones de níquel-titanio, cuando son sometidas a la deformación de hasta 10% pueden retornar a su forma original mientras que las limas de acero inoxidable solamente retornan a su estado inicial cuando la deformación no es superior a 1%(18).

La deformación plástica de una aleación se caracteriza por su capacidad de sufrir deformaciones permanentes, sin alcanzar la ruptura. Esta propiedad permite evaluar la capacidad de trabajo mecánico que el instrumento podría soportar, conservando su integridad física (16).

La aleación de níquel-titanio posee en su composición dos fases cristalinas, cuando está en reposo está en fase austenita y cuando está en movimiento rotatorio presenta una deformación conocida como martensita, propia de las aleaciones superelásticas (16).

2.4 Diseño de los Instrumentos Rotatorios

2.4.1. Conicidad. En los instrumentos rotatorios, el principio básico fue fabricarlos con diferentes conicidades, así se encuentran instrumentos rotatorios con conicidades de 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,08; 0,10 y 0,12 mm; como consecuencia de esa mayor conicidad solamente una porción de la parte activa del instrumento entra en contacto con la pared dentinaria (plano de contacto). Así las limas en el momento que son introducidas en el conducto van a determinar el ensanchamiento de los 2/3 coronarios promoviendo el desgaste anticurvatura y permitiendo que las limas de menor conicidad penetren, sin obstáculos hacia apical, permitiendo también una irrigación más eficaz (16).

2.4.2. Superficie radial o guía lateral de penetración (*radial land*) Plano de contacto del instrumento con la pared del conducto radicular, permite que al girar el instrumento este se deslice por las paredes dentinarias, proporcionando una función de ensanchamiento y no de limaje, concurriendo para un menor riesgo de fractura (16).

2.4.3. Ángulo de corte o ángulo de la incidencia de la hoja de corte (*Effective rake angle*): Indica la capacidad de corte de la lima y puede determinarse midiendo el ángulo formado por el borde cortante (guía) y el radio, se puede decir que si el ángulo formado por el borde cortante (guía) y la superficie a cortar es obtuso este ángulo cortante formado es positivo mientras que si ese ángulo es agudo se puede afirmar que su ángulo de corte es negativo (19).

2.4.4. Alivio de la superficie radial Está representado por la intersección de las superficies de ataque, este alivio permite un área menor de contacto con la dentina, disminuyendo la fricción (16).

2.4.5. Ángulo helicoidal. Es el ángulo formado entre las estrías y el eje axial del instrumento. Cuanto mayor es el ángulo helicoidal, más rápido es el desgaste de la dentina; mayor es el riesgo de que el instrumento se atrape en las paredes facilitando su fractura (16).

2.4.6. Distribución de la masa metálica. La sección transversal de algunos instrumentos no es homogénea, tal hecho permite que el instrumento se acomode en el conducto radicular, distribuyendo mejor las fuerzas aplicadas en la dentina (16).

2.4.7. Diseño de la Punta. La mayoría de los instrumentos rotatorios posee punta inactiva, sin embargo para ultrapasar áreas de calcificación o conductos con morfologías complejas, debido a esto existen instrumentos con punta activa con pequeño ángulo de transición, estos instrumentos hay que usarlos con mucho cuidado pues se desvían fácilmente del conducto radicular original (16)

2.4.8. Pitch. Se llama así a la distancia que hay entre las estrias de las limas, esta distancia corresponde al punto entre el borde guía y el punto correspondiente al borde guía adyacente. Cuanto más pequeño sea el pitch más espirales tendrá la lima y mayor será su ángulo helicoidal. La mayoría de limas tienen un pitch variable que cambia a lo largo de la superficie de trabajo (19).

2.4.9. Área de escape. Los instrumentos de níquel-titanio rotatorios ofrecen a través de su sección transversal surcos y/o ranuras que actúan como área de escape que sirven para recibir las virutas de dentina, que se producen durante la instrumentación del conducto radicular (16).

La instrumentación rotatoria permite lograr una excelente limpieza apical, una mejor conicidad del conducto, disminuyendo el transporte apical y sus complicaciones (16).

2.4.10. Limas Rotatorias.

2.4.10.1 RECIPROC. El sistema presenta tres tamaños que permiten la instrumentación según las características del tipo de conducto radicular, su presentación comercial es un blíster estéril que facilita el uso inmediato del instrumento y clasificados en su color de acuerdo al ISO e indica el tamaño de la punta (20).

Está fabricado con alambre de níquel- titanio “M-Wire” proporcionando características de flexibilidad y aumentando la resistencia a la fatiga cíclica, presenta una sección transversal en forma de S y conicidad regresiva (20). Realiza movimientos reciprocantes que consiste en un movimiento de corte seguido de un giro en sentido contrario para liberar el instrumento; la casa comercial indica ser lima única sin necesidad de pre ensanchamiento del canal radicular (20).

R25: su diámetro es de 0.25 mm en la punta y conicidad de 0.08mm en los primeros tres milímetros apicales del instrumento y en su parte D16 de 1.05mm (20).

R40: su diámetro en la punta es de 0.40 mm en la punta y conicidad de 0.06mm en los primeros tres milímetros apicales del instrumento y un diámetro en la parte D16 de 1.10mm (20)

R50: presenta un diámetro de 0.50mm en la punta y conicidad de 0.05mm en los primeros tres milímetros apicales del instrumento y un diámetro en la parte D16 de 1.17mm (20).

Las indicaciones de uso son realizar una cavidad de acceso recto y realizar un proceso de irrigación adecuada y sin necesidad de realizar un ensanchamiento del orificio.

2.4.10.2 WAVE ONE. En 2008, un grupo de 8 clínicos internacionales conformado por Drs. Ben Johnson, Sergio Kuttler, Pierre Machtou, Wilhelm Pertot, Julián Webber, John West,

Ghassan Yared, en colaboración con Dentsply International iniciaron el desarrollo de la lima Wave One fue hasta el 2011 donde las limas fueron promocionadas internacionalmente estas limas ofrecen seguridad, eficiencia y económico promoviendo el éxito del tratamiento en los conductos radiculares (21).

Los sistema de limas rotatorias Waveone NiTi de Dentsply Maillefer, tiene como fin dar forma al conducto radicular de principio a fin, estrechando en forma de embudo para una perfecta obturación en 3D, no sólo cumple con los requisitos biológicos para una irrigación adecuada además ayudar a eliminar las bacterias encontradas en el conducto radicular y tejido pulpar.

En la mayoría de los casos, la técnica sólo requiere una sola lima manual, seguido de una lima única Wave One para dar forma al conducto por completo. Las limas de NiTi están diseñadas para trabajar "movimiento recíproco" estas limas son fabricado utilizando la tecnología M-Wire de níquel titanio mejorando la flexibilidad y la resistencia a la fatiga cíclica (causa de separación de instrumento), en la actualidad, hay tres tipos de limas de sistema rotatorio Wave One además de 3 longitudes de 21, 25 y 31 mm (22).

1. Las limas Small Wave One se utiliza en los conductos estrechos. La punta tamaño es ISO 21 con una conicidad continua de 6% (22).

2. Las limas Primary Wave One se utiliza en la mayoría de conductos. El tamaño de la punta es ISO 25 con un cono apical 8% que reduce hacia el extremo coronal.

3. Las limas Large Wave One se utiliza en grandes conductos. El tamaño de la punta es ISO 40 con un cono apical del 8% que reduce hacia el extremo coronal (22).

Los instrumentos están diseñados para trabajar en movimiento recíprocante. Todos los instrumentos presenta sección transversal triangular convexa en el extremo de la punta Debido a que existe la posibilidad de contaminación cruzada asociada con la incapacidad para limpiar completamente y esterilizar instrumentos de endodoncia y la posible presencia de priones en el tejido pulpar.

Todos instrumentos utilizados en el interior conductos radiculares deben ser de un solo uso reduciendo la fatiga cíclica, los cuales traen un código de colores de plástico en el mango que se deforma una vez esterilizado, evitando que la lima se coloque de nuevo en la pieza de mano al reutilizarla (22).

Estas limas Wave One tienen mayor movimiento en sentido anti horario que en sentido horario. Completa la rotación tres ciclos alternativos inversos y el instrumento avanza gradualmente hacia el conducto con poca presión apical (22).

2.5 Microorganismos en Endodoncia. La pulpa dental es considerada un tejido estéril y relacionada en la formación de dentina y sensibilidad dental (23).

Las lesiones en la pulpa dental desencadenan un proceso inflamatorio este puede ser de naturaleza física, térmica o química (23), sin embargo, se indica que la principal causa de enfermedad endodóntica y fracaso en el tratamiento es la presencia o formación de biofilm, debido a la morfología del conducto e irregularidades en sus paredes estas infecciones causadas

por el biofilm han mostrado ser de difícil eliminación (24). Por lo que desempeña un papel fundamental en el fracaso o enfermedad pulpar y de los tejidos peri radiculares (25). Según Kakehashi y colaboradores, indican que existe relación entre la presencia de microorganismos y las enfermedades endodónticas (25).

El conducto radicular está en continua comunicación con los tejidos periapicales por el foramen apical, conductos laterales y accesorios por lo que sustancias tóxicas producidas principalmente por bacterias encontradas en el canal radicular se difunden a los tejidos periapicales produciendo respuesta inflamatoria desencadenando problemas y enfermedades periapicales que comienzan como una infección crónica (23).

En la cavidad bucal se observan más de 300 especies bacterianas, sin embargo en el conducto radicular pocas especies son capaces de invadir pues no poseen propiedades para invadir los túbulos dentinarios y vivir en este micro ambiente, por lo tanto estos microorganismos debe presentar las siguientes características (23):

El microorganismo debe estar en gran número para iniciar y sobrevivir en las Lesiones peri-radicales así como factores de virulencia (23).

El factor de virulencia debe tener acceso a los tejidos peri radiculares (23).

El ambiente del conducto debe permitir el crecimiento y sobrevivencia del microorganismo (23).

Estas infecciones en el conducto radicular son producidas por múltiples microorganismos especialmente anaerobias, estos organismos anaerobios juegan un papel importante en los signos y síntomas que se presenta el paciente en la enfermedad pulpar y periapical, en el tiempo la clasificación de especies presentes han modificado y encontrado nuevos géneros como *Porphyromonas* y *Prevotellas*; en esta última, estudios han reportado que la hemina y la vitamina K son elementos importantes en el crecimiento de dicha especie (*Prevotella melaninogenica*) (17). Por lo tanto, estudios realizados concluyen que la severidad de la inflamación pulpar y periapical está relacionada con el número de microorganismos y tiempo presente en el canal radicular, del mismo modo la inflamación es de mayor intensidad si hay infección mixta (23).

Las bacterias anaeróbicas cubren las necesidades nutricionales de los otros organismos infecciosos acompañantes; los estudios realizados por Brook y Cols, indican la presencia en más del 70% de anaerobios en abscesos peri radiculares, Wasfy y Cols, mediante sus estudios observan que el 73% este mismo tipo de especie en infecciones peri radiculares (25).

2.5.1. Microorganismos presentes en la periodontitis apical crónica. Esta enfermedad es principalmente causada por bacterias que se encuentran infectando el conducto radicular, de origen mixto, observando bacterias anaerobias estrictas, anaerobias facultativas o micro aerobios del género *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus* y *Fusobacterium nucleatum* este último es un bacilo aerobio estricto, Gram negativo y no formador de esporas, según Siqueira, se observa en un 10,5% en esta enfermedad (26). Los síntomas agudos son relacionados con la presencia de anaerobios específicos como: *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* y *Prevotella buccae* (23,25,).

2.5.2. Microorganismos presentes en necrosis pulpar: Se observa presencia de bacterias anaerobias estrictas, anaerobios facultativos, escasas aerobias y mayor número de bacterias Gram positivas que Gram negativas. Haapsalo, Siqueira et al, en sus estudios realizados clasifican la infección como mixta y semi específica, se caracteriza por la presencia de cocos, bacilos y espirilos, un promedio de 4 a 7 especies por conducto y de 102 a 108 células bacterianas (23,25). Han observado presencia de *Streptococcus ssp*, cocos Gram negativos y lactobacilos al igual que anaerobios en un número menor al 50% del total de los microorganismos (23).

El *Fusobacterium nucleatum*, es considerado uno de los microorganismos más frecuentes en necrosis pulpar (26).

El *Enterococcus faecalis* hallado en conductos infectados presenta resistencia a la eliminación del interior del conducto ya sea por medio de instrumentación, irrigación o medicación (24). El *Streptococcus intermedius*, es una bacteria anaerobia facultativa Gram positiva, Tarsi y cols. indican que es una de las bacterias importantes en la formación de biofilm y presenta resistencia en su eliminación (24).

En esta tabla se indican las especies presentes en conductos necróticos (23).

Tabla 2 *Especies Microbianas Encontradas en conductos necróticos*

<i>Actinomyces</i>	<i>Filifactor alocis</i>	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Fusobacterium necrogenes</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>
<i>Actinomyces viscosus</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Prevotella oralis</i>
<i>Fusobacterium varium</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Bacteroides forsythus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Propionibacterium propionicus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Selenomonas sputigena</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Peptostreptococcus productus</i>

Fuente: Tatiana Aguilar Heredia. "Aspectos Microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica Persistente". Carlos Bóveda invitado # 41 (agosto 2004).

2.5.3. Microorganismos presentes en lesiones peri radiculares Es necesario una infección en el conducto para que haya presencia de la lesión periapical, debido a los efectos citotóxicos de los microorganismos (24).

Estudios realizados por Sundqvist las especies más frecuentes son *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Eubacterium alactolyticum*, *Eubacterium lentum* y *Wolinella recta*.

Las *P. endodontalis* y *P. gingivalis* son importantes en la formación de lesiones periradiculares incluyendo abscesos peri radiculares (23).

Tabla 3 Microorganismos presentes en Infecciones Primarias

Lesiones peri radicular crónica	Absceso peri radicular agudo	Infecciones secundarias o persistentes	Infecciones extra radiculares
<i>Bacteroides</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Treponema</i>	<i>Treponema</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	
<i>Porphyromonas</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Candida</i>	
<i>Fusobacterium</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Propionibacterium</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Eubacterium</i>			

Fuente: Tatiana Aguilar Heredia. "Aspectos Microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica Persistente". Carlos Bóveda invitado # 41 (agosto 2004).

3. Objetivos

3.1. Objetivo general: Evaluar la eficacia *In Vitro* de productos comerciales jabón enzimático (alkazyme 2%) y glutaraldehído 2% en la esterilización de limas rotatorias en Endodoncia.

3.2 Objetivos específicos:

- Establecer la reducción en la carga microbiana en limas rotatorias de uso Endodóntico después del tratamiento con sustancias químicas como jabón enzimático (alkazyme 2%) glutaraldehído 2%
- Evaluar *In vitro* la eficacia antimicrobiana del jabón enzimático (alkazyme 2 %) en la esterilización de Las limas rotatorias de uso endodóntico

- Evaluar *In vitro* la eficacia antimicrobiana del glutaraldehído al 2% en la Esterilización de limas rotatorias de uso endodóntico
- Comparar la eficacia *In vitro* antimicrobiana del jabón enzimático (alkazyme 2 %) y glutaraldehído 2% en la esterilización de las limas rotatorias de uso endodóntico

4. Hipótesis

4.1. Hipótesis Nula. Las sustancias evaluadas en el presente trabajo presentan eficacia similar en la esterilización de las limas rotatorias en forma independiente y cuando se combinan.

4.2. Hipótesis Alterna. Las sustancias evaluadas en el presente trabajo presentan eficacia diferente en la esterilización de las limas rotatorias en forma independiente y cuando se combinan.

5. Materiales y Métodos

5.1 Tipo de Estudio. Esta investigación es de tipo experimental *In vitro*, dado que existe en el laboratorio una manipulación controlada del factor estudio que en este caso corresponde a las sustancias desinfectantes utilizadas; por otra parte, se incluye un grupo control que será similar al grupo experimental. Finalmente, se garantiza que las limas serán asignadas a cada grupo de manera aleatoria.

5.2 Universo y Muestra

Universo: limas rotatorias de uso endodóntico

Población: limas rotatorias del sistema rotatorio Wave One (Dentply) Primary de 25mm de longitud.

Muestra: Se incluyeron 79 limas de los sistemas Wave One que fueron distribuidas en 4 grupos de estudio, cada grupo tendrá 12 limas evaluadas antes del tratamiento y 12 después del tratamiento, y un grupo control con 7 limas

Se tuvieron en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

Limas nuevas que se encuentren en su empaque original al momento de entrega por el proveedor.

Criterios de exclusión:

Limas con defectos en su empaque que sugieran exposición a la contaminación ambiental.

Limas que según la fecha de vencimiento en su empaque se encuentren vencidas al momento del estudio.

Limas del sistema cuyo diametro no corresponda al incluido en el estudio.

Para la asignación del total de limas de cada tipo en los grupos de estudio fueron asignados números consecutivos a cada lima de cada sistema y posteriormente con ayuda de una tabla de números aleatorios, se procesaron según el grupo correspondiente.

5.3 Variables

Tabla 4 *Variables*

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Naturaleza	Escala de medición	Valor que asume la variable	A qué objetivo apunta la variable	qué la variable
Tratamiento químico esterilizante	Sustancias de diversa naturaleza química con efecto antimicrobia no y esporicida.	Sustancia de uso en limpieza, desinfección y esterilización de instrumental odontológico con actividad biológica	cualitativa	nominal	Jabón enzimático glutaraldehído, jabón enzimático y glutaraldehído, solución salina	Evaluar la eficacia <i>In vitro</i> de sustancias químicas comerciales en la esterilización de limas rotatorias de uso endodóntico	la In de

Tabla 5.a *Variables*

Recuento de microorganismos inicial y final	Técnica que establece el número total de microorganismos viables en una muestra	Cantidad de microorganismos viables presentes en las limas antes y después del tratamiento	cuantitativas	continua	UFC/ml	Determinar la eficacia in vitro antimicrobiana de jabón enzimático (alkazyme) al 2 % y glutaraldehído al 2% en la esterilización de las limas rotatorias de uso endodóntico
Eficacia de tratamiento químico esterilizante	Capacidad de una sustancia para lograr un efecto deseado.	Capacidad de las sustancias químicas evaluadas para reducir la carga microbiana en las limas endodónticas.	cualitativa	nominal	Eficaz=1 No eficaz=2	Determinar la eficacia in vitro antimicrobiana del alkazyme al 2% y glutaraldehído al 2% en la esterilización de las limas rotatorias de uso endodóntico

5.4. Procedimiento

5.4.1. Esterilización de las limas nuevas. Las limas se retiraron de los blister en los cuales estaban empacadas en ambiente de esterilidad (cabina de flujo laminar), seguidamente en la misma cabina las limas se llevaron a bolsas para autoclavar con una pinza algodonerá previamente esterilizada, luego fueron selladas y llevadas a un vaso presipitado para ser sometidas a esterilización en un autoclave (K-GEMMY) a una temperatura de 121° centígrados durante 30 minutos, este proceso de esterilización fue tomado de los artículos publicados por G. Alexandrou, Morrison A, Raju, en los cuales se reportaban haber realizado en cada de las limas una esterilización previa para lograr una estandarización del procedimiento y de esta manera evitar cualquier sesgo (1,3,27)



Figura 1 Proceso de preesterilización de las limas en cabina flujo laminar

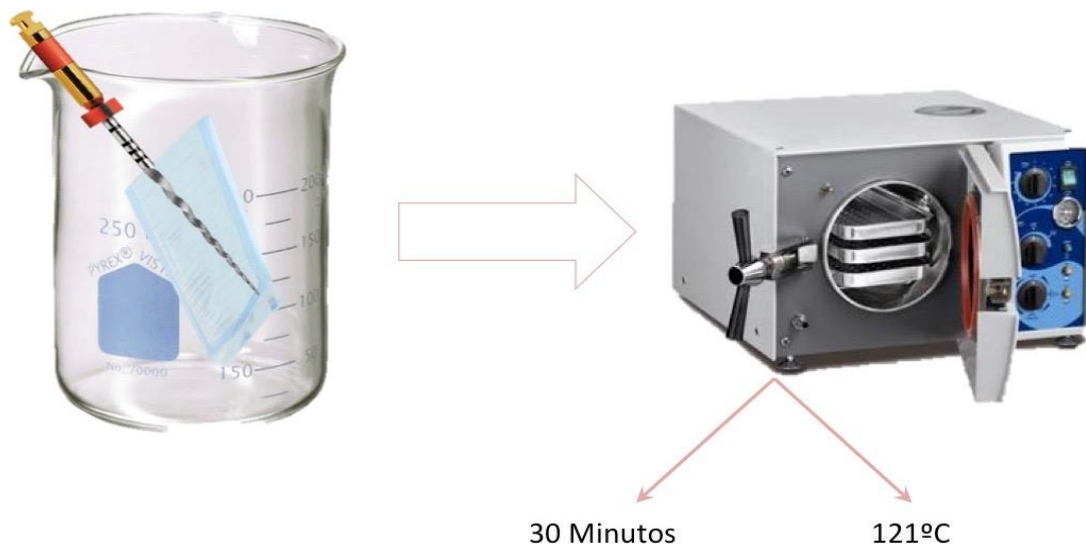


Figura 2 Proceso de esterilización en autoclave

Fuente: Imágenes tomadas de internet

5.4.2 Contaminación de las limas. Para este estudio se utilizó el *Bacillus stearothermophilus* ATCC (7953) a escala de McFarland 1 que corresponde a una concentración de 10^8 bacterias/ ml. Se tomó como referencia este microorganismo por ser un indicador biológico de esterilidad, al ser muy resistente a ciclos de vapor a 121° centígrados y a ciertos vapores químicos, según la literatura el modelo es indicador para evaluar procesos de esterilización (28). El microorganismo fue previamente cultivado en medio de Agar Dextrosa Caseína Peptona el cual se usa para estudiar la presencia de microorganismos termofílicos(29).

Las limas fueron sumergidas en tubos de ensayo con 5mm de caldo tripticasa de soya el cual contenía el cultivo del microorganismo, las limas se dejaron sumergidas durante 15 minutos (1). Posteriormente, la mitad de las limas contaminadas asignadas a cada grupo 12 del grupo de jabón enzimático (grupo 1), 12 del grupo del glutaraldehído (grupo 2), 12 del grupo jabón enzimático + glutaraldehído (grupo 3) y 4 limas tomadas para el grupo control (grupo 4), luego de cumplir el tiempo establecido fueron retiradas de los tubos de ensayo, se llevaron a tubos que contenían 5ml de solución salina, se agitaron en un vortex y después de este proceso fueron retiradas con pinzas algodoneras y se descartaron en un recipiente, los tubos que contenían los 5ml de solución salina fueron procesados para el recuento de microorganismos inicial (como se menciona en el apartado IV.D.4), con ello se determinó la carga microbiana inicial. Este proceso fue igual para los grupos 1,2,3,4.

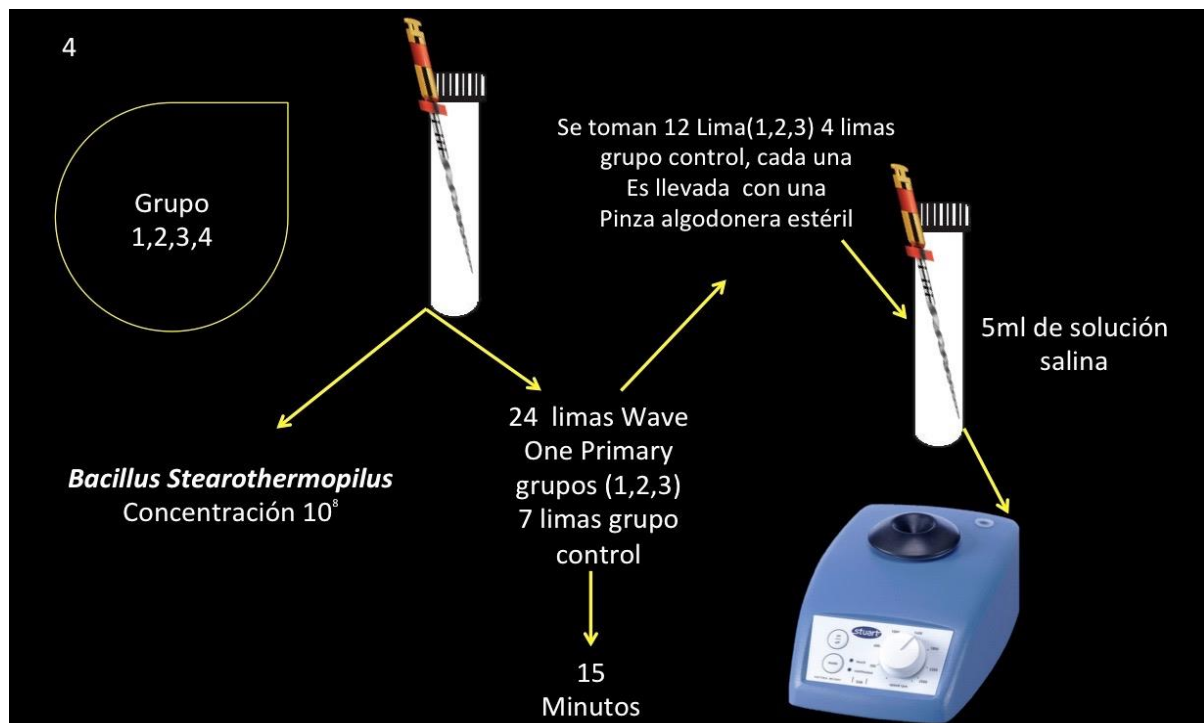


Figura 3 Proceso de contaminación de las limas

Fuente: Imágenes tomadas de paginas de internet

5.4.3. Pruebas de esterilización con sustancias químicas.

Tratamiento con las sustancias por separado (alkazyme y Glutaraldehido): En un tubo de ensayo se agregaron 5ml de la sustancia de interés; allí, fueron sumergidas 12 limas durante 15 minutos en jabon enzimatico (grupo 1) y 12 limas en glutaraldehido (grupo 2) durante 16 horas (glutaraldehido) estas limas ya estaban previamente contaminadas con el microorganismo de interes, después de dejarlas el tiempo indicado 15 minutos en jabon enzimatico y 16 horas en glutaraldehido se tomaron del tubo de ensayo con una pinza algodoneria previamante esterilizada y fueron llevadas cada una a otro tubo de ensayo el cual contuvo 5ml de solucion salina, estos tubos fueron sellados debidamente, homogenizados en un vortex, las limas fueron retiradas de los tubos de ensayo con pinzas algodonesras y descartadas en un recipiente dejando solo los tubos con 5ml de solucion salina los cuales fueron procesados para el recuento de microorganismos.

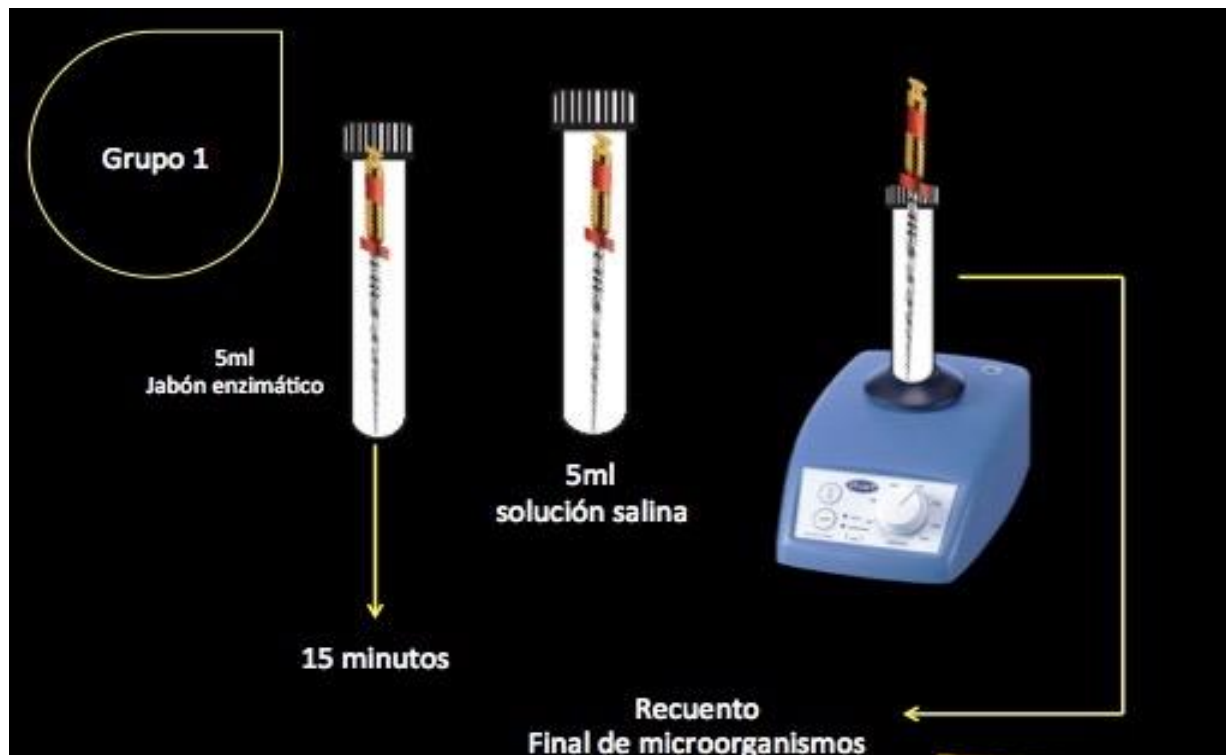


Figura 4 Prueba de esterilización grupo 1 jabón enzimático

Fuente: Imágenes tomadas de paginas de internet

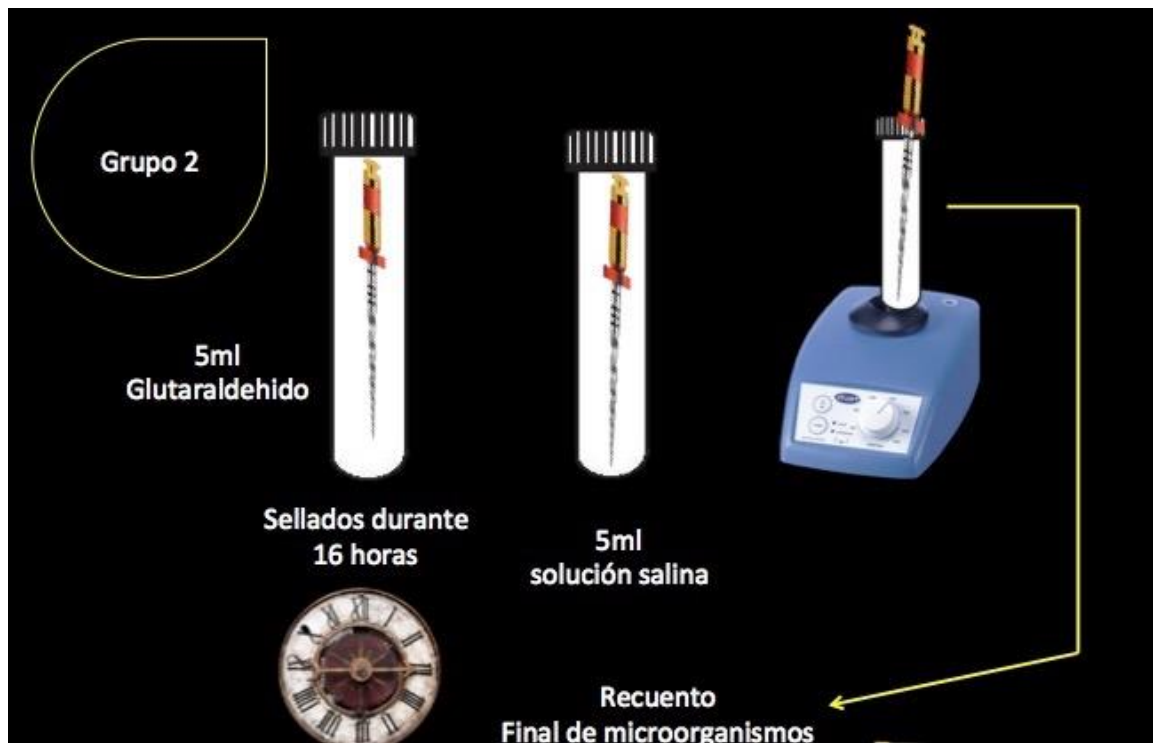


Figura 5 Prueba de esterilización grupo 2 Glutaraldehído

Fuente: Imágenes tomadas de paginas de internet

Tratamiento con Alkazyme y Glutaraldehído combinado (grupo 3): En un tubo de ensayo fueron agregados 5ml de la solución alkazyme y se sumergieron durante 15 minutos las 12 limas restantes previamente contaminadas, después de cumplir el tiempo indicado las limas fueron retiradas y sumergidas en tubos de ensayo que contenían 5ml con solución salina, estos tubos se agitaron en un vortex para inactivar el efecto del jabón enzimáticos. Posteriormente, en otro tubo de ensayo fueron agregados 5ml de glutaraldehído y se sumergieron durante 16 horas las 12 limas dejando los tubos debidamente sellados y tapados con papel aluminio para evitar la exposición a la luz, al cumplir el tiempo indicado las limas se retiraron con una pinza algodónera estéril y se inactivaron llevándolas a los tubos que contenían 5ml de solución salina luego fueron agitadas en un vortex para hacer un lavado y de esta manera inactivar la sustancia (glutaraldehído), después de este proceso se llevaron a los tubos de ensayo que contuvieron 5ml de solución salina, estos tubos fueron sellados, homogenizados en un vortex las limas fueron retiradas de cada tubo de ensayo y se dejaron los 5ml de solución salina para ser procesados, estos tubos fueron dispuestos para realizar el recuento de microorganismos.

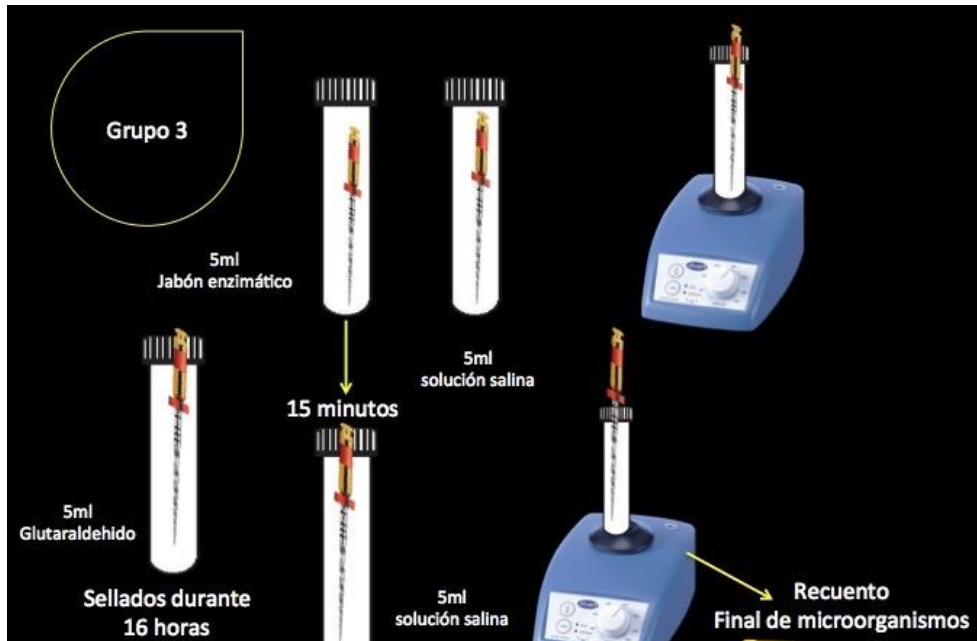


Figura 6 . Prueba de esterilización grupo 3 jabón enzimático+glutaraldehído

Fuente: imágenes tomadas de paginas de internet

Grupo control (grupo 4): En un tubo de ensayo fueron agregados 5ml de solución salina, en la cual se sumergieron durante 15 minutos las 4 limas restantes previamente contaminadas, después de dejarlas el tiempo indicado se tomaron las limas de los tubos de ensayo con una pinza algodonerá previamente esterilizada y fueron llevados cada una a tubos de ensayo que el cual contuvo 5ml de solución salina, estos tubos fueron sellados, homogeneizados y procesados para recuento de microorganismos.

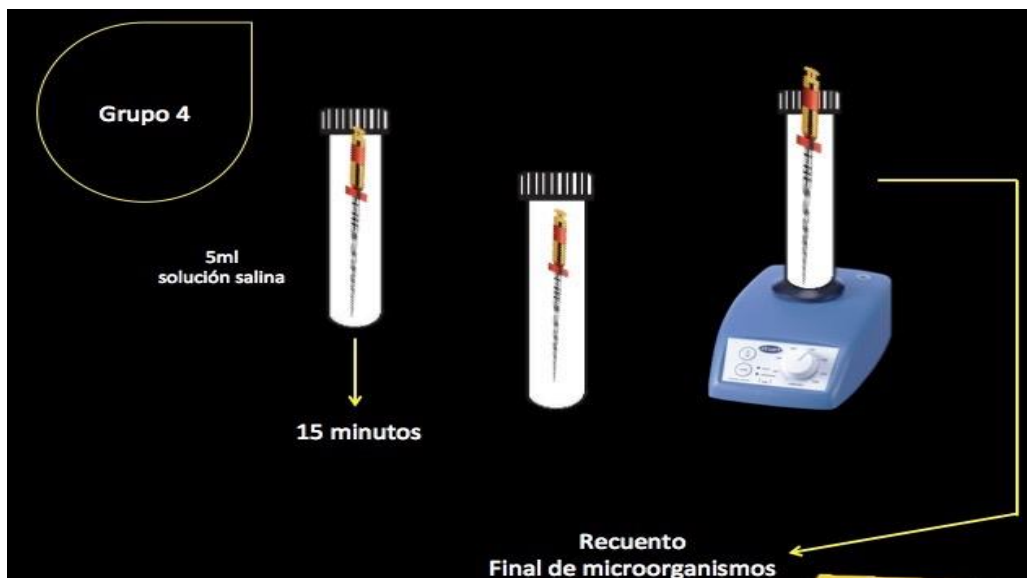


Figura 7 . Prueba de esterilización grupo control solución salina

Fuente: Imágenes tomadas de paginas de internet

5.4.4 Procesamiento de Muestras Microbiológicas: Recuento de Unidades Formadoras de colonias. Para la identificación de los microorganismos presentes en las muestras de las limas tanto inicial (12 limas) como final (12 limas) por grupo según las sustancias y (3 limas) para recuento inicial (4 limas) para recuento final de microorganismos en el grupo control, se sembraron en medios de cultivo, en este caso se utilizó un medio de cultivo artificial, conocido como Agar Agar Dextrosa Caseina Peptona, el cual fue usado para su determinación y análisis (30).

Los medio de cultivo fueron preparados en el laboratorio, el medio fue sólido (Agar) lo cual es ideal para sembrar o introducir las bacterias sin que se dañe a causa de la temperatura.

Se procedió con el recuento Unidades Formadoras de Colonias (UFC), que consistió en sembrar un volumen determinado de muestra sobre el medio de cultivo sólido (Agar Dextrosa Caseina Peptona) adecuado para estimar el número de células contando el número de colonias que se forman puesto que cada una de estas deriva de una célula aislada. Varias de estas colonias crecen de 300 colonias en adelante, cantidades que se consideran incontables, por lo tanto se diseñó una técnica que permite disminuir el número de colonias por muestra, la cual se denomina dilución en tubo. (30)

El procedimiento de recuento a través de esta técnica se realizó marcando las placas de petri, con el medio Agar Dextrosa Caseina Peptona por duplicado, luego se procedió a marcar los tubos con diluyente desde 10^0 hasta 10^6 y en condiciones asépticas se procedió a realizar una serie de diluciones, preparándose cada una de ellas con una pipeta esterilizada (31)

La muestra original se diluyó para que el número de colonias desarrolladas en la placa se encontraran entre 30 y 300 colonias y así permitir un óptimo crecimiento y fácil lectura. En primer lugar, la muestra se diluyó seriadamente, transfiriendo 0,5 ml de la muestra a 4,5 ml de medio estéril y se mezcló adecuadamente. Este proceso se repitió hasta obtener una dilución apropiada, en la que se pudo hacer el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). (30)

Posteriormente se añadió 0,1 ml a una placa de agar recuento, extendiéndolo en la superficie de la misma con asas de hockey. Se dejó reposar por 10 minutos. Las placas se incubaron a 35 grados - 37 durante 24 horas o el tiempo que necesite el microorganismo, allí se obtuvo crecimiento de colonias aisladas procedentes cada una de una única célula, y se realizó el recuento de las colonias que se desarrollaron. Debido a razones estadísticas, las placas debían contener entre 30 y 300 colonias. Se procedió al registro del promedio de número de unidades formadoras de colonias (UFC) por ml. (30)

Las "Unidades Formadoras de Colonias" (UFC) se midieron en UFC/mL (UFC por Mililitro). Se realizó el conteo de colonias para este recuento se empleó un contador de colonias electrónico el cual tenía pantalla iluminada, una lupa, la caja petri se ajustó en una plataforma y se iluminó por debajo y de esta manera se inició el conteo de UFC con un marcador.

6. Análisis Estadístico

6.1 Análisis Univariado. Para verificar la normalidad de los recuentos se aplicó la prueba de ShapiroWilk. Los recuentos de UFC/mL no presentaron distribución normal por lo que se efectuó transformación logarítmica, sin que se obtuviera un patrón de normalidad en las mediciones. Por tanto se aplicaron pruebas no paramétricas para el análisis de los datos. Se presentan los datos de, mediana y rango de la variable cuantitativa (UFC/ml).

6.2 Análisis Bivariado Se empleó la prueba de Kruskal Wallis para determinar si existían diferencias entre los recuentos de las limas sometidas a las diferentes sustancias. Para demostrar las diferencias antes y después del tratamiento con las sustancias, se usó la prueba de Wilcoxon para datos pareados. Se determinó la eficacia con la fórmula que se menciona a continuación, la Reducción Absoluta del Riesgo (RAR) y el Número Necesario a Tratar (NNT):

Eficacia: ((Total de Unidades Formadoras de Colonias/mL (UFC/mL) después de ser sometidas a las sustancias) / (Total de unidades tratadas con el medicamento)) *100.

RAR: Es el porcentaje en el que el tratamiento aplicado reducirá la probabilidad de que aparezca el evento.

Formula:

$RAR = R_{ne} - R_e$

R_{ne} = Riesgos no expuestos.

R_e = Riesgos en expuestos.

Cálculo del Riesgo:

1. En expuestos: (presencia del evento en el grupo expuesto/total de eventos) *100

1. En no expuestos: (presencia del evento en el grupo no expuesto/Total de eventos)*100

NNT: Es la eficiencia del tratamiento. Entendida como el número de limas que deben ser tratadas para reducir completamente el *Bacillus staerothermophilus*.

Formula:

$NNT = 1 / RAR$

7. Consideraciones éticas

En este estudio no se realizó intervención sobre personas, fue un estudio *in vitro* en el laboratorio de microbiología sobre limas rotatorias Wave One de la marca denstply.

Según la resolución N° 008430 de 1.993 “por lo cual se estableció las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud”. Este estudio se clasificó como “investigación sin riesgo”, son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivo y aquellos en los que no se realizó ninguna intervención o medicación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, psicológicas o sociales de los individuos.

8. Resultados

En el presente trabajo se incluyeron 79 limas que fueron inicialmente contaminadas con *Bacillus stercorophilus*; de ellas 43 fueron tomadas como control de contaminación y 36 tratadas con diversas sustancias que hacen parte de un protocolo de limpieza y desinfección de instrumental odontológico. Estas últimas limas fueron distribuidas aleatoriamente así: 12 tratadas con Jabón

enzimático por 15 minutos, 12 con glutaraldehído por 16 horas y 12 con el protocolo completo jabón enzimático más glutaraldehído en los periodos de tiempo recomendados. Las limas control fueron contaminadas y sometidas a solución salina al mismo tiempo que se trataban las otras limas con el fin de determinar la reducción de la carga microbiana en cada grupo, la eficacia del tratamiento y para validar cada uno de los ensayos realizados.

Para el análisis de los recuentos de UFC/ml de *B. Stereothermophilus* en las limas, se procedió a establecer el comportamiento de esta variable como normal o no normal. Para determinar la distribución de los recuentos se aplicó por grupos de tratamiento el test de Shapiro-Wilk, considerando que valores de $p < 0.05$, estadísticamente significativos indicaban distribución no normal. Los valores de p para los recuentos fueron de 0,000 en todos los grupos de datos, por consiguiente se determinó la distribución no normal y el uso de pruebas no paramétricas.

En la TABLA 5 se describen las medianas y rangos para los recuentos de *B. Stereothermophilus* en los grupos de estudio antes y después de la aplicación de cada uno de las sustancias. Se observa que la mediana de las UFC pre- tratamiento para los tres grupos de estudios fue similar; mientras que para el recuento post tratamiento evidenció dos grupos con valores de cero. Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas, se aplicó el test de Kruskal-Wallis; a través de esta prueba se evidenció que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos antes de recibir la instrumentación ($p=0,351$); pero si post-tratamiento ($p=0,001$).

Tabla 6 Recuento de *B. staerothermophilus* en las limas antes y después del tratamiento con soluciones de limpieza y desinfección.

Grupo	UFC/lima*					
	n	Pre- tratamiento **		n	Post- tratamiento ***	
		Med	Rango		Med	Rango
Jabón enzimático	12	2400	50-11600	12	2,5	0-150
Glutaraldehído	12	4525	950-9600	12	0	0
Protocolo (JE+Glut)	12	1742,5	250-14700	12	0	0
Control	7	4800	60-8300	NA	NA	NA

Nota: *UFC/lima: Unidades Formadoras de Colonias/ lima contaminada; ** $p = 0,351$ *** $p = 0,001$. NA: No aplica.

Con el fin de establecer las diferencias entre los recuentos pre y post para cada uno de los grupos, se realizó una prueba de Willcoxon para datos pareados. Se demostró que los recuentos pre y post en cada grupo son diferentes estadísticamente. También, se determinaron las diferencias entre los recuentos post-tratamiento con el control a través de una prueba de U-Mann Whitney sugiriendo

la disminución significativa de la carga microbiana con el empleo de las diversas sustancias (ver TABLA 6)

Tabla 7 Valores de P, para las comparaciones pareadas entre los grupos de estudio.

Grupo	Valor de P	
	Pre vs post*	Post vs control**
Jabón Enzimático	0,02	0,001
Glutaraldehído	0,00	0,001
Protocolo (JE+Glut)	0,00	0,001
*valor de p: a través de test de Willcoxon; ** Valor de p a través de test de U-Mann whitney.		

Se determinó el porcentaje de reducción por grupo de estudio, este se calculó a partir de las medianas pre y post; así como a partir del grupo control. Se evidenció que las sustancias aplicadas reducen para la limpieza y desinfección de las limas la carga microbiana hasta 100%; siendo el jabón enzimático el de menor reducción con 99,89%.

Tabla 8 Porcentaje de reducción de la carga microbiana en los grupos de estudio.

Grupo	Porcentaje de Reducción	
	Pre - post	Control- Post
Jabón Enzimático	99,89	99,9
Glutaraldehído	100	100
Protocolo (JE+Glut)	100	100
JE: Jabón Enzimático; Glut: Glutaraldehído.		

La eficacia después de tratar las limas contaminadas con dos sustancias jabón enzimático y glutaraldehído, la mezcla de ellas como protocolo y el control se muestra en la tabla 8, en la que se evidenció que tanto el glutaraldehído por 16 horas, como el protocolo JE+Glut tienen eficacia de 100% en la eliminación de microorganismos contables por el método empleado en este trabajo. También, se determinó la Reducción Absoluta del Riesgo (RAR) entendida como el porcentaje en que la sustancia o protocolo aplicado reducirá la probabilidad de que permanezcan *B. staerothermophilus* en las limas, jabón enzimático fue de 50% y de 100% para glutaraldehído y el protocolo que combina a los dos. La eficiencia de las sustancias se evaluó con el número necesario a tratar (NNT), revelando que por cada lima contaminada que se somete al protocolo se

obtiene una lima libre de microorganismos; mientras que para el jabón enzimático se requiere tratar dos limas (TABLA 8).

Tabla 9 *Eficacia de las sustancias y protocolos utilizados en el estudio*

Grupo	Limas contaminadas luego del tratamiento		% de Eficacia	%RAR	NNT
	si	No			
Jabón Enzimático	6	6	50	50	2
Glutaraldehido	0	12	100	100	1
Protocolo (JE+Glut)	0	12	100	100	1
Control	12	0	0	0	-
Nota: * RAR: reducción absoluta del riesgo NNT: número de dientes necesario a tratar					

9. Discusión

Las limas rotatorias de uso endodóntico se han convertido en uno de los instrumentos mas importante para esta especialidad, estos elementos que han ido avanzando de generación en generación y le han proporcionado al especialista una mejor conformación y limpieza del conducto radicular (1), estas limas puede albergar diversos tipos de microorganismos y residuos biológicos que pueden adherirse a las estrías del instrumento debido a su diseño y al material que se utiliza para la fabricación de estas (2,31), la endodoncia se caracteriza por ser una especialidad que abarca ciertos parámetros que hacen que los procedimientos que en ella se realizan sean exitosos o por lo contrario se consideren un fracaso, dentro de estos elementos podemos destacar como los más importantes la limpieza, la desinfección y la esterilización procesos que juegan un papel importante en cada uno de los procedimientos que se realicen pues estos pueden evitar una contaminación cruzada que pueda poner en riesgo la salud(34), la integridad de nuestros pacientes y nuestros tratamientos debido a que el tratamiento endodontico por estar en contacto directo con saliva, sangre y tejido pulpar contaminado (33). Para la practica endodóntica existen diversos tipos de sistemas rotatorios que nos proporcionan las distintas casas comerciales las cuales recomiendan que cada uno de ellos debe ser de uso único debido a los cambios que estos pueden presentar en el material con el cual están fabricados, estos cambios se pueden dar después de los procesos repetitivos de conformación de los conductos radiculares con morfologías complejas y de los procesos que en ellos se ejercen para la esterilización (27). Actualmente estos instrumentos en el mercado tienen un alto costo lo cual se considera uno de los motivos mas influyentes que conlleva a que estos sistemas rotatorios deban reutilizarse en la práctica clínica, en Colombia no existe un documento o protocolo establecido por el departamento de salud que indique el re-uso o proceso de esterilización de este instrumento, es por esto que cada profesional sigue las pautas planteadas por el fabricante o sigue sus propios protocolos de limpieza, desinfección y esterilización de sus instrumentos que ya se han fijado en su consultorio y en su practica clínica. Existe variedad de sistemas y soluciones en el mercado que nos facilitan estos procesos dentro de los cuales podemos encontrar autoclave, perlas de vidrio, calor seco y sustancias como jabón enzimático la cual se considera una sustancia desinfectante que contribuye

en el proceso de limpieza (1), también son de uso relevante sustancias como el glutaraldehído que puede utilizarse como un agente químico para los procesos de desinfección y esterilización de los instrumentos de uso odontológico variando el tiempo de exposición (2). Diversos estudios han demostrado que existen además del autoclave y calor húmedo otros métodos que pueden implementarse para eliminar la carga bacteriana que se encuentra presente en la superficie de estos instrumentos, dentro de estos métodos podemos encontrar la esterilización en frío la cual se realiza con sustancias químicas dentro de las cuales se encuentra el glutaraldehído, este tipo de sustancia puede utilizarse sola o puede combinarse con una sustancia desinfectante que contribuya a mejorar el potencial de acción de esta, dentro de las cuales podemos encontrar el jabón enzimático el cual puede contribuir a eliminar el material orgánico presente (9). Teniendo en cuenta todo lo mencionado anteriormente y teniendo claro la importancia de los procesos de limpieza, desinfección y esterilización en endodoncia quisimos realizar un estudio que contribuyera y pudiera brindar una opción diferente y eficaz en cuanto a métodos de esterilización de instrumentos rotatorios utilizando sustancias químicas para esterilización en frío siguiendo una serie de protocolos y tiempos establecidos durante el estudio en el laboratorio basados y guiados por la literatura anteriormente estudiada.

En este estudio el jabón enzimático demostró ser una sustancia que podía remover gran parte de la carga bacteriana (50%) esto se atribuye a su capacidad para eliminar material orgánico y a los procesos que se llevaron a cabo durante el estudio en el laboratorio los cuales consistieron en dejar las limas en solución salina después de ser llevadas al jabón enzimático, estos tubos con 5ml de solución salina asemejaron la corriente de agua donde se realiza el lavado posterior a su inmersión en la sustancia desinfectante después de estos los tubos fueron agitados en un vortex donde se asemeja el cepillado del instrumental durante el proceso de desinfección de estos instrumentos pudiendo de esta manera concluir que al someter el tubo de ensayo que contenía la lima a un proceso de agitación o movimiento similar al que se realiza durante el lavado manual del instrumento ayudo a que una parte la carga bacteriana adherida a la lima pudiera desprenderse durante este proceso como se indica en el artículo de Elizabeth Chávez donde usaron un proceso similar al de nuestro estudio(3, 33). Un estudio de Archie Morrison evaluó diferentes métodos de esterilización siguiendo los protocolos empleados en cada consultorio dental donde se realizó el estudio y buscaban verificar si las técnicas utilizadas eran eficaces, en este estudio utilizaron un agente desinfectante llamado enzymax utilizado en un medio ultrasónico, en el cual evaluaron fresas de uso odontológico y limas manuales de uso endodóntico, el estudio incluyó tanto fresas y limas nuevas como usadas, a las limas y fresas que estaban nuevas se les realizó un estudio para verificar si estas venían estériles como lo dice el fabricante comprobando que estos no venían estériles como lo decía la casa comercial, las limas que ya venían usadas recibieron un proceso de pre-limpieza antes de la esterilización el cual consistía en lavarse y cepillarse antes de llevarlas a los ciclos a los que iban a ser sometidas, este estudio concluye que las limas nuevas que fueron contaminadas, desinfectadas pero no se llevó a cabo el proceso de cepillado manual y luego fueron esterilizadas en calor seco mostraron un 58% de contaminación evidenciando de esta manera que el proceso realizado no fue totalmente eficiente aun así siendo utilizado un método de esterilización física, a comparación de este nuestro estudio en el cual se pudo observar que aunque solo se usó un medio químico como el jabón enzimático la carga bacteriana se logró eliminar significativamente realizando una agitación previa similar al cepillado manual mostrando de esta manera que es de suma importancia realizar un cepillado previo para lograra

de esta desprender el material orgánico y microorganismos presentes en las estrías de las limas arquitectura que hace mas compleja su limpieza.

El glutaraldehído a las 16 horas utilizando una de las cepas más resistentes (***Bacillus stearothermophilus***) la cual es indicador para verificar los procesos de esterilización demostró tener una eficacia significativa logrando la eliminación del 100% de la carga bacteriana y mostrando una eficacia total del 100% durante el proceso de esterilización en este estudio, esto puede atribuirse a los métodos y procesos implementados durante el estudio entre los cuales podemos mencionar, 1.se sumergían las limas en solución salina y se agitaban en un vortex luego de ser contaminadas para asemejar el proceso de lavado y cepillado, 2.se dejaron las limas selladas en un tubo de ensayo el cual contenía la sustancia durante el tiempo indicado, 3. Los tubos fueron cubiertos con papel aluminio para evitar la exposición a la luz, luego de todos estos procesos se pudo observar que hubo una reducción total de la carga bacteriana presente en las limas rotatorias utilizadas para este estudio, demostrando de esta manera que el glutaraldehído siguiendo los pasos y el protocolo indicado puede comportarse como una excelente sustancia para un proceso de esterilización en frío, diversos estudios han evaluado la eficacia de esta sustancia en diferentes tiempos y han evaluado si este es lo suficientemente efectivo en la remoción de distintos tipos de microorganismos siguiendo un protocolo establecido como es el caso del estudio de TBVG Raju en el cual evaluaron distintos métodos de esterilización como el autoclave y los laser como métodos físicos y además de estos estudiaron también como método químico el glutaraldehído dejando las limas sumergidas en un recipiente estéril durante 12 horas pudiendo obtener como resultado importante que en ese tiempo el glutaraldehído si alcanzo a reducir un 80% de la carga bacteriana pero no lo logro en su totalidad por lo que se puede concluir que el tiempo establecido en este estudio no fue el suficiente para lograr una eliminación total, un estudio realizado por Ramesh Giriappa en donde se utilizo tiempo, sustancia, procesos y la misma cepa (***Bacillus Stearothermophilus***), el estudio de Raju mostro en sus resultados que el glutaraldehído a las 12 horas en ese estudio solo alcanzo la reducción de un 75% de la carga bacteriana presente en las limas estudiadas, como se menciono anteriormente los procesos pudieron no ser lo suficientemente eficiente para lograr el potencial total de la sustancia, demostrándonos así con estos dos estudios y en comparación con el realizado que el tiempo utilizado de 16 horas y el protocolo llevado a cabo mejoro las condiciones que llevo a que se consiguiera la reducción total de la bacteriana y esterilización de las limas estudiadas.

Este estudio conto con un método en el cual se buscaba adicionar un paso al proceso el cual consistió en dejar primero las limas en jabón enzimático durante 15 minutos, luego estas fueron llevadas a un tubo con solución salina y agitadas en un vortex para asemejar el proceso de lavado y cepillado, después de este procesos inicial las limas fueron llevas a los tubos de ensayo que contenían la sustancia glutaraldehído y dejadas durante 16 horas debidamente selladas y cubiertas con papel aluminio para evitar la exposición a la luz, todo estos procesos se hicieron con las medidas de esterilización y precisión de tiempos como esta indicado en el procedimiento, luego de hacer estos procesos y evaluar el conteo respectivo de microorganismos pudimos concluir que la combinación de estas sustancias llevo a que produjera una reducción total de la carga bacteriana presente en las limas dándonos el conteo de microorganismos en 0 produciendo una esterilidad total 100% de las limas procesadas.

Este estudio se puede considerar de gran ayuda tanto para odontólogos como especialistas en endodoncia pues nos da una opción diferente para realizar procesos de esterilización de

instrumentos de uso endodóntico como lo son las limas rotatorias, ya que a partir de cómo se realicen estos procesos va a depender en gran parte el éxito o fracaso de nuestros tratamientos y el tiempo de durabilidad del instrumento, este estudio nos brinda un método de esterilización fácil y efectivo si se siguen los pasos y tiempos indicados, la esterilización en frío también puede llegar a considerar un método eficaz y aunque denote mas tiempo para poder realizar su acción podemos afirmar que este puede cumplir con los parámetros adecuados y puede ser confiable a la hora de usar instrumentos sumergidos en estas sustancias. Podemos encontrar como desventajas que aunque se uso la cepa mas resistente en procesos de esterilización no se pudo lograr tomar limas que estuviesen directamente contaminadas con microorganismos presentes en el conducto radicular y lograr de esta manera recrear un ambiente mas real de lo que pudiese suceder al usar limas que se han usado después de la instrumentación; otra desventajas que podemos considerar en este estudio es el tiempo en el que la sustancia puede llegar a causar el mayor efecto (esterilización) pues esto puede retardar los procesos en un consultorio, no se han encontrado evidencias bibliográficas que sean similares a este estudio realizando un proceso de esterilización utilizando el jabón enzimático y luego dejar sumergidas las limas en glutaraldehído para observar si este proceso aumenta el potencial de las sustancias llevando a un proceso de esterilización ya que las evidencias bibliográficas obtenidas dentro de sus protocolos evalúan la eficacia por separado de cada sustancia.

10. Conclusiones

1. Con este trabajo podemos concluir que el uso de sustancias químicas estudiadas en el proceso de esterilización de las limas rotatorias wave one primary fue eficaz, dando como resultados que el glutaraldehído usado como sustancia individual fue capaz de reducir la totalidad de la carga bacteriana, pero al ser combinado con el jabón enzimático (agente desinfectante) mejora su eficacia y se garantiza un mejor proceso de desinfección y esterilización.
2. Podemos concluir que el tiempo establecido 16 horas para la sustancia glutaraldehído fue eficaz en el proceso de esterilización reduciéndose en este tiempo la totalidad de la carga microbiana presente en las limas rotatorias wave one primary estudiadas.
3. Este estudio demostró que aunque el jabón enzimático puede reducir el 99.89% de la carga bacteriana presente en las limas solo puede lograr una esterilización del 50%.

11. Recomendaciones

- Para garantizar la eficacia de las sustancias químicas (combinadas) como agente esterilizante se recomienda seguir el protocolo y los pasos indicados en este trabajo.
- Realizar un estudio *In vivo* donde se evalué la eficacia de estas sustancias químicas como agentes esterilizantes después de la instrumentación del conducto radicular
- Aunque el Glutaraldehído al 2% sin ser combinado con otra sustancia demostró ser eficaz en el proceso de esterilización de las limas se recomienda realizar una desinfección previa con sustancias como el jabón enzimático (alkazyme).

Referencias Bibliograficas

1. TBVG R, Satish G, Rupika A, Sridhara R, Ankur R, Kishore K. Sterilizing endodontic files by four different sterilization methods to prevent cross-infection- An *In- vitro* Study. Journal of international oral health.2013; 5(6): 108-12.
2. Ramesh G, Preeti K, Veerendra M, Bhavana G, Priyanca S, Neetika S. Comparative evaluation of the efficacy of two methods of sterilization for rotary nickel-titanium files: An *In Vitro* Study. World journal of dentistry. 2011; 2(3): 193-199.
3. Morrison A, Conrad S. Dental burs and endodontic files: are routine sterilization procedures effective?. JCD. 2009; 75(1): 39-39d.
4. Madhuri M, Nazeer Ahmed M, Omer Sheriff, Vijay C, Sterilization protocol for Orthodontic and Endodontic instruments. Indian journal of multidisciplinary dentistry, vol 1, ISSUE 3, March-April 2011.
5. D. Viana, B.M Gonzalez, Vtl Buono, A.Bahia. influence of esterilization on mechanical properties and fatigue resistance of nickel- titanium rotary endodontic instruments. International endodontic journal, 39, 709-715, 2006.
6. John I. Ingle, Leif K.Bakland, Endodoncia, 5ª ed. Mexico: Mcgraw-Hill Interamericana 2003.
7. Enrique Basrani, María Teresa Cañete, Ana Julia Blank. Endodoncia integrada. Buenos Aires Argentina, primera edición 1999. Copyright de actualidades médico odontológicas Latinoamérica, C.A.
8. Dispositivos médicos para uso humano,Decreto 4725; 2005; Ministerio de protección social;Republica de Colombia.
9. Otero J, Otero J. Manual de bioseguridad en odontología. Lima Perú. 2002..
- 10.Organización colegial de dentistas de España.Guía de seguridad microbiológica en odontología. Junio 2009.
11. Manual de bioseguridad y esterilizacionfacultad de odontologia.Universidad Nacional de colombia,sistema de gestión de calidad en salud.2012;2-91.
- 12.Protocolo de limpieza,desinfección y esterilización en el servicio de odontología.universidad industrial de Santander, proceso bienestar estudiantil,subproceso atención en salud.2008;1-10
13. Manual de esterilización en odontología
14. Acosta S, Andrade V.Manual de esterilización para centros de salud, organizacion panamericana de la salud; Biblioteca OPS, catalogacion en la fuente; 2008.
15. Alcaldía mayor de Bogotá. Guía de práctica clínica en salud oral. 2010

16. Mendiola Carlos, Fernandez Yenny. Evolucion de los sistemas rotatorios en endodoncia: propiedades y diseño. Rev Estomatol Herediana. 2011. V 21(1) p. 51-54.
17. Schilder 1974. Cap. 9. Preparación del conducto radicular: limpieza y conformación. Endodoncia ©2013. Editorial Médica Panamericana en técnicas y fundamentos. P. 154-203.
18. Leonardo M, Leornado R. Sistemas rotatorios en endodoncia. Sau Paulo, artes médicas.2002.
19. S.A Thompson. An overview of nickel-titanium alloys used in dentistry, International endodontic journal. 2000. 33,Pag 297-310.
20. Ghassan Yared. Preparación del conducto con un solo instrumento recíproco sin limado manual previo:Un nuevo concepto. 2010.
21. Clifford J. Ruddle. Endodontic Canal Preparation Wave One Single-File Technique Dentistry Today January 2012.
22. Webber J, Machtou P, Pertot W, Kuttler S, Ruddle C, West J. The WaveOne single-file reciprocating system Authors. Roots. 2011. Pag(28-33).
23. Tatiana Aguilar Heredia. "Aspectos Microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica Persistente". Carlos bóveda invitado # 41 (agosto 2004).
24. F. Sirvent Encinas, E. García Barbero. Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. ENDODONCIA • Volumen 28 • Numero 4 • Octubre-Diciembre 2010.
25. Alberto Antonio Olarte Alzamora. MICROBIOLOGÍA ENDODÓNTICA. Revista de la Facultad de Ciencias de Salud. DUAZARY, 1er SEMESTRE DE 2004, N° 1.
26. Alvarado-Cárdenas G, Hernández-Solís SE, Rueda-Gordillo F, Aguilar-Orozco N. Identificación molecular de *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares necróticos de dientes con periodontitis apical crónica. Revista odontológica latinoamericana (2011) Vol. 3, Núm. 1,pag 7-10.
27. G. Alexandrou, K Chrissafis, L Vasiliadis. Effect sterilization on surface characteristics and microestructure of mani NRT rotary nickel-titanium instruments. international endodontic journal. 2006; (39): 770-778.
28. Raben bilogical laboratorios. Información general sobre indicadores biológicos.
29. MCD LAB, S.A. de C.V. Especificaciones Agar para métodos estándar.
30. Liebana J. MICROBIOLOGIA ORAL. 2 EDICIÓN/2002. Editorial Mcgraw-hill: 77-89

31. De la Rosa M, Prieto J. Microbiología en Ciencias de la Salud: Conceptos y Aplicaciones 2ª ed. Madrid, España: Elsevier 1997.
32. Sood K, Mohan B, Laskshiminarayanan L. Effect of cleaning and sterilization procedures on niti rotary files – an sem and eds study. Saveetha Institute of Medical and Technical Sciences. P. 34-41.
33. Elizabeth C, Fermín, Est, Nicolle Marie D, Scarlet A, Lorenley J. Evaluacion de la eficacia de la esterilización del instrumental odontológico en la clínica de odontología de UNIBE. Revista Nacional de odontología, volumen 9, número 17. Julio-diciembre 2013.
34. Galvão de sousa Simone, Monteiro Clovis. importance and methods of cleaning endodontic files. Rev. FOB. Jul/ Dez 1999. V.7, n. (3/4), p.59-62

Apéndices

Apéndice A (Ver en formato digital)