



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO SOBRE PROCEDIMIENTOS PARA LA  
ESTERILIZACION DE PUNTAS ABRASIVAS DE CAUCHO DESPUÉS  
DEL PULIDO DE UNA RESTAURACIÓN

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos  
para optar por el título de Odontóloga

Profesora Guía

Dra. María Lupe Poussin Pascual

Autora

Paola Alexandra Chafía Guerrero

Año

2015

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

---

Dra. María Lupe Poussin Pascual  
Especialista en Rehabilitación Oral  
C.I.: 172319389-0

### **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE**

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

-----  
Paola Alexandra Chafra Guerrero  
C.I.: 0603788670

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero dar gracias a Dios ya que siempre me ha bendecido y me ha guiado a tomar las mejores decisiones.

A mi profesora y tutora la Dra. Lupe Poussin quien ha estado en los momentos difíciles en la elaboración de este proyecto y con su paciencia ha sabido encaminarme de la mejor manera al éxito ahora logrado.

Y un especial agradecimiento a la Dra. Sara Cifuentes que con sus conocimientos me ha permitido hacer realidad este trabajo de tesis que es reflejo de su constancia y sacrificio para mi superación personal y profesional.

## **DEDICATORIA**

Dedico a mi madre que gracias a su esfuerzo y amor me ayudó a cumplir hoy mi sueño, gracias por ser mi mentora, mi ejemplo, mi mejor amiga, por haber dejado todo atrás y darnos una vida mejor.

A mi hermana que es mi pilar, mi consejera y compañera en todos los caminos que hemos tomado y que aún nos falta por recorrer.

Es gratificante dedicar este trabajo a mis abuelitos queridos que con su ejemplo de vida me enseñaron a ser una mujer de bien, mil gracias por su apoyo y su amor incondicional.

A mi mejor amiga que a lo largo de mi vida estudiantil y personal ha estado siempre junto a mí.

## RESUMEN

La esterilización y desinfección de las puntas de caucho abrasivas es un factor clave para evitar la transmisión de microorganismos patógenos a personas susceptibles. Dado que la disponibilidad de equipos de calor húmedo no siempre es accesible en zonas rurales, el uso de métodos químicos de esterilización y desinfección se vuelve una buena alternativa para el manejo de instrumental semicrítico. Por lo tanto, este estudio buscó determinar el método químico de desinfección más eficaz para las puntas de caucho abrasivas contaminadas con *Streptococcus mutans*. El estudio se llevó a cabo contaminando 22 puntas (por ensayo y por duplicado) de caucho abrasivas estériles con *Streptococcus mutans*, en 5 ensayos (110 puntas en total y reutilizadas), que pulieron cubos de resina estériles con un micromotor colgante. Posteriormente, las puntas fueron sumergidas en tres tratamientos, hipoclorito de sodio (0.25%, 0.50%, 0.75%), glutaraldehído (1%, 2%, 3%) y peróxido de hidrógeno (3%, 6%, 9%), a 10, 20 y 30 minutos respectivamente. La recuperación bacteriana a partir de las puntas de caucho se realizó sumergiéndolas en caldo BHI a 37°C por 18-24 h y posteriormente se cultivó en medio selectivo TYS20B. El control positivo fue el uso de calor húmedo (autoclave) según las recomendaciones de fabricante y el control negativo fue la inmersión en agua destilada por 30 minutos.

Los resultados evidenciaron que tanto el glutaraldehído, como el peróxido de hidrógeno fueron igualmente eficaces en la erradicación del *S. mutans* de las puntas de caucho abrasivas. Sin embargo, la eficacia del hipoclorito de sodio al 0.75% mostró una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.0002$ ) con los otros dos métodos químicos y con el control positivo. Buscando confirmar los hallazgos previos, tres ensayos adicionales se desarrollaron solo con hipoclorito de sodio evidenciando nuevamente que éste tratamiento fue estadísticamente menos eficaz ( $p=0.0470$ ) que el control positivo. En conclusión, el glutaraldehído a la dosis recomendada del 2% por 20 minutos, y el peróxido de hidrogeno al 6% por 30 minutos, son desinfectantes eficaces en la erradicación de *S. mutans*.

## ABSTRACT

Sterilization and disinfection abrasive rubber tips are a key factor to prevent transmission of pathogenic microorganisms to susceptible people. As the availability of moist heat equipment is not always available in rural areas, the use of chemical methods of sterilization and disinfection becomes a good alternative for handling semi-critical instruments. Therefore, this study sought to determine the most effective disinfection chemical method for contaminated abrasive rubber tips with *Streptococcus mutans*. The study was conducted by contaminating 22 tips (per event and duplicate) sterile rubber abrasive with *Streptococcus mutans* in five events (110 tips in total and reused) which polished resin hubs with a sterile pendant micromotor. Subsequently, the tips were immersed in three different treatments, sodium hypochlorite (0.25%, 0.50%, 0.75%), glutaraldehyde (1%, 2%, 3%) and hydrogen peroxide (3%, 6%, 9%), for 10, 20 and 30 minutes respectively. The bacterial recovery from rubber tips was carried out by dipping them in BHI broth at 37 ° C for 18-24 h and then cultured on selective TYS20B medium. The positive control was the use of moist heat (autoclave) according to manufacturer's recommendations and the negative control was immersion in distilled water for 30 minutes.

The results showed that both glutaraldehyde as hydrogen peroxide were equally effective in eliminating *S. mutans* from abrasive rubber tips. However, the effectiveness of sodium hypochlorite at 0.75% showed a statistically significant difference ( $p = 0.0002$ ) with the other two chemical methods and the positive control. Looking to confirm previous findings, three additional tests were developed only with sodium hypochlorite, showing again that this treatment was statistically less effective ( $p = 0.0470$ ) than the positive control. In conclusion, the glutaraldehyde with a 2% recommended dose for 20 minutes, and hydrogen peroxide at 6% for 30 minutes, are effective disinfectants in the eradication of *S. mutans*.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. ....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN. ....	3
2. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1 Caries.....	4
2.2 Microbiología de la caries en esmalte .....	4
2.3 Microbiota oral. ....	5
2.4 <i>Streptococcus mutans</i> .....	5
2.5 Propiedades.....	6
2.6 Métodos de esterilización.....	6
2.6.1 Concepto de esterilización.....	6
2.6.2 Esterilización mediante la estufa.....	7
2.6.3 Esterilización por la Autoclave. ....	8
2.6.4 Prelavado del instrumental previo a la esterilización. ....	8
2.6.5 Instrumental de esterilización. ....	8
2.6.5.1 Elementos críticos: .....	8
2.6.5.2 Elementos semicríticos.....	9
2.6.5.3 Elementos no críticos. ....	9
2.6.6 Concepto de desinfección.....	9
2.6.6.1 Desinfección de alto nivel. ....	10
2.6.6.2 Desinfección de nivel intermedio. ....	10
2.6.6.3 Desinfectantes de bajo nivel.....	10
2.6.7. Aislamiento de <i>Streptococcus mutans</i> TYS20B.....	12
2.6.7.1 Características del medio de cultivo TYS20B.....	13
2.6.7.2 Características del medio BHI. ....	13
2.6.8. Puntas de caucho .....	14
3. OBJETIVOS .....	16
3.1 Objetivo General.....	16



3.2 Objetivos Específicos.....	16
3.3 Hipótesis.....	16
3.3.1 Variables.....	16
3.3.1.1 Variable dependiente.....	16
3.3.1.2 Variables independientes.....	17
3.4 Operacionalización de las variables.....	17
4. METODOLOGÍA.....	18
4.1 Tipo de estudio.....	18
4.2 Materiales y Métodos.....	19
4.2.1 Elaboración de bloques de resina.....	19
4.2.2 Métodos de desinfección.....	19
4.2.3 Valoración de la eficacia de los métodos de desinfección.....	19
4.2.4 Ensayos adicionales con hipoclorito de sodio.....	20
4.2.5 Medios para el crecimiento bacteriano y bacteria utilizada.....	21
4.2.6 Técnica de pulido.....	22
4.2.7 Procedimientos experimentales.....	22
5. RESULTADOS.....	35
6. DISCUSION.....	42
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
7.1 CONCLUSIONES.....	45
7.2 RECOMENDACIONES.....	45
CRONOGRAMA.....	47
PRESUPUESTO.....	48
REFERENCIAS.....	49
ANEXOS.....	54

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características del Streptococcus mutans.....	6
Tabla 2. Características de los desinfectantes. ....	11
Tabla 3. Componentes y concentración del medio TTYS20B.....	12
Tabla 4. Componentes de las Puntas de caucho. ....	15
Tabla 5. Operacionalización de las variables. ....	17
Tabla 6. Distribución de los tratamientos y número de ensayos por duplicado.....	20
Tabla 7. Distribución de los tratamientos y número de ensayos por duplicado. ....	21
Tabla 8. Porcentajes de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con glutaraldehído. ....	35
Tabla 9. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas, tiempo de cultivo luego del empleo de peróxido de hidrógeno. ....	36
Tabla 10. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas, tiempo de cultivo luego del empleo de hipoclorito de sodio.....	37
Tabla 11. Porcentaje del Hipoclorito de sodio en el segundo ensayo.....	38
Tabla 12. Porcentaje de todos los métodos de desinfección. ....	39
Tabla 13. Cronograma de actividades. ....	47
Tabla 14. Materiales a utilizarse. ....	48
Tabla 15. Recursos de laboratorio.....	48
Tabla 16. Presupuesto General. ....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Elaboración de los bloques de resina Z100, B12 (3M) con la pasta pesada Speedex (Putty). .....	23
Figura 2. La preparación de los tratamiento desinfectantes. ....	24
Figura 3. Preparación de los medios de cultivo TYS20B. ....	24
Figura 4. Dilución y Autoclavado. ....	25
Figura 5. Agar TYS20B en la cámara de flujo laminar para su traspaso a las cajas Petri. ....	25
Figura 6. El medio BHI. Se mezcló más Agua destilada, colocándose en 22 vasos de 30 ml para ser llevados a la Autoclave. ....	26
Figura 7. Pasos para la recuperación bacteriana de Streptococcus mutans. ....	26
Figura 8. Colocación del material dentro de la cámara de flujo laminar. ....	27
Figura 9. Descripción de la ubicación del material. ....	27
Figura 10. Pasos del pulido de un cubo de resina. ....	28
Figura 11. Pasos del pulido de un cubo de resina. ....	29
Figura 12. Pasos del pulido de un cubo de resina. ....	30
Figura 13. Pasos del pulido de un cubo de resina. ....	30
Figura 14. Colocación en el medio BHI. ....	31
Figura 15. Los frascos de BHI con el tratamiento en la incubadora a 37°C. ....	31
Figura 16. Después de 24 horas. ....	32
Figura 17. Proceso de pasar 100ml con una pipeta al medio TYS20B. ....	32
Figura 18. Finalización del sembrado. ....	33
Figura 19. Después de 24 horas se abren los envases y con una hoja de control se anota si hay o no crecimiento. ....	33
Figura 20. El Streptococcus m. ....	34
Figura 21. Crecimiento de Streptococcus mutans en BHI a partir de las puntas de caucho contaminadas. ....	34
Figura 22. Porcentajes de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con glutaraldehído. ....	35
Figura 23. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con peróxido de hidrógeno. ....	36

Figura 24. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con hipoclorito de sodio.....	37
Figura 25. Comparación del Hipoclorito en sus diferentes porcentajes presentando presencia de Streptococcus mutans en las puntas de pulido a las 24 y 48 horas.....	38
Figura 26. Porcentaje de los métodos de desinfección comparando presencia y ausencia de contaminación con Streptococcus mutans después del pulido de una restauración a las 24 y 48 horas.....	40
Figura 27. Desde la izquierda (1) GI= Glutaraldehído mostrando ausencia de crecimiento, (2) C- :Agua destilada, observándose presencia de S. mutans, (3, 4, 5) Hipoclorito al 0.25%, %, 0,50% y 0,75%, presentando crecimiento respectivamente.....	41

## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN

#### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La caries es la enfermedad en salud oral más frecuente en todo el mundo. (Petersen, 2003, p.4-6) Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la prevalencia de caries alcanza del 60 al 90% en escolares y en la generalidad de adultos. La mayoría de países en América Latina tienen mayor incidencia de caries que países africanos. (CAPP, 2013-2014) En general, afecta a la población que vive en países en vías de desarrollo, con nivel socioeconómico bajo, en las zonas más desfavorecidas y con escaso acceso a los sistemas de salud. (Al-Allaq, et al, p. 1-7) La primera asociación de caries con un microorganismo fue en 1924, cuando J. Kilian Clarke aisló el *Streptococcus mutans* de una pieza cariada determinando que para su crecimiento debía estar en contacto con la saliva, por lo que se encontró en la superficie del esmalte, en las primeras etapas de la caries.(Clarke, 1924 , p. 141-147) No fue sino hasta los años 50's y 60's en que se confirmó que era el agente causal de la caries cuando se hizo estudios en animales de laboratorio, específicamente a varias ratas libres de gérmenes donde mostró como resultado la presencia de caries una vez expuestos a la bacteria mencionada, la transmisibilidad fue determinada cuando a un grupo de hámster sin caries se unió a un grupo con caries y el primero fue contagiado; la prueba adicional fue la dieta, determinando que los *Streptococcus mutans* colonizaron y crecieron solamente con la presencia de sacarosa (dieta rica en azúcar, dieta cariogénica), siendo responsable de caries en superficies lisas, fosas y fisuras y caries de raíz. (Marsh & Martin, 2011, págs. 106-107) Estas bacterias son capaces de crecer en medios con un pH bajo por largos periodos, son acidogénicas (productoras de ácido) y acidúricas (atracción del ácido). (Marsh & Martin, 2011, p. 48-50) Sin embargo, también dependerá del flujo de saliva (xerostomía, radioterapia, Síndrome de Sjögren), frecuencia de la colocación del flúor, la susceptibilidad

del paciente, pH y el déficit o mala técnica de higiene, esto en lo que se refiere a factores del huésped. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2014, p. 233)

El *Streptococcus mutans* es una bacteria que da inicio a numerosas enfermedades bucales y que la prevención es aún más difícil. Estudios clínicos en humanos y en animales observaron que la formación de la placa bacteriana es necesaria tanto en la caries como en la enfermedad periodontal y que la cantidad de *Streptococcus* más habituales son el *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans* quienes colonizan las superficies dentales y los implantes. La forma en la que esta bacteria actúa en la boca es adhiriéndose, colonizando el esmalte dental produciendo ácido láctico que desmineralizan la estructura dentaria, evolucionando en forma progresiva e irreversible y que por último terminarán produciendo una cavidad llamándola "Caries". (Rocha Gracia & et al, 2004, p. 129-133) Un estudio previo determinó que existe una mayor cantidad de *S. mutans* en la saliva de pacientes con una alta presencia de caries y una menor cantidad en pacientes sin caries. Si la misma no es tratada rápidamente llegará a ser colonizar más cantidad de esmalte y ayudará a la congregación de bacterias patógenas causa de otras enfermedades orales. (Giacaman & et al, 2014, p. 154-159)

El instrumental odontológico es una fuente de microorganismos para las infecciones cruzadas. Ahora también es responsabilidad del profesional de la salud bucal atender a los pacientes con las normas de asepsia y antisepsia para evitar el contagio de enfermedades cruzadas en la consulta clínica, como son la Hepatitis B, Hepatitis C, VIH y en nuestro caso ser los responsables del contagio de la bacteria capaz de producir caries; por este motivo es importante saber qué métodos se utilizan dependiendo del tipo de instrumental, si es crítico, semicrítico y no crítico. De igual manera cuál agente químico antimicrobiano es el apropiado, alto nivel, nivel intermedio y bajo nivel. Previamente se realizó un estudio con el que se determinó que la ausencia de esterilización/desinfección en el rendimiento del sistema de pulido se reduce, exigiéndose la limpieza del instrumental. (Heintze & Forjanic, 2008, p. 288-94)

Para terminar lo que se espera con este estudio la eliminación de los factores de riesgo la caries dental es imprescindible, sin embargo se deben conocer las limitaciones de cada centro odontológico sin descuidar las normas básicas de bioseguridad.

## **1.2. JUSTIFICACIÓN.**

El instrumental dental requiere de un manejo adecuado mediante desinfección y esterilización, dependiendo de lo que recomiende el fabricante, pero cuando se trata de esterilización, las recomendaciones habituales son el uso de la autoclave o estufa, y estos requieren de fuentes de energía eléctrica que muchas veces están incluso ausentes en ciertas áreas de nuestro país. Es por ello que tiene una marcada importancia conocer cuáles son los métodos que están al alcance y así resolver inconvenientes de bioseguridad. Generalmente cuando fallan estas condiciones, los desinfectantes son las únicas formas de manejo del instrumental odontológico, los cuales deben ser eficientes para la eliminación microbiana y que no sean de difíciles preparación. (Barrancos M.J, 2006, p. 231-233)

Las puntas de caucho son un material semicrítico que está en contacto con las mucosas del paciente y fluidos corporales como saliva y sangre, para lograr una desinfección eficiente libre de microorganismos se utilizarán agentes químicos de alto nivel como son el Glutaraldehído, el Peróxido de Oxígeno, y de mediano nivel como el Hipoclorito de Sodio que generalmente son de fácil manejo y de conseguir y se usan solamente en objetos inertes. Estos medios ayudan a inhibir o a eliminar los microorganismos que se encuentran en las superficies del instrumental. (Negroni, 2009, p. 596-603)

La mayoría del instrumental de odontología es reutilizable lo que aumenta el riesgo de contagiar con enfermedades a los pacientes, por lo que debemos incentivar a los doctores y concientizar del tiempo que debe ser reutilizado el instrumental ya que después de cierto tiempo este pierde sus propiedades y por ende la eficacia de su función y de su uso.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Caries

La caries es una enfermedad infecto-contagiosa que se define como la desmineralización del esmalte producto del ácido láctico del *Streptococcus mutans* a través de la fermentación microbiana de los carbohidratos de la dieta. Existen varias causas de la aparición de la caries. Diversos estudios se han hecho para determinar si existe una relación del *Streptococcus mutans* y la caries, y todos concluyen su presencia en el inicio y desarrollo de la misma. Sin embargo, dependerá de la forma del diente, de la edad, de la evolución de la enfermedad y por último, de las condiciones del huésped, siendo que los sitios más propensos a caries son las fosas y fisuras de los primeros y segundos molares y superficies proximales, más que en las superficies lisas de los incisivos mandibulares. De la misma forma la caries de esmalte es más incidente en los jóvenes y en los adultos es más común la caries de la raíz. Las primeras etapas pueden ser reversibles (mancha blanca), e irreversibles si es cavidad, pero no todas las manchas blancas llegan a caries, otras se remineralizan gracias al flúor. Algunos individuos dependiendo de su condición van a ser más susceptibles, como los pacientes con Xerostomía, debido al menor flujo de saliva, causado por numerosos factores, como la exposición a radioterapia en el tratamiento del cáncer (usualmente de cabeza y cuello), por enfermedades como el Síndrome de Sjögren o por uso de medicación. (Marsh & Martin, 2011, p. 106-107)

#### 2.2 Microbiología de la caries en esmalte

Un estudio longitudinal realizado por confirmó que en la placa extraída de fosas y fisuras se encontró *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* pero que el *Streptococcus mutans* era el responsable de las primeras etapas de la caries y que el *Lactobacillus* se encontraba cuando ya se necesitaba una restauración.



### 2.3 Microbiota oral.

La boca es una de las ecologías más complejas y heterogéneas, aerobias y anaerobias, patógenas y no patógenas de todo el cuerpo humano, de tal modo la presencia de dientes lo hacen aún más complejo. La ecología bucal puede verse afectada por la presencia de numerosas bacterias oportunistas. La colonización por medio de la adhesión bacteriana da como resultado la congregación microbiana que va incrementando en grupos o complejos bacterianos, modificando las características normales de la placa dentobacteriana. Se llama placa dentobacteriana, a la película que se adhiere a la superficie del esmalte constituida por microorganismos, sales minerales y saliva, denominándose biofilm para transformarse en sarro, tártaro o cálculo si no es eliminada de la superficie. (Murray P, 2009, p.18-19)

La patogenicidad de la caries, se debe a la presencia de un biofilm cariogénico, lleno de microorganismos siendo el más importante y la causa de la caries el *Streptococcus mutans* que gracias al suministro de azúcar, un huésped susceptible y al tiempo se desarrolla la misma. (Murray P, 2009, p. 20) El otro padecimiento del biofilm causado por la *Porphyromona gingivales*, *Actinomices spp.* *Lactobacillus spp.* son los microorganismos patógenos presentes en el periodonto que al sumarse a otros factores de riesgo pueden desarrollar una gingivitis o algún tipo de periodontitis. (Carranza F, 1998, p.78-79)

### 2.4 *Streptococcus mutans*

#### Descripción

Se los define como *mutans* debido a su capacidad de cambiar de forma de cocos a bastones o a cocos/ bacilos, se disponen en pares o en cadenas, son cocos Gram +, son anaerobios facultativos, catalasa negativa, incluso algunos para su crecimiento necesitan de dióxido de carbono en la atmósfera, son microaerófilos. Para su crecimiento y aislamiento requieren de medios de cultivo enriquecidos con sangre y también suero. Estas bacterias son capaces

de crecer en medios con un pH bajo por largos periodos, son acidogénicas (productoras de ácido) y acidúricas (atracción del ácido). (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2014, p. 188-189)

## 2.5 Propiedades

Transporte de azúcar: absorben el sustrato sin importar el medio del pH que se encuentre (pH bajo). Producción de ácido: produce rápidamente valores bajos del pH. Aciduridad: las células pueden vivir crecer y metabolizar sin importar el pH. Producción de polisacárido extracelular (PSE): se encuentra en la matriz de la placa y ayuda a la unión entre células. Producción de polisacárido intracelular (PSI): proporciona producción de ácido sin azúcar. (Marsh & Martin, 2011, p. 22-23).

Tabla 1. Características del Streptococcus mutans.

Streptococcus mutans	
Reino	Procaryotae
División	Firmicutes
Familia	Streptococcaceae
Género	Streptococcus mutans

Tomado de Marsh & Martin, 2011, p. 22-25

## 2.6 Métodos de esterilización.

### 2.6.1 Concepto de esterilización.

Es la muerte o erradicación de todas las formas de vida microbiana como son bacterias, virus, hongos y esporas. En este método pueden ser sometidos los materiales que se encuentran dentro del instrumental crítico. Existen dos métodos principales para la eliminación de los microorganismos: estos son los

medios físicos y agentes químicos. Dentro de los métodos de esterilización física, están el calor seco (estufas) y el calor húmedo (autoclave).

Los materiales odontológicos que no puedan ser sometidos a los métodos físicos de esterilizados por medio del calor, podrán ser desinfectados por medio de agentes químicos, dentro de estos, el glutaraldehído, peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio, etc. (Barrancos M. , 2009)

### **2.6.2 Esterilización mediante la estufa.**

La estufa es un método de esterilización por calor seco utilizado en la mayoría de los consultorios dentales, debido a que no es un equipo complicado de utilizar. El mismo es un horno con control termostático y un cronómetro. Se usa para esterilizar material de vidrio e instrumental que pueda soportar el calor, su desventaja es que puede oxidar el instrumental. Las recomendaciones del fabricante antes de la utilización son: revisar que esté a una temperatura determinada; que no exceda el tiempo de calentamiento del horno, clasificar los materiales que puedan esterilizarse así como la conductibilidad térmica del material, de igual forma el flujo aéreo y, el tiempo de enfriamiento después de el calentamiento. (Hupp J, 2009, p. 112-115)

Antes de la esterilización los instrumentos a utilizarse deben estar totalmente secos. La temperatura apta a esterilizar es de 160 °C por 60 minutos o también a 180 °C por 30 minutos; aunque a esta temperatura, se puede deformar el instrumental de acero provocando cambios en la forma. (Barrancos M. , 2009, p. 98-99)

La ventaja del calor seco son, la facilidad de su uso y la baja probabilidad de dañar el instrumental que son resistentes al calor. Las desventajas son, el tiempo que se necesita para esterilizar, los materiales que son sensibles al calor y, la necesidad de tener instrumental duplicado. (Hupp J, 2009, p. 33)

### **2.6.3 Esterilización por la Autoclave.**

El calor húmedo es más eficiente que el calor seco ya que a temperaturas inferiores, requiere menos tiempo. La autoclave es el método más eficaz y seguro que se puede utilizar, ya que cuando la temperatura llega a los 134 °C (30 libras de presión), éste necesita un tiempo aproximado de 30 minutos, pero esto dependerá, de las instrucciones del fabricante. (Hupp J, 2009, p. 33)

Otros autores recomiendan el uso de la autoclave a temperatura de 121°C por 20 minutos y otros, aconsejan 134 °C por 10 minutos.

El instrumental deberá estar limpio, seco y empaquetado en papel tipo estraza, tela de algodón, bolsa de nylon o celofán. (Barrancos J. et al. 2009, p. 50) Las ventajas son la eficacia, la velocidad y la disponibilidad del equipo de acuerdo al tamaño del consultorio. Las desventajas son, que el instrumental tiende a perder el filo, posible oxidación y un mayor costo. (Hupp J, 2009, p.35)

### **2.6.4 Prelavado del instrumental previo a la esterilización.**

Antes de la esterilización y después de la utilización del instrumental, tanto por la estufa como el autoclave, es necesaria la descontaminación mediante la utilización de sustancias desincrustantes para retirar los restos de sangre y de saliva presentes. Posteriormente se realiza el lavado con abundante agua y jabón. (Barrancos M. , 2009, p. 52)

### **2.6.5 Instrumental de esterilización.**

#### **2.6.5.1 Elementos críticos:**

Son los instrumentos que penetran los tejidos, sistema vascular y otras cavidades normalmente estériles, poniéndose en contacto con sangre y otros fluidos. Por lo tanto necesitan una desinfección de alto nivel y esterilización.

Entre el instrumental crítico odontológico están las agujas, fresas, fórceps, curetas, elevadores, tijeras, excavadores, sondas, exploradores, limas, etc.

#### **2.6.5.2 Elementos semicríticos.**

Son aquellos que están en contacto con la mucosa intacta y no penetran en el tejido, tampoco entran en contacto con la sangre. Por ejemplo, espejos, condensadores de amalgama, pinzas. Este material debe desinfectarse con una limpieza previa, siendo sumergidos posteriormente en glutaraldehído al 2% durante 20 minutos, hipoclorito de sodio y formaldehído.

#### **2.6.5.3 Elementos no críticos.**

No están en contacto ni con tejidos estériles ni con mucosas, en este grupo de materiales o dispositivos se puede utilizar desinfectantes de bajo nivel. Dentro de ellos están las superficies de trabajo, asas de lámparas y controles de sillón. (Barrancos M. , 2009, p.54)

#### **2.6.6 Concepto de desinfección.**

Es un proceso en el cual se utilizan agentes químicos antimicrobianos usados para destruir o inactivar la mayoría de microorganismos patógenos y no patógenos. Dentro de los métodos están: los esterilizantes químicos, desinfectantes y antisépticos. La eficacia de los mismos va a depender de las condiciones en las que se utilizarán, como la concentración, la cual varía de acuerdo al tipo de desinfectante y del microorganismo que se quiere tratar, ya que a una concentración menor de la recomendada el agente puede producir un efecto diferente en cada microorganismos. También es importante el tiempo de exposición al agente, motivo del cual los microorganismos pueden ser o no susceptibles, por lo que no todas las bacterias se eliminan al mismo tiempo. El pH del medio puede afectar tanto a los agentes desinfectantes como a los microorganismos, el incremento del pH mayor a 7 afecta la concentración del agente sobre la célula. Los objetos que se van a esterilizar deben ser

evaluados previamente para posteriormente determinar el nivel de esterilización necesario.

#### **2.6.6.1 Desinfección de alto nivel.**

Estos desinfectantes actúan eliminando todos los microorganismos tales como: microorganismos vegetativos, bacilos tuberculosos, hongos y virus, a excepción de las esporas. Empleados para el material que está en contacto directo con la sangre o fluidos. Según el tipo de producto el tiempo de exposición puede variar de 20 a 45 minutos, como el glutaraldehído 2%, peróxido de hidrógeno 6% y el formaldehído. (Rutala WA, 2004)

#### **2.6.6.2 Desinfección de nivel intermedio.**

Son sustancias que eliminan el *Mycobacterium tuberculosis*, la gran mayoría de virus y también de hongos. Es empleado en el instrumental que está en contacto con mucosas y los cuales han sido contaminados con sangre, saliva y fluidos corporales. Su aplicación es mediante un tiempo controlado de inmersión de 10 minutos. A este grupo pertenecen: el alcohol etílico (al 70%), hipoclorito de sodio a (0.50%), fenol y yodóforos.

#### **2.6.6.3 Desinfectantes de bajo nivel.**

Estos agentes desinfectantes no logran destruir esporas, bacilos tuberculosos ni los virus. Son eficientes en la eliminación de microorganismos vegetativos y hongos. Como ventajas encontramos que sirven como excelentes limpiadores de rutina. Su modo de uso es por frotación de 30 segundos a 2 minutos, como por ejemplo la clorhexidina que se utiliza como un detergente para material metálico.

Tabla 2. Características de los desinfectantes.

<b>Desinfectantes</b>	<b>Usos</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>Hipoclorito de Sodio</b>	<p>Nivel intermedio.</p> <p>Para la descontaminación del instrumental (0,5%, 1:10) durante 10 min.</p> <p>Usar diluciones recién preparadas, Almacenar en lugar fresco y obscuro.</p>	<p>Bajo costo.</p> <p>Baja toxicidad.</p> <p>Acción potente y rápida.</p> <p>Biodegradable</p>	<p>Corrosivo para metal.</p> <p>Estabilidad limitada.</p> <p>La materia orgánica limita su acción.</p> <p>Irrita piel y mucosas</p> <p>Uso en áreas ventiladas.</p>
<b>Peróxido de hidrógeno</b>	<p>Nivel bajo al 3% y al 6% y 10% alto nivel de actividad bactericida y virucida.</p> <p>Es útil en asepsia de heridas y elimina restos de tejidos y microorganismos al liberar oxígeno.</p>	<p>Bajo costo.</p> <p>No es toxico.</p> <p>Se descompone en agua y oxígeno.</p>	<p>Es corrosivo en aluminio, zinc y cobre.</p> <p>Destruye tejidos vivos.</p>
<b>Glutaraldehído</b>	<p>Alto nivel al 2%.</p> <p>Activo contra bacterias Gram- y Gram+, bacilos, hongos y virus. Son esporicidas pero si son a pH alcalino (7,5-8,5).</p> <p>Esteriliza en 6-10 horas.</p>	<p>No es corrosivo en el metal.</p> <p>Alto nivel microbiano.</p>	<p>Es tóxico e irritante en piel y mucosas.</p> <p>Su inhalación puede ser cancerígena.</p> <p>Su vida útil de 14 a 30 días.</p> <p>Alto costo.</p>

Tomado de Negroni, 2009, p. 116-119

### 2.6.7. Aislamiento de *Streptococcus mutans* TYS20B.

Para el aislamiento de *S. mutans* existen varios métodos como los medios de cultivo, identificación bioquímica, tipificación bactericida y técnicas moleculares, sin embargo algunos no se los considera adecuados ya que afectan el crecimiento, conteo y diferenciación (Saravia & et al, 2013, p. 311-316). Tradicionalmente la identificación bacteriana se ha realizado a través de los medios de cultivo basados en la morfología bacteriana como las colonias blancas grisáceas y circulares características del *Streptococcus mutans*, un estudio de Wan y colaboradores (2002) demostraron el mejor método de aislamiento de *S. mutans* mediante (MSB) *mitis salivarius* con bacitracina, (MSKB) *mitis salivarius* con bacitracina and karamicin, (GSTB) glucosa, sacarosa, tellurite y bacitracina (SB20M), pero el que ha demostrado un aislamiento eficaz es el medio TYS20B. En este medio como ingredientes bases para asegurar el crecimiento está la bacitracina y altas concentraciones de sacarosa. La bacitracina es un antibiótico que inhibe el crecimiento de otra bacteria. (Wan & et al, 2002, p. 21-26)

Tabla 3. Componentes y concentración del medio TTYS20B.

CONCENTRACIÓN/ %	COMPONENTES	EMPRESA
30g	Caldo de tripticasa soja	(Acumedia)
10g	Extracto de levadura	(Acumedia)
11g	Agar granulado	(BBL)
20% w/v	Sacarosa	(Analar)
0.2U/ml	Bacitracina	(Sigma)
Agua destilada	-	-

Tomado de Wan & et al, 2002, p. 21-26



### **2.6.7.1 Características del medio de cultivo TYS20B.**

El caldo de tripticasa soja (TSB) se utiliza para el cultivo de muchos microorganismos, se desarrolló para el crecimiento solo de sulfonamidas contra neumococos y luego se obtuvo crecimiento en medios anaerobios donde fue selectivo en el crecimiento de *Streptococcus*. Se usa solo en el laboratorio. El extracto de levadura es la porción soluble en agua de la levadura autolisada, es un estimulador de crecimiento bacteriano, su preparación se obtiene por el crecimiento de la levadura del pan y este extracto le da al medio de cultivo vitaminas, aminoácidos, nitrógeno y carbono al medio de cultivo. (Acumedia, 2010).

El Agar granulado es un agente de solidificación usado en la preparación de medios de cultivo. (Difco y BD, 2009). La sacarosa es la azúcar necesaria para el crecimiento de *S. mutans*. La Bacitracina es un antibiótico que inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana. El agua destilada está compuesta por una molécula de H<sub>2</sub>O, y que gracias a un proceso de destilación se eliminan las impurezas, la misma sirve para purificar el agua por lo que en el consumo humano es la mejor opción ya que no posee sustancias que son tóxicas para la salud como el cloro, pero al mismo tiempo no posee los minerales necesarios para el cuerpo, en los laboratorios se lo usa como reactivo químico, su desventaja es el costo del uso de la energía.

### **2.6.7.2 Características del medio BHI.**

Brain Heart Infusion (BHI), medio líquido de infusión de cerebro, algunos tejidos del corazón y peptonas que va a brindar proteínas y muchos nutrientes para el crecimiento de varios microorganismos, bacterias aerobias y anaerobias, mohos patógenos y no patógenos, la turbidez en los tubos de BHI demuestra crecimiento bacteriano y por lo tanto se debe subcultivar en medios selectivos.

### **2.6.8. Puntas de caucho**

#### **Sistema de pulido**

El sistema de pulido consta de discos, copas y puntas. Estos dispositivos están diseñados para el uso final de una restauración. Las razones para dejar una superficie lisa es importante ya que se evita la proliferación y retención de bacterias impidiendo la formación de placa bacteriana, incluso se evita cambios de color de la resina provocada por los pigmentos de la alimentación, por lo tanto se logra reproducir la imagen lisa y tersa de la anatomía natural del esmalte sano, y por último se obtiene mejorar la estética, la salud de los tejidos periodontales adyacentes y se devuelve la función.

#### **Puntas de caucho abrasivas**

Los abrasivos son sustancias minerales que actúan mediante procesos mecánicos con el objetivo de dejar un mejor acabado y forma. Las puntas de caucho sirven para desgastar la superficie del diente o de una restauración mediante distintos movimientos constantes, rotatorios y con una velocidad y presión baja que producirá un cambio sobre la superficie a tratar dejando con brillo y sin defectos. Están compuestos por abrasivos sintéticos tanto de carburo de silicio -que es la unión de carbono y silicio- cuya función es evitar que los granos de diamante se rompan. Adicionalmente también están formados por partículas de óxido de aluminio, considerado como un abrasivo poderoso que tiene una gran dureza y tenacidad, creado para el uso continuo de las puntas de caucho y que al momento de pulir produce rayas anchas y menos profundas, todo lo contrario de carburo de silicio.

De acuerdo al tamaño de sus partículas las puntas de caucho se clasifican en gruesas, medianas y finas, de esto depende la elección según el tratamiento. Poseen un vástago de acero inoxidable para colocarlas dentro del contraángulo. Una de las propiedades importantes es la dureza del abrasivo, este debe ser más duro que el material a ser pulido.

La resistencia al desgaste es otra propiedad, ya que la continua fricción sobre el diente provoca que el calor se eleve alterando la integridad física de la pieza dentaria, siendo imprescindible el uso con agua.

La esterilización o desinfección debe ser siguiendo las indicaciones al fabricante.

Tabla 4. Componentes de las Puntas de caucho.

<b>Compuestos</b>
Gomas de silicona
Impregnadas con carburo de silicio
Partículas de Oxido de aluminio.

Tomado de Wan & et al, 2002, p. 61-64

## CAPITULO III

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General.

Determinar el método químico de desinfección más eficaz para las puntas de caucho abrasivas contaminadas con *Streptococcus mutans*.

#### 3.2 Objetivos Específicos.

- Comparar la eficacia de hipoclorito de sodio, glutaraldehído y peróxido de hidrógeno en la desinfección de puntas de caucho abrasivas contaminadas con *Streptococcus mutans*.
- Comparar la eficacia de la concentración recomendada para desinfección de instrumental médico frente a concentraciones 50% menores y 50% mayores a lo sugerido por la bibliografía.
- Confirmar con pruebas bioquímicas los aislados bacterianos después del tratamiento.

#### 3.3 Hipótesis

El Glutaraldehído es el método más eficaz para la desinfección de puntas de caucho abrasivas contaminadas con *Streptococcus mutans* en el pulido de resinas compuestas Z100.

##### 3.3.1 Variables.

###### 3.3.1.1 Variable dependiente.

- Crecimiento bacteriano (*Streptococcus mutans*).

### 3.3.1.2 Variables independientes.

- Autoclave,
- Glutaraldehído,
- Hipoclorito de Sodio y,
- Peróxido de hidrógeno.
- Agua destilada
- 

### 3.4 Operacionalización de las variables.

Tabla 5. Operacionalización de las variables.

VARIABLES	DEFINICIÓN	CATEGORIAS	INDICADORES	TÉCNICAS
<b><u>Dependiente</u></b>				
Crecimiento bacteriano (S.m.)	Bacteria Gram+, causa de la Caries dental.	Físico, químico y mecánico	Presencia o Ausencia	Aislamiento BHI TYS20B
<b><u>Independiente</u></b>				
Autoclave	Equipo para realizar proceso de esterilización bajo presión y temperatura.	Calor húmedo	Presencia o Ausencia	Temperatura
Glutaraldehído	Sustancias antiséptica de acción bactericida y fungicida.	Fórmula y características según fabricante	Presencia o Ausencia	Efecto químico al sumergir el producto
Hipoclorito de Sodio	Sustancias antiséptica de acción bactericida y fungicida.	Fórmula y características según fabricante	Presencia o Ausencia	Efecto químico al sumergir el producto
Peróxido de hidrogeno	Sustancias antiséptica de acción bactericida y fungicida.	Fórmula y características según fabricante	Presencia o Ausencia	Efecto químico al sumergir el producto
Agua Destilada	Sustancia que tiene mol. De H <sub>2</sub> O y que ha sido purificada por destilación.	Reactivoquímico.	Presencia o Ausencia	Medio inerte

## CAPÍTULO IV

### 4. METODOLOGÍA

#### 4.1 Tipo de estudio

Este estudio es considerado experimental, controlado, longitudinal, aleatorizado e in vitro.

Experimental: ya que el investigador puede manejar a las variables independientes (tratamientos), para luego analizar el resultado de la manipulación sobre la variable dependiente (bacteria), donde se logra comparar y establecer eficacia de los tratamientos. Esto quiere decir que vamos a aplicar una acción y luego miraremos las consecuencias. (Gómez, 2006, p. 86-87)

Controlado: es un estudio prospectivo, ya que se ha diseñado un protocolo de investigación en el que se controlara antes durante la parte experimental y porque el investigador participa controlando desde el principio hasta el final de la investigación manipulando las variables independientes hasta analizar los cambios de la variable dependiente.

Longitudinal: ya que se observó la evolución del fenómeno y de los factores que actúan sobre el en un periodo de tiempo. (Moya, 2003, p. 29-30)

Aleatorizado: ya que los tratamientos no tuvieron el mismo orden en ninguno de las 8 veces.

La presente investigación, se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación Transnacional de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de las Américas, Sede Queri, Quito.

## **4.2 Materiales y Métodos**

### **4.2.1 Elaboración de bloques de resina**

Se realizaron 40 especímenes de resina compuesta microhíbrida Z100 color B2 de la marca 3M ESPE. Para ello se utilizó una matriz metálica de 1cm de ancho x 3mm de espesor fue introducida en la pasta pesada de condensación (Ultradent), la resina se colocó dentro de la pasta con una técnica de incremento único y fotopolimerizada con luz halógena Litex680A x 60 segundos. Los bloques de resina fueron reutilizados y autoclavados antes de cada ensayo.

### **4.2.2 Métodos de desinfección**

Se utilizaron 3 desinfectantes: el glutaraldehído, hipoclorito de sodio y peróxido de hidrógeno. El glutaraldehído al 6.5% (Spartan) fue diluido en agua destilada estéril hasta alcanzar las concentraciones requeridas de 1%, 2% y 3%. El hipoclorito de sodio al 5% (Clorax) fue diluido usando agua destilada estéril para la preparación de las siguientes diluciones: 0,25%, 0,50% y 0.75%. Finalmente el peróxido de hidrógeno (Botica Alemana) fue solicitado que se prepare al 3%, 6% y al 9%. El tratamiento con calor húmedo (control positivo) se llevó a cabo en un autoclave Tuttnauer 3870E, a 121°C por 45 minutos, mientras que el control negativo se llevó a cabo con la inmersión del material en agua destilada estéril.

### **4.2.3 Valoración de la eficacia de los métodos de desinfección**

Se llevaron a cabo 5 ensayos por duplicado con tres tratamientos químicos diferentes (ver tabla 2) junto al control positivo y negativo. Las concentraciones sugeridas según Rutala (2008) con efecto desinfectante de alto nivel fueron contrastadas con las concentraciones 50% por encima y 50% por debajo de la recomendación para glutaraldehído, peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio.

Tabla 6. Distribución de los tratamientos y número de ensayos por duplicado.

TRATAMIENTOS	TIEMPO (min)	Concentraciones*	Número de puntas	Número de ensayos
Hipoclorito de sodio	10	0.25%**	2	5
		0.50%*		
		0.75%***		
Glutaraldehído	20	1%**	2	5
		2%*		
		3%***		
Peróxido de hidrógeno	30	3%**	2	5
		6%*		
		9%***		
C-	30		2	5
C+	45		2	5

Tomado de Rutala, 2008,p. 702-709

**Nota:** \*Valor recomendado, \*\* 50% menos del valor recomendado y \*\*\* 50% más del valor recomendado.C- =agua destilada y C+ = Autoclave.

#### 4.2.4 Ensayos adicionales con hipoclorito de sodio

Tres ensayos adicionales fueron llevados a cabo para confirmar la eficacia de glutaraldehído al 2% y de peróxido de hidrógeno en las 3 concentraciones antes utilizadas. Un total de 90 repeticiones de caucho abrasivas fueron utilizadas en esta parte del estudio. La tabla 3 demuestra la distribución de los tratamientos y ensayos.



Tabla 7. Distribución de los tratamientos y número de ensayos por duplicado.

TRATAMIENTOS	TIEMPO (min)	Concentraciones*	Numero de Puntas	Número de ensayos
Hipoclorito de sodio	10	0.25%**	10	3
		0.50%*	10	
		0.75%***	10	
Glutaraldehído	20	2%*	2	
C-	30		2	

**Nota:** \*Valor recomendado, \*\* 50% más del valor recomendado y \*\*\* 50% menos del valor recomendado.

C-=agua destilada.

#### 4.2.5 Medios para el crecimiento bacteriano y bacteria utilizada

El *Streptococcus mutans* fue provisto gentilmente por Medibac, cepa ATCC 25755. Su mantenimiento se llevó a cabo con el medio TYS20B (Wan & et al, 2002) a una temperatura de 37°C en una incubadora (Thermo Scientific, Heratherm IGS 100) hasta el desarrollo de los ensayos.

La recuperación bacteriana postratamiento se llevó a cabo en caldo de Infusión Cerebro Corazón (Brain Heart Infusion-BHI; BD, ref: 211059) de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, previo al aislamiento en medio de cultivo selectivo.

La preparación del medio TYS20B se siguió de acuerdo a la recomendación de un estudio previo (Wan & et al, 2002). Brevemente: 30g caldo de trypticasa soja (Acumedia); 10g extracto de levadura (Acumedia); 11g agar granulado (Medibac); 20% w/v sacarosa (Analar); 0.2U/ml bacitracina (Sigma); 600 ml agua destilada.

#### 4.2.6 Técnica de pulido

Los cubos de resina fueron pulidos por puntas de caucho Jiffy (Ultradent) por 10 segundos con un motor colgante (BÚFFALO DENTAL Company INC, Modelo N<sup>o</sup> 150, H.P 1/5, Volts 20 m-rpm 115, amp.2) con su pieza de mano y su llave para asegurar la punta al motor.

#### 4.2.7 Procedimientos experimentales

Todos los procedimientos y ensayos se llevaron a cabo bajo normas estrictas de asepsia y antisepsia, y dentro de una cámara de flujo laminar 1300 Series Clase A2, con todos los materiales estériles.

Una vez introducidos los materiales dentro de la cámara de flujo laminar, se procedió a tomar el cubo de resina con una pinza y colocar sobre la zona de trabajo. Se colocó la punta de pulido dentro del motor colgante y se ajustó con la llave. Cada punta de caucho abrasiva contaminada con *S. mutans* fue sumergida en 30ml de caldo BHI con la bacteria, se pulió por 10 segundos y se desechó la resina en un recipiente con alcohol. Las puntas fueron sumergidas en cada tratamiento líquido, llevadas al autoclave o sumergidas en agua destilada dependiendo de cada tratamiento. Después del tiempo recomendado para cada método, se tomó cada punta para ser sumergía en 30ml de caldo BHI con el objetivo de recuperar la bacteria. Después de 18-24 horas, se tomó 100ul del medio de cultivo y se transfirió al medio TYS20B, esparciéndolo con un asa de Digralsky en todo el medio, y dejándolo por 24 y 48 horas en ambiente miroaerófilo (CO<sub>2</sub> 5%), a 37°C.

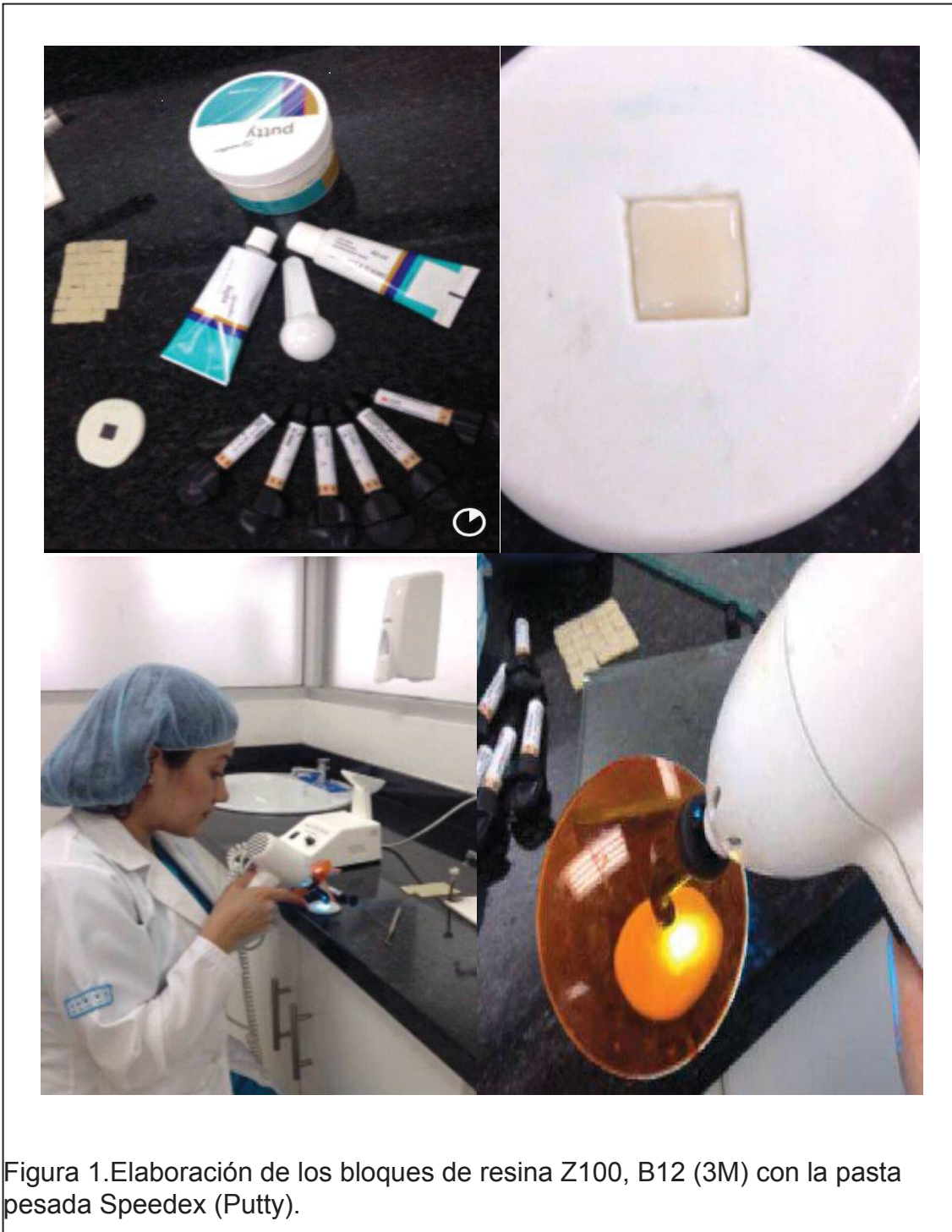


Figura 1. Elaboración de los bloques de resina Z100, B12 (3M) con la pasta pesada Speedex (Putty).



Figura 2. La preparación de los tratamiento desinfectantes.

Nota: El Glutaraldehído diluido con Agua destilada en sus tres concentraciones, también el peróxido de hidrógeno diluido con Agua destilada en sus tres concentraciones.



Figura 3. Preparación de los medios de cultivo TYS20B.

Nota: El TYS20B es el medio exclusivo para el crecimiento del *Streptococcus mutans*, el mismo esta compuesto por: caldo de trypticasa soja, Agar granulado, Sacarosa, Extracto de levadura , Bacitracina y Agua destilada.



Figura 4. Dilución y Autoclavado.

Nota: Una vez que se tuvo listo la mezcla se colocó en dos frascos de 300 ml y se llevó a la Autoclave. Posterior a los 45 minutos de terminado el ciclo de esterilización, se transportó a la cámara de flujo y se mezcló con la bacitracina para luego ser colocado en las cajas Petri.



Figura 5. Agar TYS20B en la cámara de flujo laminar para su traspaso a las cajas Petri.

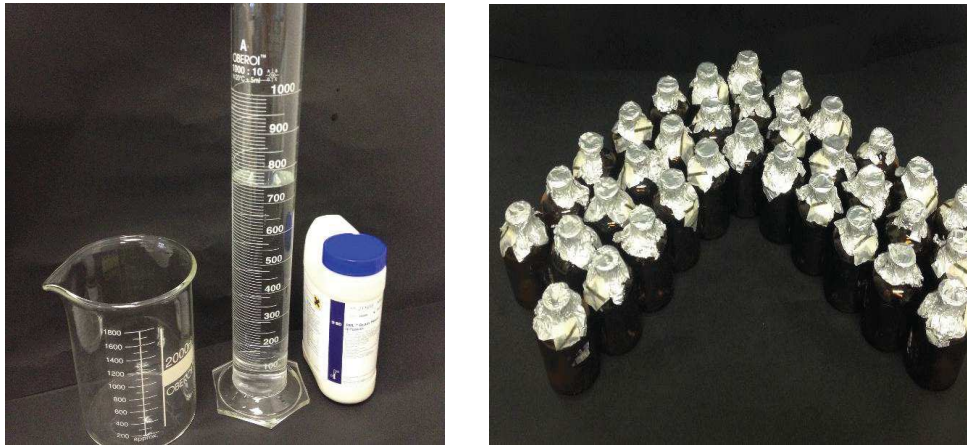


Figura 6. El medio BHI. Se mezcló más Agua destilada, colocándose en 22 vasos de 30 ml para ser llevados a la Autoclave.

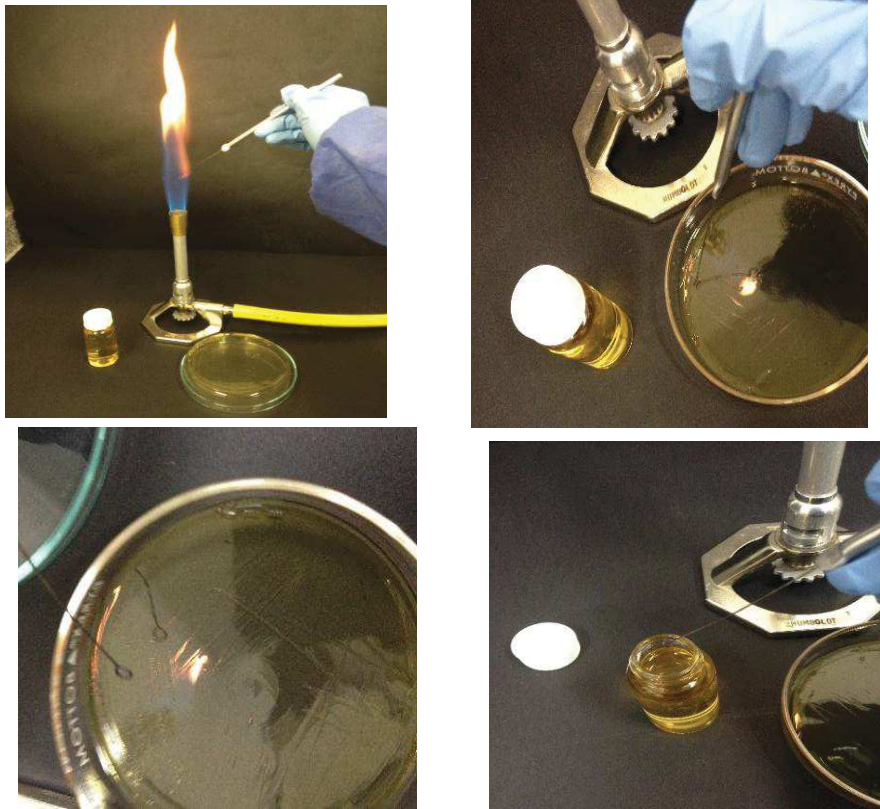


Figura 7. Pasos para la recuperación bacteriana de *Streptococcus mutans*.

Nota: Se utilizó un frasco con BHI, mediante una asa bacteriológica y se quemó la punta a rojo vivo, se tomó una colonia del medio TYS20B antes preparado y se implantó en el frasco. Por último se dejó 24 horas a 37°C para su crecimiento.



Figura 8. Colocación del material dentro de la cámara de flujo laminar.



Figura 9. Descripción de la ubicación del material.

Nota: Desde el lado izquierdo: los frascos son los tratamientos glutaraldehído, hipoclorito de sodio y peróxido de hidrógeno con sus diferentes porcentajes y colocados de forma aleatoria, siguen las resinas, las puntas de pulido, las pinzas (tanto para la resina como para cambiar las puntas de los tratamientos al medio BHI) en la mitad se encuentra un trapo estéril para colocar ahí la resina y realizar el pulido, sigue el micromotor colgante con su llave y por último los frascos con BHI colados en el mismo orden que los frascos de los desinfectantes.

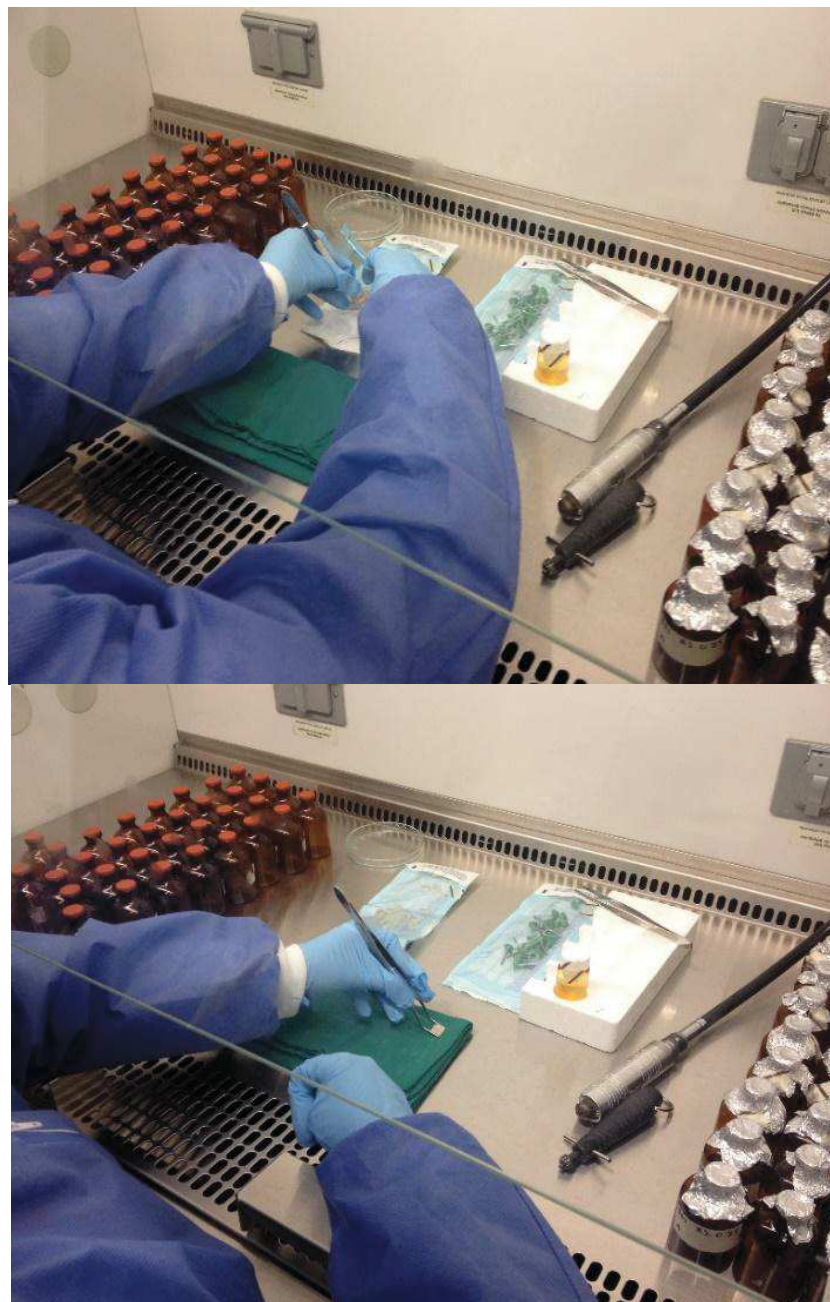


Figura 10. Pasos del pulido de un cubo de resina.

Nota: Se tomó un cubo de resina con una pinza estéril y se procedió a colocar en la zona de trabajo.



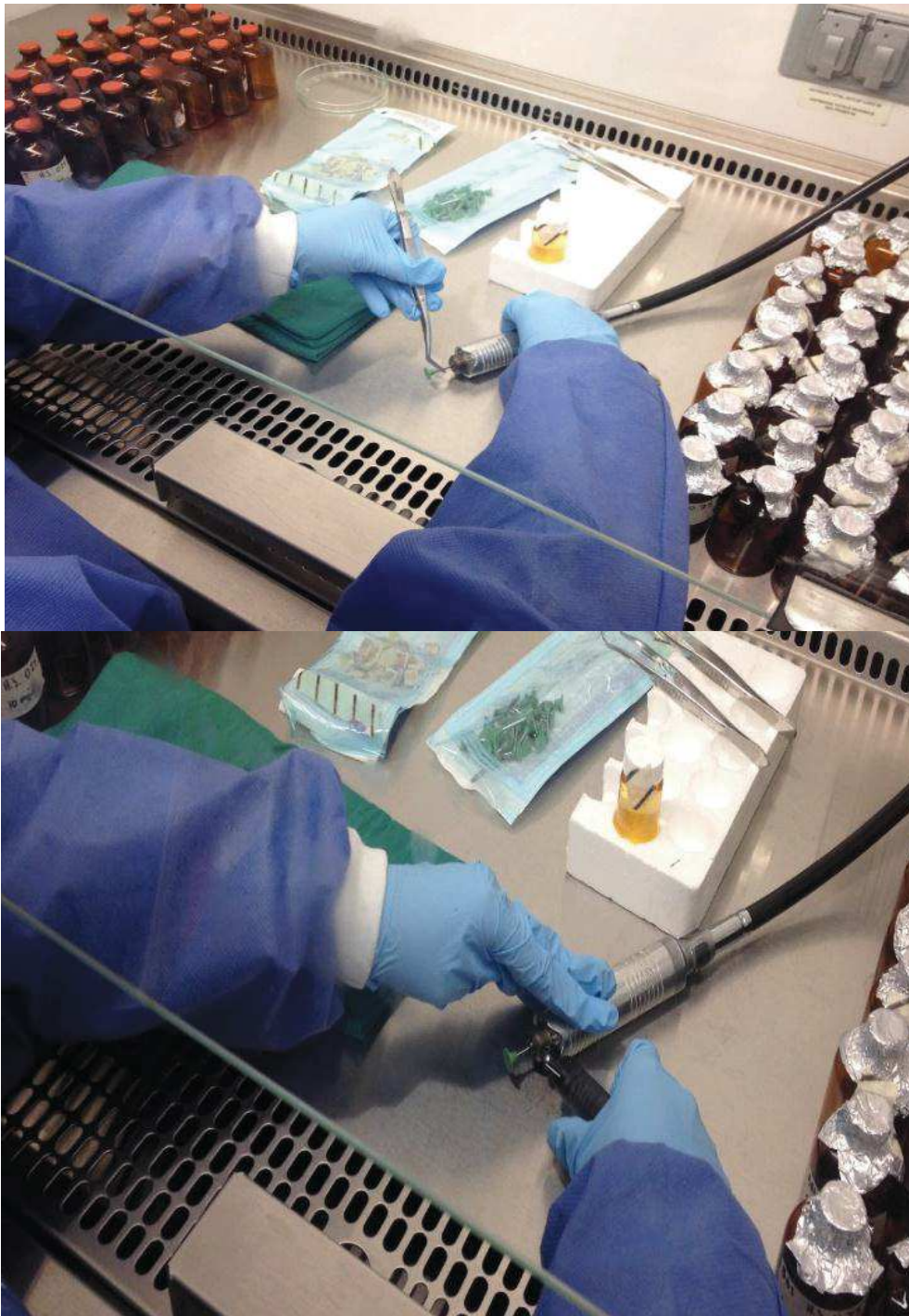


Figura 11. Pasos del pulido de un cubo de resina.

Nota: Se coloca una punta en el micromotor colgante con la ayuda de una pinza y se asegura la punta con la ayuda de la llave.

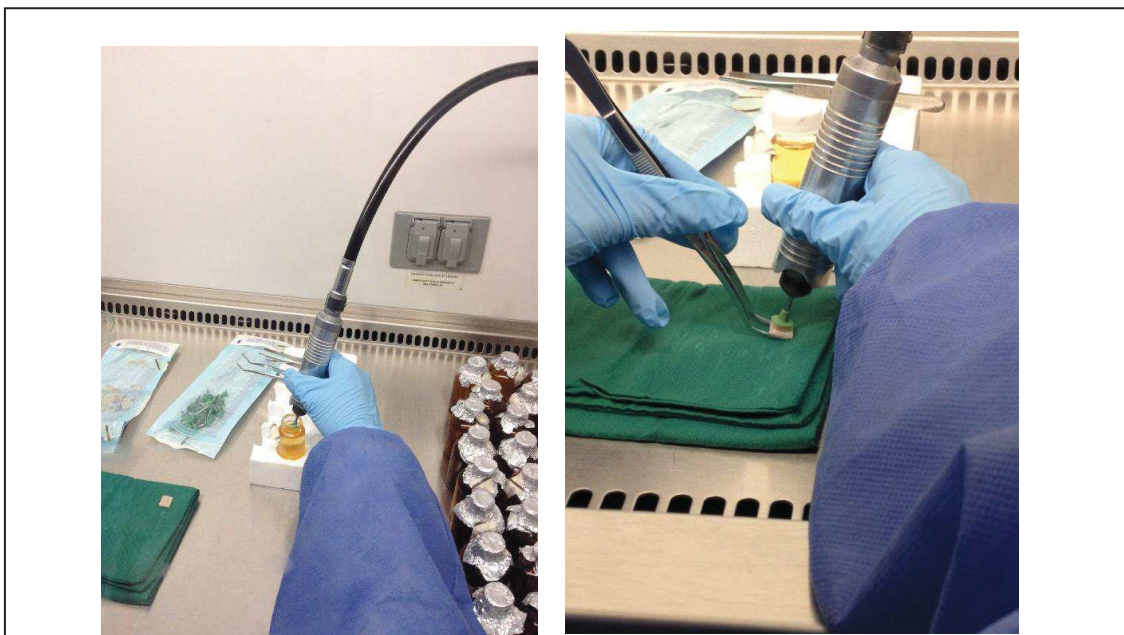


Figura 12. Pasos del pulido de un cubo de resina.

Nota: Se contamina la punta en frasco de BH el con *Streptococcus mutans* y se realiza el pulido por 10 segundos.

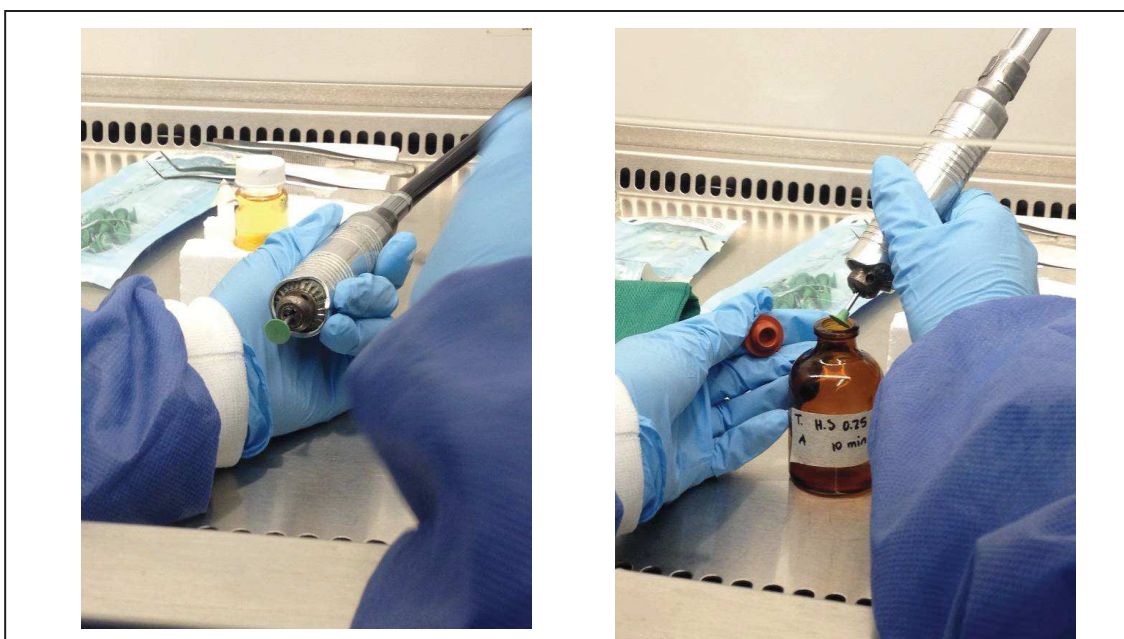


Figura 13. Pasos del pulido de un cubo de resina.

Nota: Retiramos el seguro y se coloca la punta de caucho dentro del tratamiento correspondiente y se deja el tiempo determinado.

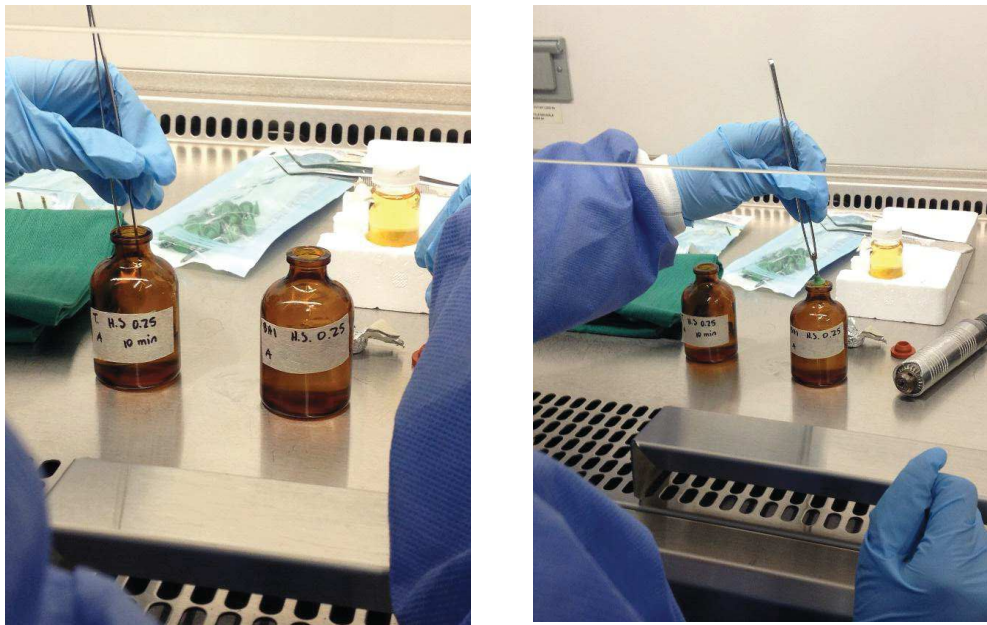


Figura 14. Colocación en el medio BHI.

Nota: Después del tiempo planteado y del tratamiento cambiamos la punta al frasco de BHI con la ayuda de una pinza.



Figura 15. Los frascos de BHI con el tratamiento en la incubadora a 37°C.

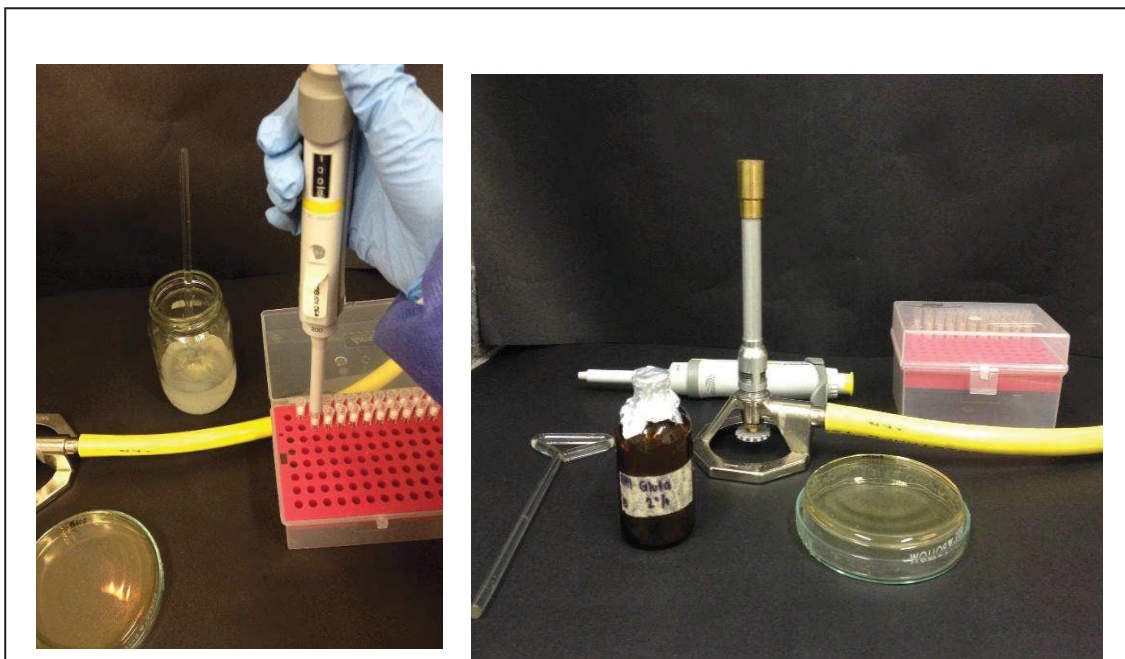


Figura 16. Después de 24 horas.

Nota: Los frascos en la incubadora los sacamos, etiquetamos a las cajas Petri con el TYS20B y con los nombres de los tratamientos con su porcentaje correspondiente. En este paso va a ser necesario el uso de una pipeta con una punta estéril, el mechero el tratamiento la caja Petri y una asa.

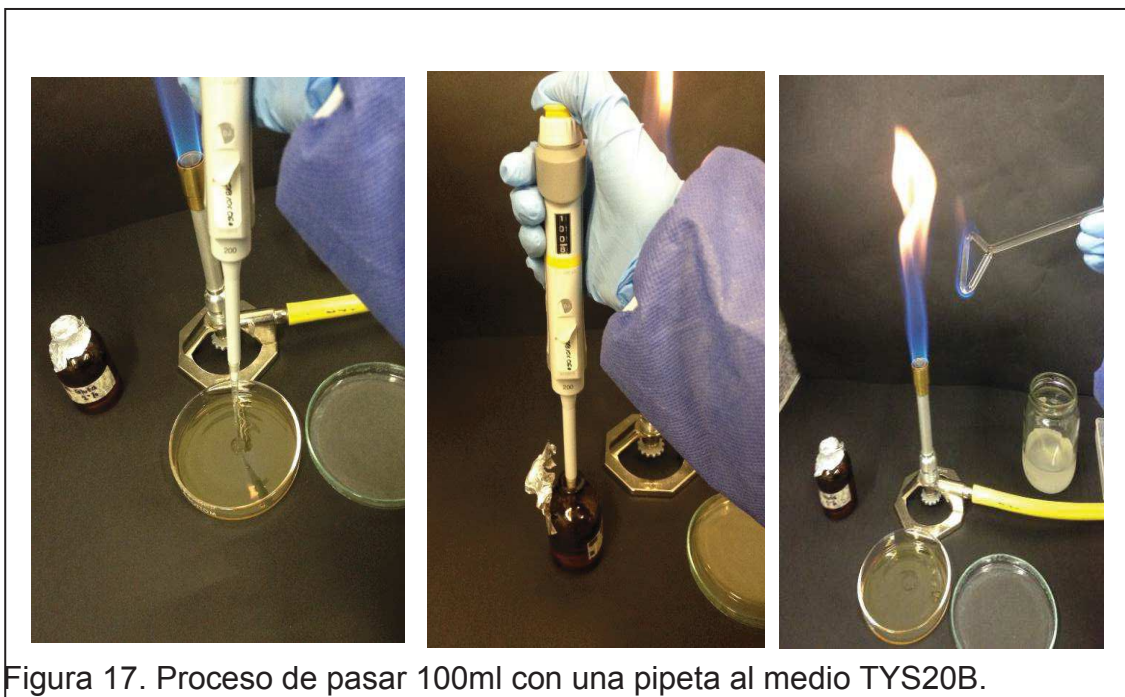


Figura 17. Proceso de pasar 100ml con una pipeta al medio TYS20B.

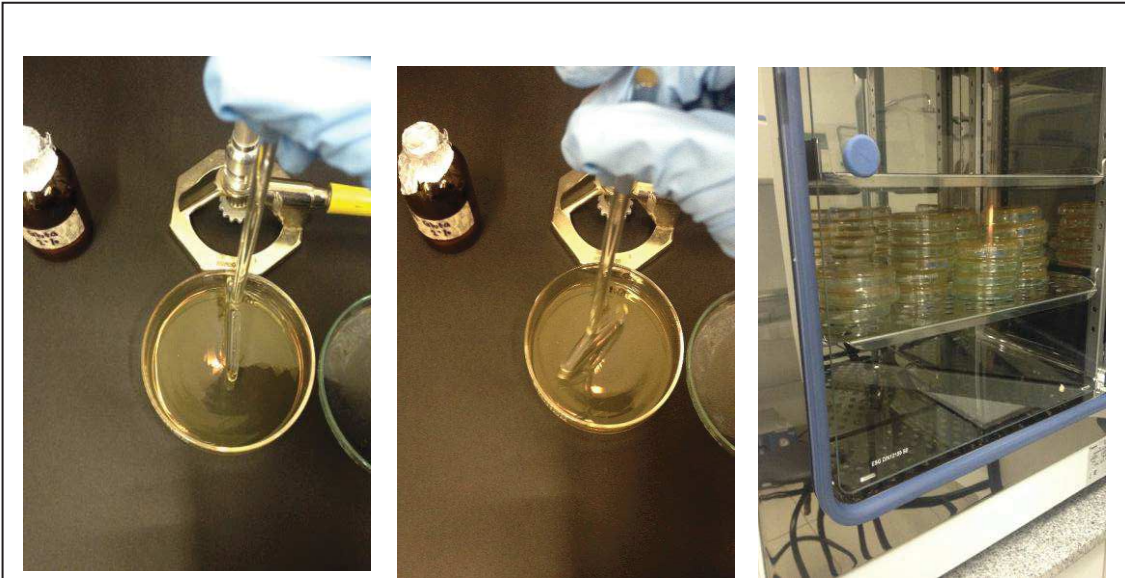


Figura 18. Finalización del sembrado.

Nota: Una vez que hemos acabado sembrar todas las 22 cajas Petri, las mismas deben estar en un ambiente microaerófilo para que el *Streptococcus mutans* crezca. Esto es en un envase cerrado con una vela en su interior y lo guardamos en la incubadora.

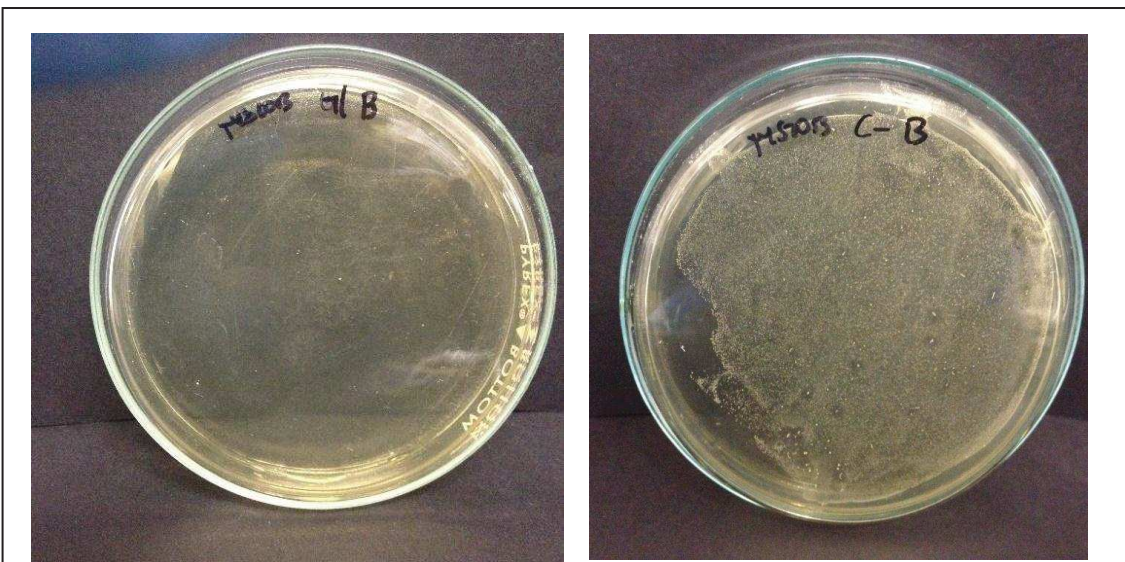


Figura 19. Después de 24 horas se abren los envases y con una hoja de control se anota si hay o no crecimiento.

Nota: En caso de no existir crecimiento (Glutaraldehído) se verá como la figura de la izquierda, y si existe crecimiento se verá como la figura de la derecha (Hipoclorito de sodio al 0.50%).



Figura 20. El *Streptococcus m.*

Nota: En el frasco de BHI sin crecimiento (extrema izquierda) o con crecimiento (extrema derecha)

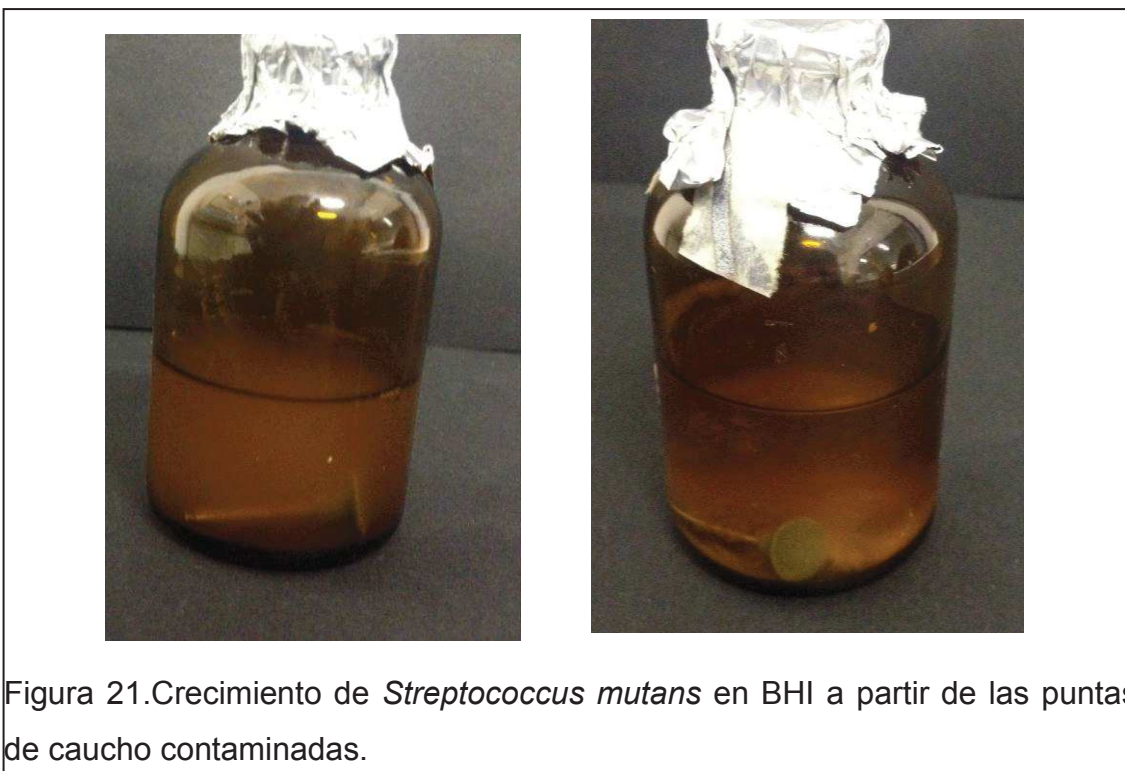


Figura 21. Crecimiento de *Streptococcus mutans* en BHI a partir de las puntas de caucho contaminadas.

## CAPITULO V

### 5. RESULTADOS

El aislamiento de *S. mutans* se llevó cabo en el medio selectivo TYS20B después de que cada punta abrasiva fue sometida al tratamiento respectivo, ya sea por esterilización, desinfección o sin tratamiento. No se llevó a cabo el conteo de UFC/ml, únicamente se registró la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano.

Tabla 8. Porcentajes de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con glutaraldehído.

Tratamiento	Concentración (%)	Tiempo de cultivo en TYS20B					
		24h			48h		
		Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas	Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas
GL	(1.0)	10	0	0	10	0	0
GL	(2.0)	10	0	0	10	0	0
GL	(3.0)	10	0	0	10	0	0
C+	Autoclave	10	0	0	10	0	0
C-	Agua destilada	10	10	100	10	10	100

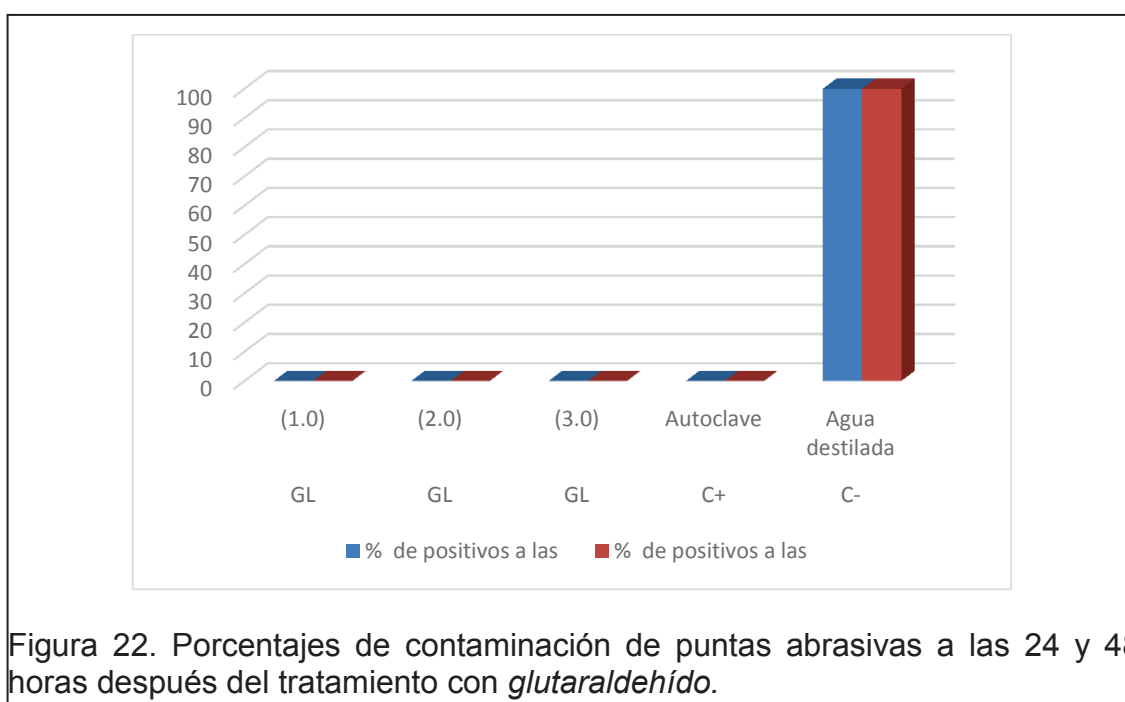


Figura 22. Porcentajes de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con *glutaraldehído*.

La desinfección de puntas abrasivas con glutaraldehído al 2% demostró ser eficaz al evidenciarse ausencia de crecimiento bacteriano en el medio selectivo. La Tabla 8 y la Figura 22, muestran que incluso la utilización de glutaraldehído a dosis menores de las recomendadas fue eficaz para evitar el crecimiento de *S. mutans* a las 24 y 48 horas. La barra azul manifiesta el crecimiento bacteriano a las 24 horas y la barra roja a las 48 horas, por lo que se puede apreciar en el control negativo que la contaminación fue del 100%.

Tabla 9. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas, tiempo de cultivo luego del empleo de peróxido de hidrógeno.

Tratamiento	Concentración (%)	Tiempo de cultivo en TYS20B					
		24h			48h		
		Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas	Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas
PH	(3.0)	10	0	0	10	0	0
PH	(6.0)	10	0	0	10	0	0
PH	(9.0)	10	0	0	10	0	0
C+	Autoclave	10	0	0	10	0	0
C-	Agua destilada	10	10	100	10	10	100

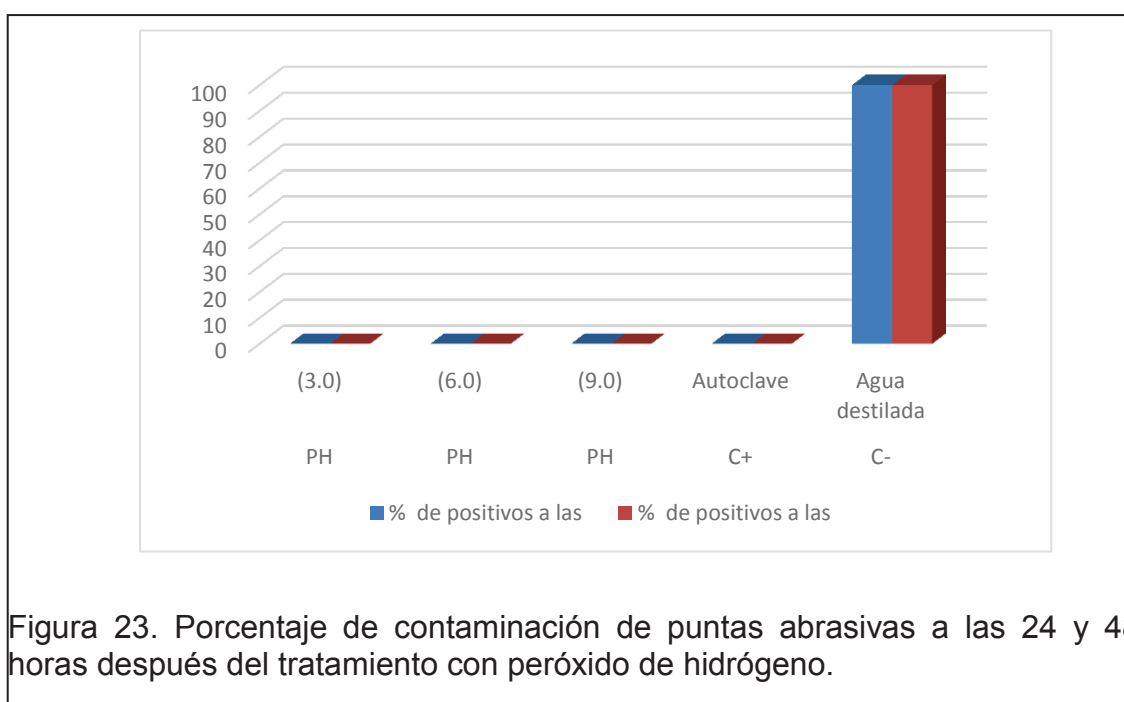


Figura 23. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con peróxido de hidrógeno.



Resultados similares a los obtenidos con glutaraldehído se evidenciaron con peróxido de hidrógeno al 6%, demostrando ser igualmente efectivo en su concentración recomendada. Esto fue medido con la ausencia del crecimiento bacteriano. La Tabla 9 y figura 23, evidencian que incluso la utilización de peróxido de hidrógeno en sus otras concentraciones mostró ser eficaz para evitar el crecimiento de *S. mutans* a las 24 y 48 horas. La barra azul muestra el crecimiento bacteriano a las 24 horas y la barra roja a las 48 horas, demostrando que el control negativo tiene 100% de contaminación.

Tabla 10. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas, tiempo de cultivo luego del empleo de hipoclorito de sodio.

Tratamiento	Concentración (%)	Tiempo de cultivo en TYS20B					
		24h			48h		
		Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas	Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas
HS	(0.25)	10	2	20	10	2	2
HS	(0.50)	10	2	20	10	2	2
HS	(0.75)	10	4	40	10	4	4
C+	Autoclave	10	0	0	10	0	0
C-	Agua destilada	10	10	100	10	10	100

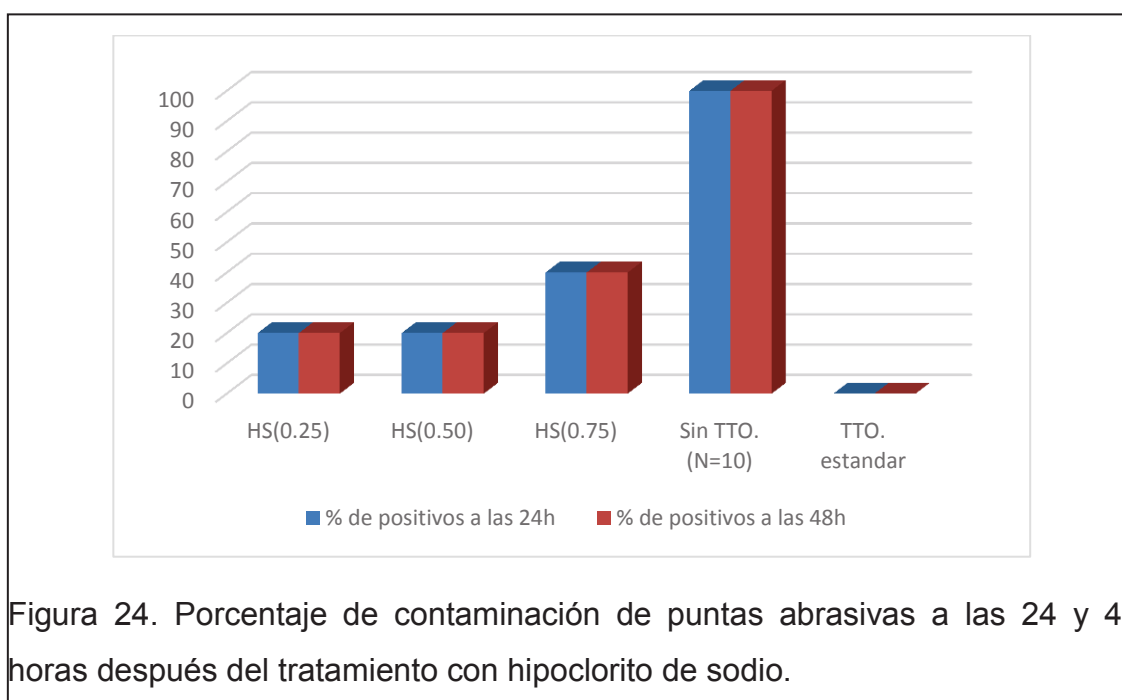


Figura 24. Porcentaje de contaminación de puntas abrasivas a las 24 y 48 horas después del tratamiento con hipoclorito de sodio.

A diferencia de lo observado con los tratamientos anteriores, la Tabla 10 e Figura 24 se evidencia que el hipoclorito de sodio en las tres concentraciones utilizadas es menos eficaz en desinfección de puntas abrasivas contaminadas con *S. mutans*. Un hallazgo interesante fue que el hipoclorito de sodio al 0.75% fue menos eficaz que a 0.25% y a 0.50%. La barra en azul muestra el crecimiento bacteriano a las 24 horas y la barra roja a las 48 horas, apreciándose en el control negativo una contaminación al 100%.

Tabla 11. Porcentaje del Hipoclorito de sodio en el segundo ensayo.

Tratamiento	Concentración (%)	Tiempo de cultivo en TYS20B					
		24h			48h		
		Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas	Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas
HS	(0.25)	30	1	3.33	30	1	3.33
HS	(0.50)	30	1	3.33	30	1	3.33
HS	(0.75)	30	3	6.67	30	3	6.67
C+	GL(2.0)	6	0	0	6	0	0
C-	Agua destilada	6	10	100	6	10	100

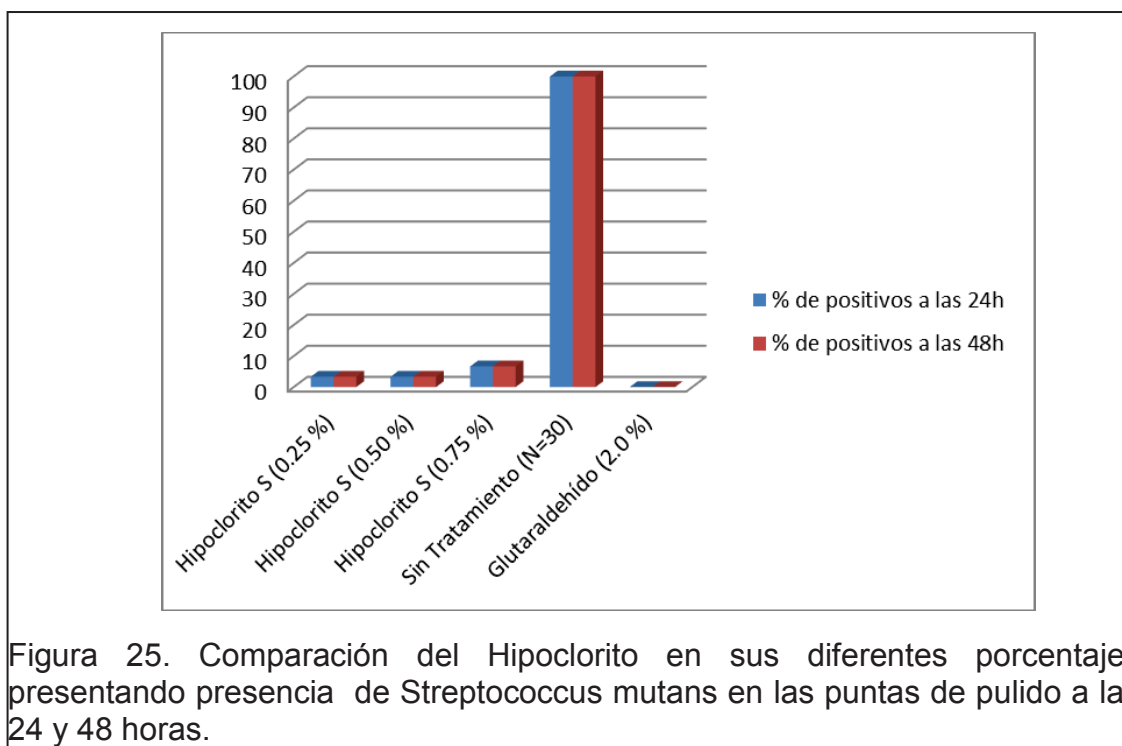


Figura 25. Comparación del Hipoclorito en sus diferentes porcentajes presentando presencia de *Streptococcus mutans* en las puntas de pulido a las 24 y 48 horas.

Para confirmar los hallazgos evidenciados con el hipoclorito de sodio y su menor eficacia en la desinfección de puntas abrasivas contaminadas con *S. mutans*, se llevaron a cabo 3 ensayos adicionales exclusivamente con este tratamiento, incrementando el número de puntas abrasivas y el número de repeticiones a 10 con cada concentración (0.25%, 0.50% y 0.75%) (Ver Materiales y Métodos). La tabla 11 evidencia que existe diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.0470$ ) entre el hipoclorito de sodio al 0.75% y las otras concentraciones al 0.25% y 0.50%, confirmando los hallazgos encontrados en la primera parte del estudio. El análisis estadístico incluso evidenció que no existía diferencia estadísticamente significativa ( $p>0.05$ ) entre el grupo de tratamiento con hipoclorito de sodio al 0.75% y el grupo tratado solo con agua destilada.

Tabla 12. Porcentaje de todos los métodos de desinfección.

Tratamiento	Concentración (%)	Tiempo de cultivo en TYS20B					
		24h			48h		
		Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas	Número de puntas usadas	Número de puntas contaminadas	% de puntas contaminadas
GL	(1.0)	10	0	0	10	0	0
GL	(2.0)	10	0	0	10	0	0
GL	(3.0)	10	0	0	10	0	0
PH	(3.0)	10	0	0	10	0	0
PH	(6.0)	10	0	0	10	0	0
PH	(9.0)	10	0	0	10	0	0
HS	(0.25)	10	2	20	10	2	2
HS	(0.50)	10	2	20	10	2	2
HS	(0.75)	10	4	40	10	4	4
C+	Autoclave	10	0	0	10	0	0
C-	Agua destilada	10	10	100	10	10	100

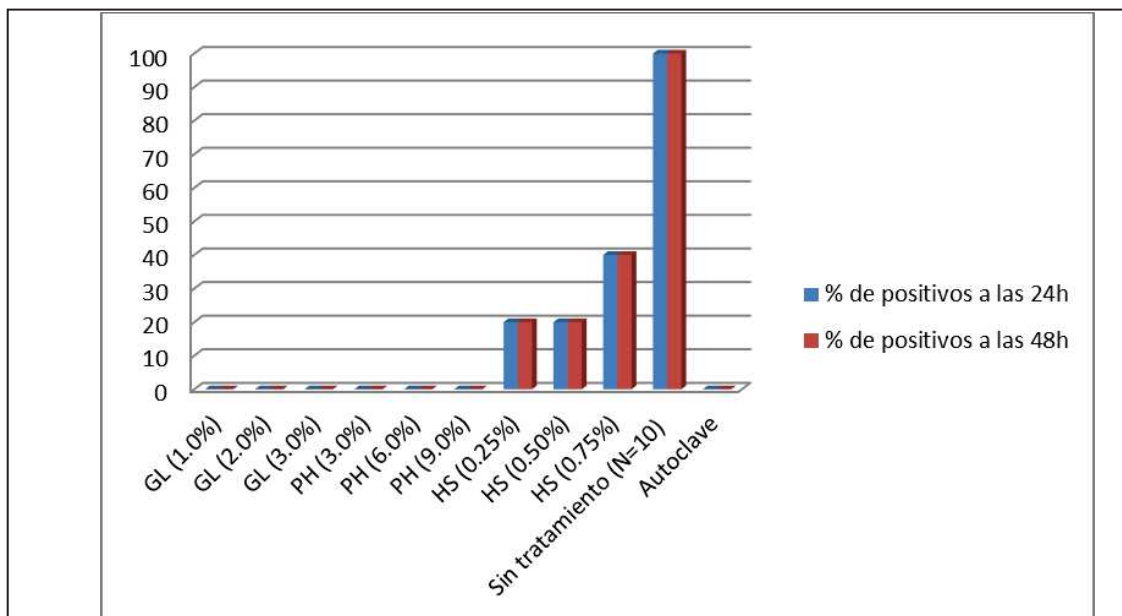


Figura 26. Porcentaje de los métodos de desinfección comparando presencia y ausencia de contaminación con *Streptococcus mutans* después del pulido de una restauración a las 24 y 48 horas.

Al comparar todos los tratamientos se puede evidenciar que hipoclorito de sodio es menos eficaz en la desinfección de puntas abrasivas en las tres concentraciones utilizadas en éste estudio, observándose una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.0002$ ) entre hipoclorito de sodio y los otros dos tratamientos. Los resultados del estudio se detallan en la figura 26, donde las barras azules manifiestan el crecimiento a las 24h y las barras rojas a las 48h.

Del mismo modo, el resultado de los ensayos realizados demuestran que existe presencia de *Streptococcus mutans*, mediante el cultivo TYS20B (ver Figura27).

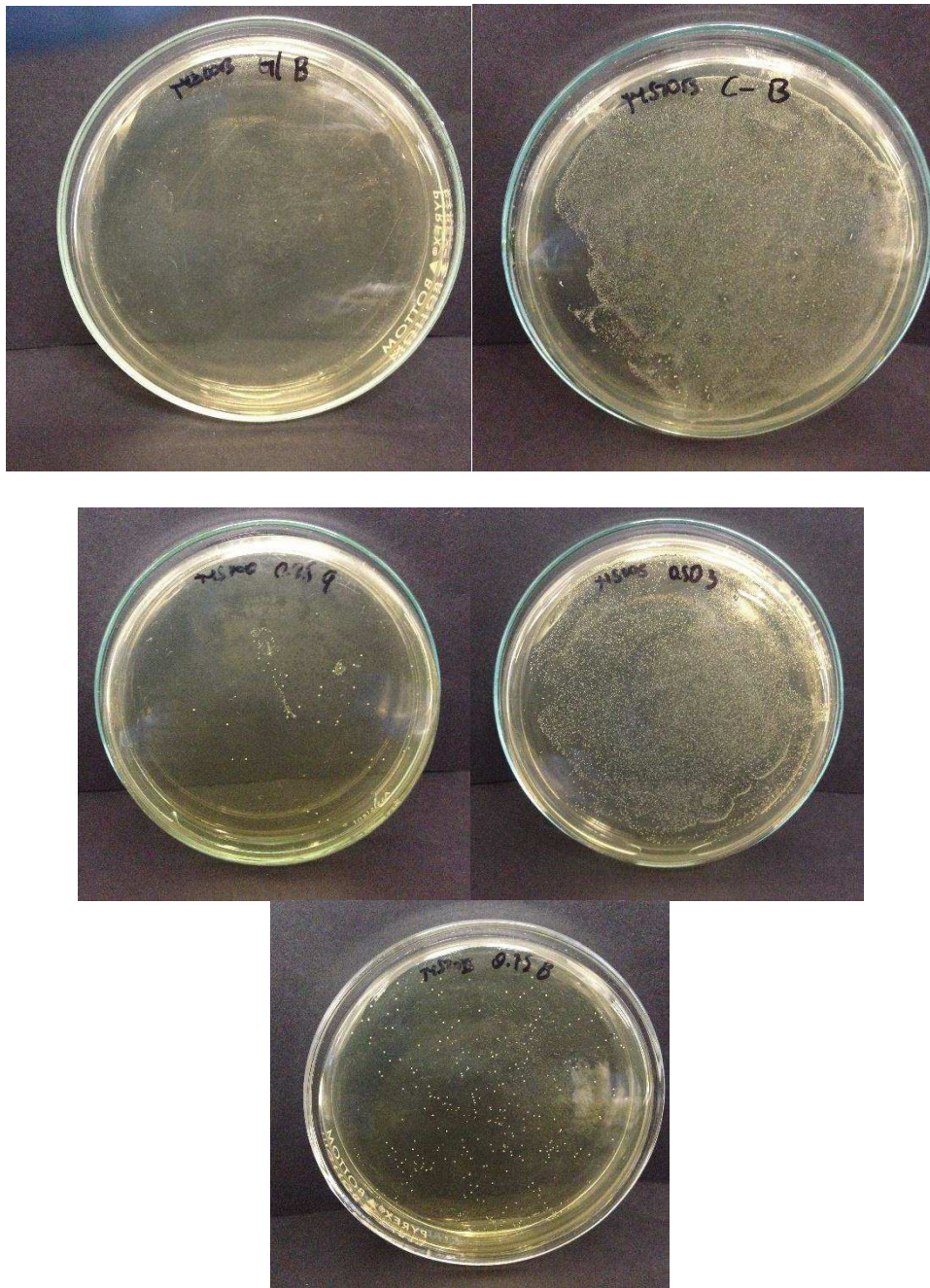


Figura 27. Desde la izquierda (1) G1= Glutaraldehído mostrando ausencia de crecimiento, (2) C- :Agua destilada, observándose presencia de *S. mutans*, (3, 4, 5) Hipoclorito al 0.25%, %, 0,50% y 0,75%, presentando crecimiento respectivamente.

## CAPITULO VI

### 6. DISCUSION

La importancia del control de infecciones cruzadas es un tema de gran relevancia en la odontología, sobre todo cuando se trata de evitar infecciones transmitidas por el instrumental médico (Rutala, 2008, p. 38-50). La caries al ser una enfermedad infectocontagiosa, merece especial atención cuando se trata de evitar la transmisión de persona a persona. (Marsh & Martin, 2011, p. 104-115) El *S. mutans* es una de las bacterias más problemáticas en la salud oral y tiene una gran relación su presencia con el manejo del instrumental odontológico. Es por ello que las normas de bioseguridad son claves para evitar que esta bacteria se transmita entre individuos, jugando un rol indispensable la esterilización del instrumental. (Negrone, 2009) Cuando el acceso a un método de esterilización basado en energía eléctrica no está disponible en áreas rurales alejadas, es necesario hacer uso de técnicas de esterilización y desinfección químicas efectivas que eliminen al máximo los microorganismos patógenos.

Según Barranco (2009), a pesar de que la desinfección del instrumental tiene sus debilidades respecto al espectro de acción sobre ciertos microorganismos, el requerimiento mínimo sugerido para el manejo de material semicrítico, como las puntas abrasivas, es la aplicación de una desinfección de alto nivel. (Rutala WA, 2004, p. 702-709) La inmersión líquida en glutaraldehído al 2%, hipoclorito de sodio al 0.5% y peróxido de hidrógeno al 6% son métodos de desinfección de alto nivel que se recomiendan aplicar al instrumental odontológico semicrítico (Rutala, 2008).

El presente estudio buscó evaluar la eficacia de los tres diferentes métodos de desinfección en puntas abrasivas contaminadas con *S. mutans*. Los resultados evidenciaron que tanto el glutaraldehído, como el peróxido de hidrógeno fueron eficaces en la desinfección del instrumental empleado en este estudio cuando fueron contaminados con *S. mutans*. Rutala (2008) recomienda llevar a cabo la esterilización de instrumental semicrítico. Para esto, el Glutaraldehído con una

concentración  $\geq 2.4\%$  por 10 a 12 horas es eficaz para este procedimiento, sin embargo, en este estudio se demostró que la desinfección por 20 minutos al 2% fue suficiente para evitar el crecimiento del *S. mutans*. Da Silva & et al. (2008, p. 627-633), demostraron que el glutaraldehído al 2% y el hipoclorito de sodio al 1% por 10 minutos son alternativas válidas para la desinfección. Apoyando el uso de glutaraldehído, Tate y colaboradores (1996, p. 61-64) demostraron la eficacia de algunos métodos de desinfección y de esterilización para las puntas de caucho, declarando que el glutaraldehído y la autoclave son efectivos para la desinfección y esterilización, respectivamente.

Un estudio muy interesante en cuanto al peróxido de hidrógeno es el realizado por Giacaman y colaboradores (2014, p. 155-158), el cual demuestra que el *S. sanguinis* es productor de peróxido de hidrógeno y coexiste con el *S. mutans* en la placa dentobacteriana. Este impide que se produzca la caries mediante la inhibición del *S. mutans*, sin embargo el *S. sanguinis* está presente solamente en personas libres de caries, mientras que el *S. mutans* como solitario, se encuentra en personas con alta presencia de caries. Esta situación también ocurrió en el presente estudio, que después de utilizarse como desinfectantes, especialmente a base de peróxido de hidrógeno, no se encontró crecimiento de *S. mutans* en las puntas de caucho.

Por otro lado, el hipoclorito de sodio evidenció una menor eficacia con respecto a la desinfección de puntas abrasivas, encontrándose de manera interesante que a dosis mayores (0.75%) en comparación de 0.25% y 0.5%, dicha eficacia disminuyó. A diferencia de lo hallado en el presente estudio, Peixoto y colaboradores (2007, p. 29-32) concluyeron que el hipoclorito de sodio al 1% fue eficaz en inhibir el crecimiento bacteriano medido por la ausencia de turbidez. Otro estudio también demostró que el uso del hipoclorito al 2% por 20 minutos evitó el desarrollo de *Candida albicans* al no observar crecimiento fúngico en tres diferentes medios de cultivo (Ucar & et al, 2007, p. 1-9). Adicionalmente, Bustos y colaboradores (2010, p. 169-177) utilizando hipoclorito al 0.50% y glutaraldehído al 2% por 10 minutos eliminaron completamente las bacterias que se encontraban en la superficie de los

materiales de impresión como alginato y pasta pesada. A pesar de la eficacia del hipoclorito de sodio a iguales y mayores concentraciones usadas en otros estudios, con otros materiales, no se puede recomendar el uso de éste agente desinfectante en el tratamiento de puntas abrasivas, dado que éstas últimas son fabricadas en un material poroso, que podría ser el causante de la falta de eficacia de ésta sustancia.

Para concluir, el uso de glutaraldehído en odontología por ser un antimicrobiano muy efectivo puede ser empleado tanto como desinfectante como esterilizante químico en las puntas de caucho y en otros materiales de impresión ya que, Meira y colaboradores (2011, p. 5-9) confirmaron la eficacia del uso de glutaraldehído mediante la desinfección de materiales de impresión, para ello los dejaron sumergidos por 16 horas y posteriormente fueron almacenados las placas en la incubadora a 37%, mostrando como resultados la inhibición completa de tres bacterias presentes en cavidad bucal. Esto es importante ya que en zonas alejadas o de difícil acceso, como por ejemplo donde se realiza el año de rural, puede no encontrarse a disposición la autoclave o estufas. La energía eléctrica también puede ser considerado como un inconveniente, por lo que la mejor opción es la esterilización química. De igual modo Rohm & et al (2012, p. 635-641) aconsejan que para el uso de la autoclave se tenga el conocimiento necesario de la utilización de la misma, ya que se demostró que no hay un control paulatino y que el tipo de instrumental depende del ciclo, y para esto se debe concientizar a profundidad el personal encargado.



## CAPITULO VII

### 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 7.1 CONCLUSIONES

- Tanto el glutaraldehído, como el peróxido de hidrógeno en las tres concentraciones usadas en éste estudio evidenciaron eficacia en la desinfección de puntas de caucho abrasivas contaminadas con *S. mutans*.
- El hipoclorito de sodio evidenció menor eficacia en la desinfección de puntas abrasivas de caucho a una concentración del 0.75% comparado con las concentraciones del 0.25% y 0.50% a las 24 y 48 horas de la observación del crecimiento bacteriano.
- Los aislados de *S. mutans* en los medios de cultivo después del tratamiento con hipoclorito fueron confirmados con pruebas bioquímicas.
- A pesar de que el hipoclorito de sodio es un material corrosivo no se observó en las puntas señales de oxidación hasta finalizar los experimentos.
- De igual forma el uso del glutaraldehído es más económico, más accesible, no requiere de suministro eléctrico y tampoco requiere entrenamiento de operador que la autoclave.

#### 7.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda que el profesional de la salud bucal tenga conciencia y conocimientos claros tanto de la clasificación del material, como de los agentes desinfectantes químicos que pueden ser útiles en nuestro consultorio igualmente de la autoclave.
- El estudio al ser aleatorio con un alto número estadístico de repeticiones no tomó en consideración el número de puntas o el estado de las mismas (nuevas o usadas) por lo que pudo presentar algunas debilidades. Para ello es importante que en futuras

investigaciones se incrementen el número de puntas. Igualmente se podría utilizar otro tipo de bacterias o ensayos con pacientes.

- Se recomienda evaluar el desgaste de las puntas abrasivas después del pulido y la capacidad de respuesta a la desinfección de alto nivel por inmersión.

## CRONOGRAMA

Tabla 13. Cronograma de actividades.

ACTIVIDAD	Meses	Marzo 2014 - Marzo 2015				Abril				Mayo				Junio				Julio			
		2015				1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Elaboración del Plan de Investigación																				
2	Aprobación del Plan de Investigación																				
3	Elaboración del Instrumento de Investigación																				
4	Plan Piloto																				
5	Elaboración de los capítulos de la investigación																				
6	Recolección de datos																				
7	Procesamiento de Datos																				
8	Análisis de resultados																				
9	Elaboración de conclusiones																				
10	Presentación del borrador de la propuesta y su validación																				
11	Revisión y Correcciones																				

## PRESUPUESTO

### Recursos materiales

Tabla 14. Materiales a utilizarse.

DESCRIPCIÓN
Resina Z100™, (3M) ESPE
Puntas de pulido de grano grueso (Ultradent)
Botella de glutaraldehído (Spartan)
Botella de peróxido de oxígeno (Botica Alemana)
Botella de hipoclorito de sodio (Clorax)
Lámpara de Luz Halógena(Liftex189 A)
Gutaperchero con atacador (Denstplay)
Pasta pesada de condensación (Speedex)
Guantes, Mascarilla, gorro, bata

### Recursos tecnológicos

Tabla 15. Recursos de laboratorio.

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
Bacteria: <i>S. mutans</i> (ATCC25755)	1(uno)
Agar TYS20B	1(uno)
Placas Petri estériles	40(cuarenta)
Mechero bunsen	1(uno)
Juegos de asas bacteriológicas	2(dos)
Motor colgante(Buffalo)	1(uno)
Cámara de flujo laminar(1300 Series Clase A2)	1(uno)
Microscopio	1(uno)
Incubadora(ThermoScientific,HerathermIGS 100)	1(uno)
Autoclave (Tuttnauer 3870E)	1(uno)

Tabla 16. Presupuesto General.

RUBRO	TOTAL
Recursos Materiales	879.00
Materiales de oficina	100.00
Materiales informáticos	40
Total	1019.00

## REFERENCIAS

- Abreu, R., & et al. (2004). Sistemas de Acabado y pulido de resinas compuestas: Analisis perfilométrico. 1-2.
- Alsadat Maryam, Mozafarina Romina, Mirzadeh Azin, (2013). Knowledge attitudes and performance of dental student in relation to sterilization-desinfection methods of extracted human teeth. *Dent Res J.* (10) 4 482-488.
- Álvarez Francisco, (2010). Riesgos Biológicos y bioseguridad, Bogotá-Colombia, Ed Ecoe, 109-118.
- Barrancos, M. (2009). *Operatoria dental: integracion clínica*. Buenos Aires: Panamericana.
- Barrancos, M. J. (2006). *Operatoria Dental: integración clínica* (4 ed.). Buenos Aires-Argentina: Médica Americana S.A.
- Bustos, J., & et al. (2010). Effect of inmersion desinfection with 0,5 percent sodium hypochlorite and 2 percent glutaraldehyde on alginate and silicone: microbiology and SEM study. *International journal of odontostomatology.*, 169-177.
- Centre for Oral Health Strategy.(2013). Oral Health: Cleaning, Disinfecting and Sterilizing. 1-12.
- Chang Carolina, Ministerio de Salud. Publica del Ecuador (2009). Normas y procedimientos de Atención en salud Bucal, primer nivel.
- Carranza F. (1998). *Periodontología clínica de Glickman*. México: editorial Interamericana McGraw Hill.
- Clarke, J. K. (1924 ). On the Bacterial factor in the AETiology of Dental Caries. *Br J Exp Pathol.* , 141-147.
- CONADIS. (06 de 02 de 2012). *CONADIS*. Recuperado el 25 de 03 de 2013, de [www.conadis.gob.ec/menores.php](http://www.conadis.gob.ec/menores.php)
- Cuenca Emili, Baca García Pilar. (2005). *Odontología preventiva y comunitaria* (Tercera Edición ed.). Barcelona: Elsevier Masson.
- Da Silva, F., & et al. (2008). Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on topographic characteristics of acrylic resin. *J. Prosthodont.*, 627-633.

- Delgado Luis M, Terossi Ana P, de Biagi Daniela, et al (2010). Efecto de diferentes técnicas de pulido y refrigeración en la rugosidad superficial de una resina compuesta nanohíbrida. 1-8.
- Echeverría, T. (2012). Prevención de problemas periodontales para pacientes en tratamiento de ortodoncia. *Revista Científica Dental*, 172-182.
- Ganavadiya , R., & et al. (2014). Disinfecting efficacy of three chemical disinfectants on contaminated diagnostic instruments: A randomized trial. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 98-104.
- Gerberding Julie, et al, (2003). Guidelines for infection Control in Dental Health-Care Setting. *MMWR* (52) 1-17.
- Giacaman, R., & et al. (2014 ). Correlation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* colonization and ex vivo hydrogen peroxide production in caries lesion free and high caries adults. *EISEVIER* , 154-159.
- Gold Og, Gordan HV, Van Houte J, (1973). A selective médium for *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol.* (11) 1357-1364.
- Gómez, M. (2006). *Introducción a la metodología de la investigación*. Córdoba: Brujas.
- Heintze, S., & Forjanic, M. (2008). Polishing performance of multiple-use silicone rubber-based polishing instruments with and without disinfection/sterilization. *Am J Dent*, 288-94.
- Hupp J. (2009). *Cirugía oral y maxilofacial contemporánea*. Barcelona: Elsevier.
- Icart, M., & et al. (2006). *Elaboración, presentación de un proyecto de investigación y una tesina*. Barcelona- España: Universidad de Barcelona .
- Lanzagorta MI, G. M. (2006). Estudio comparativo de gluconato de clorhexidina e hipoclorito de sodio: una alternativa en al desinfección de conos de gutapercha. *Endodoncia Actual*, 8 - 10.
- Lindhe. (2009). *Periodontología Clínica*. Madrid: Panamericana.
- Little WA, Korts DC, Thomson LA. (1977). Conductas básicas en Bioseguridad: manejo integral, protocolo básico para el equipo de salud. Bogota.
- Marsh, P. D., & Martin, M. V. (2011). *Microbiología Oral* (5 ed.). Elsevier Limited.

- Martinez Maritza, (2011). Aislamiento y cuantificación de *Streptococcus mutans* en saliva en niños de la escuela primaria "Ignacio Ramirez" . Tesis (Universidad Veracruz) 1-93.
- Meira, D., & et al . (2011). Microbiological analysis of glutaraldehyde after successive immersions of alginate impressions. *Facultad de odontologia Porto Alegre*, 5-9.
- Medina Rosalba, Moreno LC, Velasco Maria, Gutierrez Sonia.(2005). Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación del *Streptococcus mutans* ATCC 25175 "in vitro" (3) 25-30. Moya, L. (2003). *Introducción a la estadística de salud*. San José: Universidad de Costa Rica.
- Méndez Roberto, Mendoza Luis D, Parra Rogelio, Mancera Antonia, (2008). Rugosidad Superficial de una resina de Nanorrelleno utilizando tres sistemas de Acabado y pulido. *Investigación, Sociedad y desarrollo*, 139-141.
- Murray P, R. K. (2009). *Microbiología Medica*. España: Haraut Brace.
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2014). *Microbiología médica* (7 ed.). Barcelona, España: Elsevier Inc.
- Negróni, M. (2009). *Mrcrobiologia Estomatológica*. (2 ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- OMS. (1 de 10 de 2014). *Universidad de Chile*. Obtenido de Universidad de Chile: <http://www.uchile.cl/portal/investigacion/centro-interdisciplinario-de-estudios-en-bioetica/documentos/75657/documentos-de-consentimiento-informado-elaborados-por-la-oms>
- Pereira CA, Eskelson E, Cavalli V, Liporoni PCS, Jorge AOC, do Rego MA, (2011): *Streptococcus mutans* Biofilm Adhesion on Composite Resin Surffaces After Diferent finishin and Polishing Techniques. *Operative Dentistry* (36-3) 311-317.
- Poveda M, S. S. (2006). Gluconato de clorhexidina al 0.12% en la inhibicion de la adherencia del *Streptococcus mutans* en restauraciones provicionales de polimetilmetacrilato in vitro. *Revista Odontológica Mexicana*, 24 - 29.

- Raju, T., & et al. (2013). Sterilizing Endodontic Files by four different sterilization methods to prevent cross-infection -An In-Vitro Study. *Journal of International Oral Health.*, 108-112.
- Rocha Gracia, R. d., & et al. (2004). *Mecanismos de Patogenicidad e Interacción parásito-hospedero*. (1 ed.). Puebla-México: Fomento Editorial.
- Rodriguez Cramori, Schmitt Lucia, et al.(2013). Sistemas de Pulido de uno o múltiples pasos de resinas compuestas híbridas y su alteración en la estabilidad del color y la Rugosidad Superficial. (52).
- Rodríguez Douglas, Prereira Natalie (2007). Evolución y tendencias Actuales en resinas compuestas. *Acta Odontoloca Venezolana*.
- Rohm, R. E., & et al. (2012). Assessment of descontamination processes: cleaning, desinfection and sterilization in dental practice in Poland in the years 2011-2012. *MEDLINE*, 635-641.
- Rutala WA, W. D. (2004). Disinfection and sterilization in health care facilities: what clinicians need to know. *Clin infect Dis*, 702-709.
- Rutala, W. A. (2008). *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities*. North Carolina.
- Saravia , M. E., & et al. (2013). Recovery of mutans streptococci on MSB, SB-20 and SB-20M agar media. *ELSEVIER*, 311-316.
- Schaeken MJ, Hoeven JS, Franken HC, (1986). Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. *JDent Rest.* (6) 906-908.
- Struzycka Isabela. (2014). The Oral Microbiome in Dental Caries Polish. *Journal of Microbiology* (63) 127-135.
- Sullivan Gordon. (1995). Disinfection and Sterilization of Dental Instruments and materials.
- Tate , W., & et al. (1996). Performance of composite finishing and polishing instruments after sterilization. *American Journal of Dentistry.*, 61-64.
- Tate, W., & et al. (1996). Disinfection and sterilization of composite polishing instruments. *Am J Dent.*, 61-64.
- Icart , B. A., & et al,. (2007). Acción de agentes químicos en la eliminacionde



Cándida albicans sobre prótesis dentales. *Acta Odontológica Venezolana.*, 1-9.

Usha, Mohan; Beena, JP; Divja, Reddy. (2010). *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 39-42.

Wan , A., & et al. (2002). Comparison of five selective media for the growth and enumeration of streptococcus mutans. *Australian Dental Journal*, 21-26.

Wan , A., & et al. (2002). Comparison of five selective media for the growth and enumeration of streptococcus mutans. *Australian Dental Journal*, 21-26.

Zambrano Hector, (2007), Política Pública de Salud Oral para Bogotá, Guía de práctica para el diagnóstico, prevención y tratamiento de la caries dental. Ricmel Impresiones (1) 32-69.

## **ANEXOS**

### Metodología:

La prueba de Kruskal-Wallis, un método de análisis de varianza no paramétrico, fue empleado para determinar estadísticamente si existen diferencias entre los tratamientos estudiados. El software de análisis estadístico R versión 3.1.1 fue utilizado para realizar la prueba de Kruskal-Wallis (R Core Team, 2014).

### Resultados:

De acuerdo al análisis de varianza no paramétrico (prueba de Kruskal-Wallis) realizado sobre la frecuencia de contaminación de las puntas... a las 24 horas, existen diferencias estadísticas entre tratamientos ( $p$ -value < 0.05). Al realizar la separación de los promedios (Cuadro 2), es posible observar que los tratamientos que muestran mayor contaminación de las puntas son HS(75) con un porcentaje de contaminación de 6.7% y Control con 100% de puntas contaminadas. El mismo resultado se observa al analizar las puntas luego de 48 horas. Es decir, el análisis de varianza no paramétrico detectó diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 3). Al realizar el análisis de separación de promedios, los tratamientos HS (75) y control se mantuvieron con los porcentajes de contaminación de 6.7% y 100% respectivamente.

### **Anexo 1. Prueba de Kruskal Wallis realizada para determinar diferencias entre tratamientos para la desinfección de puntas odontológicas después de 24 horas del tratamiento. Quito, 2015.**

<u>Variable</u>	<u>Trt</u>	<u>N</u>	<u>Means</u>	<u>S.D.</u>	<u>Medians</u>	<u>H</u>	<u>p</u>
24	Control	3	100.000	0.00	100.00	7.950	0.0470
24	GL (2.0)	3	0.000	0.00	0.00		
24	HS (25)	3	3.335	0.77	0.00		
24	HS (50)	3	3.335	0.77	0.00		
24	HS (75)	3	6.675	0.77	10.00		

**Anexo 2 Prueba de separación de promedios de los tratamientos evaluados para la desinfección de puntas odontológicas después de 24 horas del tratamiento. Quito, 2015.**

Treat. Means Ranks

GL (2.0) 0.00 4.50A

HS (50) 3.33 6.50A

HS (25) 3.33 6.50A

HS (75) 6.67 8.50A B

Control 100.00 14.00 B

*Means with a common letter are not significantly different ( $p > 0.05$ )*

**Anexo 3 Prueba de Kruskal Wallis realizada para determinar diferencias entre tratamientos para la desinfección de puntas odontológicas después de 48 horas del tratamiento. Quito, 2015.**

Variable Trt N Means S.D. Medians H p

48 Control 3 100.000.00 100.007.950.0470

48 GL (2.0) 3 0.000.00 0.00

48 HS (25) 3 3.335.77 0.00

48 HS (50) 3 3.335.77 0.00

48 HS (75) 3 6.675.77 10.00

**Anexo 4 Prueba de separación de promedios de los tratamientos evaluados para la desinfección de puntas odontológicas después de 48 horas del tratamiento. Quito, 2015.**

Treat. Means Ranks

GL (2.0) 0.00 4.50A

HS (50) 3.33 6.50A

HS (25) 3.33 6.50A

HS (75) 6.67 8.50A B

Control 100.0014.00 B

*Means with a common letter are not significantly different ( $p > 0.05$ )*

Referencia:

R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Anexo 5. Resultados de los ensayos etapa 1

FECHA	HORA 1	HORA 2	MÉTODOS	%	S.M.	PULIDO	TTO	BHI	TYS20B		AISL	DBS. GENER
									24 h	48h		
19-03-15 (1)	9:17		C+(aprox) A						-	-	-	
	9:20		C+(aprox) B						-	-	-	
	9:25	9:45	GL(20min) A	1					-	-	-	
	9:28	9:48	GL(20min) B	1					-	-	-	
	9:32	9:52	GL(20min) A	2					-	-	-	
	9:37	9:57	GL(20min) B	2					-	-	-	Tapa BHI agujero
	9:43	10:03	GL(20min) A	3					-	-	-	
	10:01	10:21	GL(20min) B	3					-	-	-	
	10:08	10:28	HS(10min) A	.25					-	-	-	*10 min
	10:12	10:22	HS(10min) B	.25					-	-	-	*8 min
	10:17	10:27	HS(10min) A	.50					-	-	-	*5 min
	10:27	10:37	HS(10min) B	.80					+	+	+	
	10:41	10:51	HS(10min) A	.75					-	-	-	
	10:44	10:54	HS(10min) B	.75					-	-	-	
	10:49	11:19	PH(30min) A	3					-	-	-	
	10:59	11:29	PH(30min) B	3					-	-	-	
	11:03	11:33	PH(30min) A	6					-	-	-	
	11:10	11:40	PH(30min) B	6					-	-	-	
	11:13	11:43	PH(30min) A	9					-	-	-	
	11:19	11:49	PH(30min) B	9					-	-	-	
11:23	11:53	C-(R.D)(30) A							+	+	+	
11:27	11:57	C-(R.D)(30) B							+	+	+	
		C-(30-40A)							+	+	+	

Anexo 6. Resultados de los ensayos etapa 2

FECHA	HORA 1	HORA 2	MÉTODOS	%	S.M.	PULIDO	TTO	BHI	TYS208		A/SI	OBS. GENERAL
									24 h	48h		
25-03-15 (2)	10:11	10:21	HS(10min) B	.50					-	-	-	
	10:15	10:35	GL(20min) A	3					-	-	-	
	10:26	10:45	GL(20min) B	3					-	-	-	
	10:29	10:59	PH(30min) B	9					-	-	-	
	10:33	10:53	GL(20min) A	1					-	-	-	+ 1 min
	10:39	11:09	PH(30min) B	3					-	-	-	
	10:43	10:53	HS(10min) A	.25					-	-	-	+ 1 min
	10:50		C*(40ppm) A						-	-	-	
	11:02		C*(40ppm) B						-	-	-	
	11:05	11:25	GL(20min) B	1					-	-	-	Tapa rota
	11:08	11:18	HS(10min) B	.25					-	-	-	
	11:11	11:31	GL(20min) A	2					-	-	-	
	11:29	11:49	GL(20min) B	2					-	-	-	
	11:34	11:44	HS(10min) A	.75					-	-	-	
	11:37	11:47	HS(10min) B	.75					-	-	-	
	11:40	12:10	C-(40)(30) A						+	+	+	
	11:47	11:57	HS(10min) A	.50					-	-	-	
	11:52	12:22	PH(30min) A	6					-	-	-	
	11:55	12:25	PH(30min) A	9					-	-	-	
	11:59	12:29	PH(30min) B	6					-	-	-	
12:01	12:31	PH(30min) A	3					-	-	-		
12:01	12:11	C-(40)(30) B						+	+	+		

Anexo 7. Resultados de los ensayos etapa 3

FECHA	HORA 1	HORA 2	METODOS	%	S.M.	PULIDO	TTO	BHI	TYS20B		A/S	OBS. GENER	
									24 h	48h			
29-03-15 (3)	11:20	11:30	HS(10min) A	.50						-	-	Tapa rota	
	11:24	11:54	PH(30min) B	9						-	-		
	11:27	11:47	GL(20min) B	2						-	-		
	11:30		C* B							-	-		
	11:34	11:54	GL(20min) A	3						-	-		
	11:39	11:49	HS(10min) B	.50						-	-		
	11:43	12:03	GL(20min) A	1						-	-		
	11:46	12:16	C* (PH20)(30min) A							+	+		+
	11:52	12:02	HS(10min) A	.25						-	-		-
	11:57	12:27	C* (PH20)(30min) B							+	+		+
	12:09	12:19	PH(30min) B	6						-	-		-
	12:12	12:42	PH(30min) A	9						-	-		-
	12:15	12:45	PH(30min) A	6						-	-		-
12:23	12:53	HS(10min) B	.25						-	-	-		
12:26	12:56	GL(20min) A	2						-	-	-		
12:30	12:40	HS(10min) A	.75						+	+	+		
12:35		C* A							-	-	-		
12:37	12:57	GL(20min) B	3						-	-	-		
12:39	1:09	PH(30min) A	3						-	-	-		
12:49	12:59	PH(30min) B	3						-	-	-		
12:56	1:16	HS(10min) B	.75						-	-	-		
12:52	1:12	GL(20min) B	1						-	-	-		



Anexo 8. Resultados de los ensayos etapa 4

FECHA	HORA 1	HORA 2	MÉTODOS	%	S.M.	PULIDO	TTO	BHI	TYS208		A/S	OBS. GÉNER
									24 h	48h		
07-04-15 (4)	7:33	7:43	HS(10min) A	.75					-	-	-	
	7:35	7:55	GL(20min) A	2					-	-	-	
	7:38	8:08	C-(30min) B						+	+	+	
	7:40	8:00	GL(20min) B	3					-	-	-	
	7:42	C+(AUTOCL) B							-	-	-	
	7:45	HS(10min) B	.50						-	-	-	
	7:48	HS(10min) A	.50						-	-	-	
	7:50	GL (30min) A	1						-	-	-	
	7:52	8:20	C-(30min) A						+	+	+	
	7:54	8:14	HS(10min) B	.25					-	-	-	
	8:02	8:22	GL(20min) B	2					-	-	-	Punta caída
	8:04	8:34	PH(30min) A	9					-	-	-	
	8:06	8:13	HS(30min) B	.75					+	+	+	Contaminado SA
	8:07	8:17	HS(10min) A	.25					+	+	+	
	8:11	8:21	GL(20min) A	3					-	-	-	
	8:13	8:33	PH(30min) A	6					-	-	-	
	8:16	8:36	PH(30min) B	6					-	-	-	
	8:19	8:39	PH(30min) B	3					-	-	-	
	8:24	8:54	PH(30min) A	3					-	-	-	
	8:25	8:55	PH(30min) B	9					-	-	-	
	8:27		C+(AUTOCL) A						-	-	-	
	8:29	8:49	GL(20min) B	1					-	-	-	

Anexo 9. Resultados de los ensayos etapa 5

FECHA	HORA 1	HORA 2	MÉTODOS	S	S.M.	PULIDO	TIO	BHI	TYS208		A/SL	OBS. GENER.
									24 h	48h		
11-04-15 (5)	15:05	15:35	PH(30min) A	3					-	-	-	
	15:07	15:27	GL(20min) A	1					-	-	-	
	15:10	15:20	HS(10min) A	.25					-	-	-	
	15:12	15:22	GL(20min) B	3					-	-	-	
	15:14		C+(AUTOCL) A						-	-	-	
	15:15	15:35	GL(20min) A	2					-	-	-	
	15:17	15:47	PH(30min) A	6					-	-	-	
	15:19	15:49	C-(10min) B						+	+	+	
	15:23	15:33	HS(10min) B	.25					-	-	-	
	15:25	15:35	HS(10min) B	.75					-	-	-	
	15:29	15:49	GL(20min) B	2					-	-	-	
	15:30	16:00	PH(30min) B	6					-	-	-	Punta caída
	15:32	15:42	HS(10min) A	.75					-	-	-	
	15:38	15:48	HS(10min) A	.50					-	-	-	
	15:41	16:11	PH(30min) B	3					-	-	-	+ 6min
	15:43		C+(AUTOCL) B						-	-	-	
	15:46	16:16	GL(20min) B	1					-	-	-	
	15:52	16:22	PH(30min) B	9					-	-	-	
	15:53	16:03	HS(10min) B	.50					-	-	-	
	15:55	16:15	GL(20min) A	3					-	-	-	
15:57	16:27	PH(30min) A	9					-	-	-		
16:59	16:29	C-(30min) A						+	+	+		

Anexo 10. Resultados de los ensayos etapa 6

FECHA	HORA 1	HORA 2	METODOS	%	S.M.	PULIDO	TTO	BHI	TYSZOB		A/SL	OBS. GENER
									24 h	48h		
<b>15-04-15</b>	11:53	12:03	HS(10min) 1	.25								
(6)	11:54	12:04	HS(10min) 2	.25					-	-	-	
	11:56	12:06	HS(10min) 3	.25					-	-	-	
	11:58	12:08	HS(10min) 4	.25					-	-	-	
	12:00	12:10	HS(10min) 5	.25					-	-	-	
	12:01	12:11	HS(10min) 6	.25					-	-	-	
	12:05	12:15	HS(10min) 7	.25					-	-	-	
	12:07	12:17	HS(10min) 8	.25					-	-	-	
	12:10	12:20	HS(10min) 9	.25					-	-	-	
	12:12	12:22	HS(10min) 10	.25					-	-	-	
	12:17	12:27	HS(10min) 1	.50					-	-	-	
	12:19	12:29	HS(10min) 2	.50					-	-	-	
	12:21	12:31	HS(10min) 3	.50					-	-	-	
	12:25	12:35	HS(10min) 4	.50					-	-	-	
	12:26	12:36	HS(10min) 5	.50					-	-	-	
	12:31	12:41	HS(10min) 6	.50					-	-	-	
	12:33	12:43	HS(10min) 7	.50					-	-	-	
	12:34	12:44	HS(10min) 8	.50					-	-	-	
	12:38	12:48	HS(10min) 9	.50					-	-	-	
	12:40	12:50	HS(10min) 10	.50					-	-	-	
	12:42	12:52	HS(10min) 1	.75					+	+	+	
	12:48	12:58	HS(10min) 2	.75					-	-	-	
	12:50	1:00	HS(10min) 3	.75					-	-	-	
	12:53	1:03	HS(10min) 4	.75					-	-	-	
	12:55	1:05	HS(10min) 5	.75					-	-	-	
	12:57	1:07	HS(10min) 6	.75					-	-	-	
	12:59	1:09	HS(10min) 7	.75					-	-	-	
	1:02	1:12	HS(10min) 8	.75					-	-	-	
	1:05	1:15	HS(10min) 9	.75					-	-	-	
	1:07	1:17	HS(10min) 10	.75					-	-	-	
	1:10	1:30	GL(20min)A	2					-	-	-	
	1:12	1:32	GL(20min)B	2					-	-	-	
	1:14	1:44	C-(30min)A						+	+	+	
	1:16	1:46	C-(30min)B						+	+	+	

Anexo 11. Resultados de los ensayos etapa 7

FECHA	HORA 1	HORA 2	MÉTODOS	%	S.M.	PULIDO	TTO	BHI	TYS20B		A/SL	OBS. GENER
									24 h	48h		
20-04-15	11:13	11:23	HS(10min) 1	.25					-	-	-	
(?)	11:16	11:46	C-(30min) B						+	+	+	
	11:17	11:27	HS(10min) 3	.25					-	-	-	
	11:19	11:29	HS(10min) 2	.50					-	-	-	
	11:22	11:42	GL(20min) A	.2					-	-	-	
	11:25	11:35	HS(10min) 10	.25					-	-	-	
	11:26	11:36	HS(10min) 5	.75					-	-	-	
	11:28	11:38	HS(10min) 5	.25					-	-	-	
	11:31	11:41	HS(10min) 4	.25					-	-	-	
	11:33	11:43	HS(10min) 6	.25					-	-	-	
	11:38	11:48	C-(30min) A						+	+	+	
	11:46	11:56	HS(10min) 6	.50					-	-	-	
	11:50	12:10	GL(20min) B	.2					-	-	-	
	11:52	12:02	HS(10min) 9	.25					-	-	-	
	11:54	12:04	HS(10min) 8	.25					-	-	-	
	11:55	12:05	HS(10min) 4	.50					-	-	-	
	11:58	12:08	HS(10min) 5	.50					-	-	-	
	11:59	12:09	HS(10min) 7	.25					-	-	-	
	12:01	12:11	HS(10min) 9	.50					-	-	-	
	12:06	12:16	HS(10min) 2	.25					-	-	-	
	12:12	12:22	HS(10min) 6	.75					-	-	-	
	12:14	12:24	HS(10min) 7	.50					-	-	-	
	12:18	12:28	HS(10min) 3	.75					-	-	-	
	12:19	12:29	HS(10min) 4	.75					-	-	-	
	12:21	12:31	HS(10min) 7	.75					-	-	-	
	12:23	12:33	HS(10min) 10	.50					-	-	-	
	12:25	12:35	HS(10min) 3	.50					-	-	-	
	12:27	12:37	HS(10min) 2	.75					-	-	-	
	12:31	12:41	HS(10min) 8	.75					-	-	-	
	12:35	12:45	HS(10min) 1	.50					-	-	-	
	12:38	12:48	HS(10min)9	.75					-	-	-	
	12:40	12:50	HS(10min)1	.75					-	-	-	
	12:42	12:52	HS(10min)10	.75					-	-	-	
	12:44	12:54	HS(10min)8	.50					-	-	-	

Anexo 12. Resultados de los ensayos etapa 8

FECHA	HORA 1	HORA 2	MÉTODOS	%	S.M.	PULIDO	TTO	BHI	TYS20B		AISL.	OBS. GENER.
									24 h	48h		
24-04-15	8:14	8:24	HS(10min) 5	.25					-	-	-	
(8)	8:17	8:27	HS(10min) 8	.75					+	+	+	
	8:19	8:29	HS(10min) 3	.25					-	-	-	
	8:20	8:30	HS(10min) 2	.25					-	-	-	
	8:22	8:32	HS(10min) 8	.25					-	-	-	
	8:24	8:34	HS(10min) 4	.25					-	-	-	
	8:26	8:36	HS(10min) 6	.25					-	-	-	
	8:28	8:38	HS(10min) 2	.50					-	-	-	
	8:31	8:41	HS(10min) 1	.50					-	-	-	
	8:33	8:43	HS(10min) 3	.50					+	+	+	
	8:36	8:46	HS(30min) 5	.75					-	-	-	
	8:38	8:48	HS(10min) 1	.75					-	-	-	
	8:40	8:50	HS(10min) 10	.75					-	-	-	
	8:42	8:52	HS(10min) 4	.75					-	-	-	
	8:45	8:55	HS(10min) 2	.75					-	-	-	
	8:46	8:56	HS(10min) 9	.75					-	-	-	