

Esterilización con nanotecnología en Odontología

Nanotechnology Sterilization in Dentistry

Basado en la investigación:

“Eficacia del esterilizante en frío Éviter, en cepas de importancia odontológica”.

Based on research:

“The effectiveness of cold sterilant Éviter in bacterial strains of importance in dentistry”.

Uriel David Castro Balleza, Universidad Tecnológica de México, México, davidballeza@gmail.com
María Guadalupe Flores Luna, Universidad Tecnológica de México, México, mgflolun@mail.unitec.mx
Javier García Hernández, Universidad Tecnológica de México, México, jgarciah@mail.unitec.mx
Sandra Laura Alavez Rebollo, Universidad Tecnológica de México, México, sandra_biol_uni@hotmail.com

RESUMEN

Objetivo: El objetivo de esta investigación fue valorar la eficacia del activo Nbelyax del esterilizante en frío Éviter™ con presencia de nanotecnología en tres diferentes cepas bacterianas que son de importancia en el sector odontológico: E. faecalis, S. aureus y Neisseria sp. Materiales y métodos: se realizó un estudio experimental, observacional, cualitativo empleando las tres cepas. Se preparó el producto esterilizante Éviter a una dilución de 1:20. En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocaron 99 mL del producto preparado, donde se inoculó cada cepa bacteriana, se dejó en contacto a dos tiempos diferentes: 5 y 30 minutos. Posteriormente se hizo el vaciado en placa de alicuota de 0,1 mL en 18 mL de soya tripticasa por cada caja de Petri, se incubó 48 horas a 37 °C, y se montó el experimento por duplicado. Para el análisis de resultados se utilizó el programa estadístico SPSS versión 20.0 aplicando la prueba estadística McNemar. Resultados: mostraron que después de 5 minutos de contacto con el esterilizante en frío Éviter, las cepas E. faecalis y S. aureus presentaron desarrollo bacteriano; sin embargo, Neisseria sp. no mostró desarrollo. Las tres cepas bacterianas después de 30 minutos de contacto no presentaron desarrollo colonial. Al aplicarse la prueba estadística McNemar no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$). Con la muestra y metodología usada, se observó que el esterilizante quirúrgico en frío Éviter fue eficaz para eliminar los microorganismos de prueba en 30 minutos.

PALABRAS CLAVE

Nanotecnología, nanodontología, esterilizante en frío, Nbelyax, Éviter.

ABSTRACT

Purpose: The goal of this research was to evaluate the effectiveness of the active Nbelyax cold sterilant (Éviter™) with nanotechnology in three different bacterial strains of great importance in dentistry: E. faecalis, S. aureus and Neisseria sp. Materials and Method: An experimental, observational and qualitative study using three different bacterial strains was performed. The sterilant product was prepared at 1: 20 dilution. Then, in a 250 mL Erlenmeyer flask were poured 99 mL of the sterilant prepared, each bacterial strain was inoculated in same flask, allowing two different contact times: 5 and 30 minutes. Subsequently, an aliquot of 0.1 mL in 18 mL of trypticase soy per petri plaque was done using pour plate technique and incubated 48 hours at 37 °C. The experiment was done by duplicate. The SPSS statistical program version 20.0 was used, applying Mcnemar statistical test to analyze the results. Results: This research showed that after 5 minutes of contact with the cold sterilant Éviter, E. faecalis and S. aureus strains had bacterial growth, however Neisseria sp. did not have bacterial colonies growth. The three bacterial strains after 30 minutes of contact did not show colonies growth. McNemar test did not show significant statistical differences ($p \geq 0.05$). Conclusions: With the sample and

methodology used, we observed that the recommended contact time of the cold sterilant Éviter product with nanotechnology to eliminate the microorganism tasted was 30 minutes.

KEYWORDS

Nanotechnology, nanodentistry, cold sterilizing, Nbelyax, Éviter,

Recibido: 19 noviembre, 2015

Aceptado para publicar: 12 de mayo 2016

INTRODUCCIÓN

Los avances tecnológicos han ido revolucionando campos como la agricultura, con la invención de máquinas capaces de sustituir la mano de obra, y así se ha podido tener un producto final en menos tiempo y con menor número de personas. En astronomía se ha logrado la observación y el estudio de nuevos planetas y con la ayuda de los avances aeroespaciales se es capaz de llegar a ellos, cuando antes parecía imposible e inimaginable. En el sector salud, avances como los antibióticos revolucionaron al mundo e hicieron posible el aumento del nivel de vida media. Sin embargo, aún tenemos un escenario igual de increíble, algo invisible para nosotros, algo que nos es difícil observar, un escenario donde la ciencia y tecnología están teniendo grandes contribuciones, un universo mucho más pequeño y que permanece de cierta forma oculto, invisible para el ojo humano pero con gran impacto en nuestras vidas, a pesar de no ser tangible ni observable tan fácilmente.

Dentro de estos avances ha surgido la nanotecnología. Esta es la encargada de englobar cualquier rama de la tecnología capaz de manipular escalas pequeñas con longitudes comprendidas entre 1 nm y 100 nm como estructuras moleculares y sus átomos. Lo conocemos con el término "nano": lo infinitamente pequeño, lo enano, lo diminuto (Velázquez, 2011). Del latín nanus que significa una mil millonésima parte.

Es necesario estudiar la materia a escalas tan pequeñas, ya que posee diferente comportamiento que depende del tamaño, y esto sucede debido a que las partículas que son menores a las longitudes características asociadas a un fenómeno en particular frecuentemente manifiestan nuevas propiedades físico-químicas. Se ha observado que la estructura electrónica, la conductividad, la reactividad, la temperatura de fusión y las propiedades mecánicas varían cuando las partículas alcanzan tamaños inferiores a cierto valor crítico. Por lo tanto, los científicos lo utilizan para la creación de estructuras, materiales y sistemas con propiedades únicas.

La medicina, gracias a la nanotecnología, es capaz de desarrollar nuevos materiales para injertos, nuevas formas de administrar medicamentos, biosensores, entre otras. En la Odontología, rama de la Medicina, también se han desarrollado avances importantes, tal es el interés de las aplicaciones de la nanotecnología en Odontología que ha surgido un nuevo campo llamado nanodontología, en el cual tenemos avances en los materiales de obturación como la resina, utilizando partículas de nanorrelleno, adhesivos con nanopartículas. Existen aplicaciones concretas como la de las nanopartículas de plata que se utilizan como una opción más segura para obturaciones dentales. Tenemos avances aplicando nanopartículas que controlan la señalización del dolor y que incrementan la rami-

ficación de las terminaciones nerviosas al utilizar nanoesferas que contienen factores de crecimiento que favorecen la regeneración del tejido nervioso. Contamos con avances en Ortodoncia utilizando alambres de acero inoxidable que posee nanotecnología. En cuanto a tejido óseo, tenemos nanopartículas de hidroxiapatita para tratar los defectos óseos. En rehabilitación protésica, existen materiales de impresión como el polivinil siloxano al que le fue añadido nanorrellenos. Pensando en un futuro no muy lejano, se encuentran en estudio varios posibles avances como: los nanorrobots en Ortodoncia podrían manipular directamente los tejidos periodontales, permitiendo la reparación rápida con el reposicionamiento rápido del diente sin causar dolor, reposicionamiento vertical y rotación de minutos a horas; nanohueso que simula la composición y estructura ósea, implantes inteligentes capaces de identificar el tipo de tejido que se está formando sobre ellos para liberar factores de crecimiento y favorecer el desarrollo tisular; además la adición de depósitos nanométricos de hidroxiapatita y fosfato de calcio para la formación de osteoblastos. Para la remineralización de lesiones cariosas tempranas, pastas de dientes con carbonato de calcio a nanoescala podría remineralizar las lesiones. En la Universidad de Monterrey, Nuevo León, para la remineralización del esmalte sin necesidad de fluoruros, se encuentra en estudio un nanobiorremineralizante del esmalte dental mediante un biomaterial de

secuencia peptídica. Odontólogos podrán inducir anestesia mediante sustancias coloidales con millo-nes de partículas nanométricas. Además, partiendo de este mismo principio, nanorrobots podrán obstruir los túbulos dentinarios con biomateriales específicos para tratar la hipersensibilidad.

En esta misma ciencia, uno de sus principales objetivos es el control de los microorganismos causantes de diversas enfermedades que desde siglos pasados han azotado a las poblaciones como la viruela o el virus de influenza con rápida mutación por fácil intercambio ge-nético.

Uno de los métodos utilizados para el control de los microorganismos y así la reducción de las infecciones son los procesos de esterilización. Desde 1839 y 1877 (Justin von Liebig, Joseph Lister y Louis Pasteur) se realizan investigaciones y avances en la utilización de antisépticos y desinfectantes, así como procesos para que permitieran reducir el número de muertes por infección. Desde ese entonces los antisépticos y desinfectantes se han utilizado en gran medida y hoy en día existen métodos físicos y químicos para eliminar los microorganismos de los objetos inanimados y seres vivos, lo que ha generado grandes progresos en el control de infecciones.

Los procesos de esterilización o desinfección son llevados a cabo diariamente en laboratorios, hospitales y consultorios odontológicos, donde fallas en estos procedimientos, aumentan la morbimortalidad de los pacientes.

La esterilización es el proceso que destruye toda forma de vida microbiana. Un objeto estéril está libre de microorganismos vivos, incluyendo sus formas de resistencias (esporas), donde un objeto está

estéril o no lo está, sin puntos medios.

Por décadas se han utilizado diversos agentes químicos para desinfectar superficies y esterilizar objetos en hospitales y consultorios dentales, el uso de soluciones esterilizantes en frío como: peróxido de hidrógeno, glutaraldehído, alcohol etílico, hipoclorito de sodio, amonio cuaternario, benzaldehído, entre otras. La nanotecnología ha tenido avances significativos en los procesos de desinfección, limpieza y esterilización. Se han desarrollado soluciones esterilizantes a base de nanotecnología, utilizando aceites nanoemulsificantes en gotas para bombardear patógenos, y se han obtenido propiedades hipoalérgicas y con menor riesgo al ser humano y su entorno, y algunos han erradicado el virus del VIH con éxito.

La firma Gresmex, en México, desarrolló una nanopartícula patentada y nombrada Nbelyax. La nanobiomolécula es nombrada así por la derivación del nombre maya de la diosa de la salud.

La nanopartícula del activo Nbelyax, es un catalizador bioselectivo programado para detectar, seleccionar y neutralizar todo tipo de virus, bacterias, hongos, esporas, tripanosomas y micobacterias (amplio espectro) mediante la desarticulación de su cadena de ADN o ARN. La nanopartícula mide tan solo 2 nm (Estudio realizado en la Universidad Autónoma de Nuevo León, utilizando microscopía electrónica de transmisión para la medición de la partícula), lo que le ha dado la capacidad de penetrar a la cápside de los virus o a las membranas celulares bacterianas o fúngicas, y llegar a su material genético para su interacción. Una vez en contacto con el material genético de los microorganismos, la partícula, siendo del tamaño del

diámetro de las hélices helicoidales del ADN o ARN, actúa en la composición química rompiendo las cadenas carbono-carbono y carbono—nitrógeno, y esto representa la destrucción total del microorganismo (Un virus oscila entre los 25 a 420 nm, una bacteria puede medir de 500 hasta 5000 nm).

Después de la creación de la penicilina por Alexander Fleming, las bacterias iniciaron un proceso de resistencia ante el medicamento con la creación de enzimas que inhiben su acción. El mal uso de los antibióticos y desinfectantes ha provocado dicha resistencia a cualquier tipo de tratamiento. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), “El mundo se dirige a una era post-antibióticos en la que infecciones comunes y lesiones que por décadas han sido tratables y podrían volver a ser letales”. Los microorganismos no hacen intercambio genético con la partícula Nbelyax, lo que hace imposible que estos microorganismos muten o generen resistencia a dicho activo.

La partícula posee propiedades de bioselectividad que actúan directamente sobre la información genética de los microorganismos, sin dañar al ADN humano (analizado por varias pruebas de toxicidad por el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias), aunque la partícula no daña células sanas aún en concentraciones 1000 veces más altas que otros productos; no altera la química sanguínea, no causa daños hepáticos y no presenta daños oculares. No es carcinogénica ni tóxica, por lo que es completamente inocua.

La partícula fue analizada, y se puso a prueba por medio de su aplicación directa a células extraídas del organismo humano. El estudio mostró que la nanobio-partícula no tuvo afecciones a las

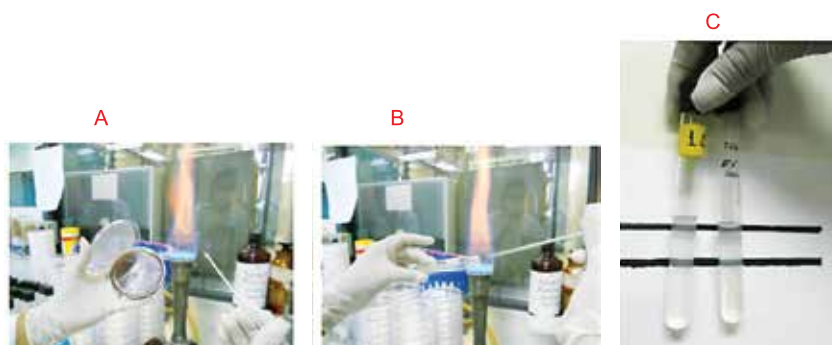
cadenas de ADN humano por sus características de bioselectividad (Estudio realizado en el hospital 20 de Noviembre, del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental, observacional, analítico y cuantitativo en la Universidad Tecnológica de México empleando cepas *E. faecalis*, *S. aureus* y *Neisseria sp.* en el período comprendido entre junio/julio de 2013.

Las cepas fueron proporcionadas por el cepario de la Facultad de Química de la UNAM, después fueron entregadas al Laboratorio de Bacteriología Médica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.

Para la recuperación y confirmación de la pureza fueron sembradas *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) en gelosa infusión cerebro corazón y *Neisseria sp.* en gelosa sangre de cordero al 5%. Las cepas crecieron en los diferentes medios a 37° por 24 horas, y se obtuvo el morfotipo colonial esperado.



A) Asa de alambre tocando superficie de cultivo B) Transferencia a tubo con 4-5 mL de solución salina C) Tubo 1 del nefelómetro de McFarland (3×10^8 UFC/mL)

La preparación de la solución del esterilizante quirúrgico frío fue bajo las especificaciones del producto; 50 mL del producto en 1000 mL de agua estéril. Figura 1.

De la placa de agar, se seleccionó de tres a cinco colonias bien aisladas y con el mismo tipo morfológico. La parte superior de cada colonia se tocó con un asa de alambre y se transfirió a un tubo que contenía 4-5 mL de solución salina, se ajustó la turbiedad al tubo 1 del nefelómetro de McFarland (3×10^8 UFC/mL) frente a una cartulina con fondo blanco y rayas negras que se utilizó de contraste.

Se transfirió en un matraz Erlenmeyer con capacidad de 250 mL, 99 mL del producto ya preparado con base en lo especificado por el fabricante (50 mL del esterilizante + 1000 mL de agua). Se inocularon los tres matraces en forma individual con cada uno de los microorganismos de prueba en el centro de la superficie del líquido, y se evitó tocar con la pipeta el cuello o las paredes del matraz durante la inoculación. Dejando un tiempo de contacto de 5 minutos y 30 minutos, se transfirió 1 mL a un tubo de ensayo que contenía 9 mL de agua estéril, se mezcló y se depositó una alícuota de 0,1 mL por vaciado en placa. Experimento por duplicado. La siembra por vaciado en placa se realizó con 18 mL de agar soya tripticasa por caja Petri, se homogeneizó y se dejó solidificar a temperatura ambiente, posteriormente se invirtieron las placas y se incubaron durante 48 h a 37 °C, pero el experimento se montó por duplicado.

RESULTADOS

Después de cinco minutos de contacto con el esterilizante en frío, las cepas *E. faecalis* y *S. aureus* presentaron desarrollo; sin embargo, *Neisseria sp.* no presentó desarrollo. Las tres cepas bacterianas después de 30 minutos de contacto no mostraron crecimiento colonial.



Figura 1. Preparación del esterilizante quirúrgico frío con agua estéril.



A) Inoculación de los matraces con los microorganismos de prueba.



B) Matraces inoculados con tiempo de contacto de 5 y 30 min.



C) Tubo de ensayo con 1 mL del inóculo en 9 mL de agua estéril.



D) Depósito de alícuota de 0,1 mL por vaciado en placa.



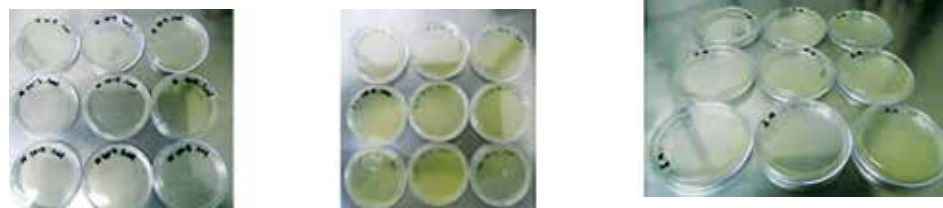
A) Siembra de cultivo en agar soya tripticaasa.



B) Homogenización y solidificación a temperatura ambiente para su incubación.



Resultados a los 5 min de exposición del esterilizante.



Resultados a los 30 min de exposición del esterilizante.

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 20.0 aplicando la prueba estadística McNemar para analizar los resultados. Al aplicarse la prueba estadística, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0.05$).

DISCUSIÓN

Estamos expuestos a microorganismos todo el tiempo en nuestra práctica odontológica. Las infecciones cruzadas a las que estamos sometidos, nosotros y nuestros pacientes en cada consulta odontológica son de importancia internacional y es un problema global. Las infecciones cruzadas las podemos definir como la transferencia de un agente infeccioso de un individuo a otro, en un ambiente clínico.

En la India, se realizó un estudio por medio del laboratorio Bhopal, donde se evaluaron tres soluciones de esterilización en frío. En los resultados mencionan que tanto el peróxido de hidrogeno, glutaraldehido como el alcohol etílico solo redujeron significativamente la carga bacteriana en los instrumen-

tos a los 30 min de exposición, pero no los eliminaron totalmente.

En otro estudio realizado en São Paulo, se realizaron 250 piezas de acrílico contaminadas por cinco cepas bacterianas, en las cuales *S. aureus* y *E. faecalis* fueron cepas en estudio. Se sumergieron en 1 y 2% de hipoclorito de sodio y 2% de glutaraldehido a 5, 10 y 15 min. Se encontró que *E. faecalis* fue la más difícil de eliminar en un proceso de desinfección, donde a los 15 min fueron más eficaces el 1% de hipoclorito y el 2% de glutaraldehido, respectivamente.

Un estudio hecho para la esterilización de los conos de gutapercha posterior al sacado del empaque nuevo en la Facultad de Odontología de la Universidad de Ankara, Turquía, utilizó soluciones de hipoclorito de sodio al 2,5% y glutaraldehido al 2% como medio de esterilización de la cepa *Bacillus subtilis* ATCC 6633, que al no ser la misma cepa que nosotros utilizamos, también se encuentra en cavidad oral y muestra que el glutaraldehido no fue capaz de eliminar la cepa, incluso a los 15 minutos de contacto.

En nuestra investigación las tres cepas en estudio fueron seleccionadas debido a su participación en diferentes infecciones de importancia en la cavidad bucal: *S. aureus* es una de las bacterias utilizadas para evaluar la eficacia de cualquier esterilizante debido a su alta resistencia y actualmente por su difícil control; además, es una de las principales bacterias asociadas a infecciones piógenas cervicofaciales. *E. faecalis* es una bacteria que se encuentra en un alto porcentaje de los tratamientos fracasados en endodoncia, también es resistente y *Neisseria sp.* se encuentra presente en alto porcentaje en la placa dentobacteriana; además, está presente en las infecciones bucodentales como abscesos, enfermedad periodontal, y ha sido observado en alto nivel como productor de ácido láctico en pH bajo relacionado con la etiopatogenia de caries.

Una limitante de nuestro estudio fue haber realizado la determinación de eficacia del esterilizante en frío. Evitar solo en dos tiempos, 5 y 30 minutos. Sería conveniente realizar una nueva investigación

incluyendo 10 y 15 minutos como tiempo de contacto, y aumentar el número de muestras para obtener valores estadísticamente significativos.

CONCLUSIONES

Con la muestra y la metodología utilizada se observó que el tiempo de contacto recomendado del esterilizante quirúrgico en frío, para eliminar los microorganismos de prueba, fue de 30 minutos. Se observó que el esterilizante quirúrgico en frío Éviter fue eficaz para eliminar los microorganismos de prueba en 30 minutos.

El esterilizante quirúrgico en frío es recomendado para eliminar microorganismos en la práctica odontológica en un tiempo corto en comparación con otras soluciones, además de utilizar partícula nanométrica y reducir significativamente el riesgo de daño a los tejidos del ser humano. ■■■

Uriel David Castro Balleza*
davidballeza@gmail.com
María Guadalupe Flores Luna*
mgflolun@mail.unitec.mx
Javier García Hernández*
jgarciah@mail.unitec.mx
Sandra Laura Alavez Rebollo*
sandra_biol_uni@hotmail.com.
Facultad de Odontología,
Universidad Tecnológica de México.

BIBLIOGRAFÍA

Velázquez AM. (2011) *Una revolución en miniatura: Nanotecnología al servicio de la humanidad*. España: Universitat de València; pp. 176.

Poole CP, Owens FJ. (2007) *Introducción a la nanotecnología*. España: Editorial Reverte; pp. 417.

Lechuga LM. (2010) *Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud*. *Biología aplicada a la salud humana*; 9: 98-112.

Nagpal Archana, Kaur Jasjeet, Sharma Suchita, Bansal Arti, Sachdev Priyanka; (2011) *Nanotechnology – the era of molecular dentistry*; *Indian Journal of Dental Science*; December; 3(5).

Dwivedi S, Dwivedi CD, Chandra A, Sharma N. (2013) *Nanotechnology boon or bane for restorative dentistry; A review*. *International Journal of Engineering Science Invention*; 2: 01-05.

Martínez HR, Abdala HM, Treviño E, Garza G, Pozas A, Rivera G. (2011) *Application of nanotechnology in dentistry: Nano-Dentistry*. *Rev. CES Odont*; 24(2), 87-91.

Neetha J. Shetty, P. Swati, K. David. (2013) *Nanorobots: Future in dentistry*. *The Saudi Dental Journal*; 25: 49–52.

Abiodun-Solanke IME, Ajayi DM, Arigbede AO. (2014) *Nanotechnology and its application in dentistry*. *Annals of Medical Health & Sciences Research*; 4: 171–177.

Kumar SR, Vijayalakshmi R. (2006) *Nanotechnology in dentistry*. *Indian J. Dent. Res.*, 17 pp. 62–69.

Robert A, Freitas JR. (2010) *Nanodentistry: Cover Story*. *JADA*; 131:1559-1565.

http://www.hospitalneuquen.org.ar/wp-content/uploads/06/HIGIENE_HOSPITALARIA_actualizada1.pdf

http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_14_Limpieza__desinfecci%C3%B3n.pdf

Vignoli R. *Esterilización, desinfección y antisepsia*. *Temas de bacteriología y virología médica*. 2ª ed. Uruguay: Ed. Montevideo. Oficina del libro FEFMUR; Vol. 1, pp. 609-629.

<http://www.eviter.mx>

<http://bmeditores.mx/wp-content/uploads/2015/04/avicultores-104.pdf>

Khan AA, Javed O, Khan M, Mehboob B, Baig S. (2012) *Cross infection control*. *Pakistan Oral and Dental Journal*. Apr; 32:31.

Ganavadiya R, Chandra Shekar BR, Saxena V, Tomar P, Gupta R, Khandelwal G. (2014) *Disinfecting efficacy of three chemical disinfectants on contaminated diagnostic instruments: A randomized trial*. *J Basic Clin Pharma*; 5: 98-104.

Orsi IA, Junior AG, Villabona CA, Fernandes FHCN, Ito IY. (2011) *Evaluation of the efficacy of chemical disinfectants for disinfection of heat-polymerised acrylic resin*. *Gerodontology*; 28: 253-257.

Özalp N, Ökte Z, Özcelik B. (2006) *The Rapid Sterilization of Gutta-Percha Cones with Sodium Hypochlorite and Glutaraldehyde*. *Journal of Endodontics*; 32: 1202–1204.

Erin L. Gross, Eugene J. Leys, Stephen R. Gasparovich, Noah D. Firestone, et al. (2010) *Bacterial 16S Sequence Analysis of Severe Caries in Young Permanent Teeth*. *J Clin Microbiol*. Nov; 48(11): 4121–4128.

Saunders KA, Greenman J, McKenzie C. J. (2000) *Ecological effects of triclosan and triclosan monophosphate on defined mixed cultures of oral species grown in continuous culture*. *Antimicrob Chemother*. Apr; 45(4): 447-52.