

Descontaminación de microorganismos de la superficie de titanio III[®], con clorhexidina y luz ultravioleta

Decontamination of microorganisms from a titanium surface with chlorhexidine and uv light

Descontaminação de microrganismos da superfície de titânio III[®], com clorexidina e luz ultravioleta

Alejandro Pablo Pletickosich Picon 
Vianne Diana Huamán¹

¹ viannedia@hotmail.com

Endereço para correspondência:

Vianne Diana Huamán
Centro Dental Vittadent
Calle Ayacucho 230 Of. 201
Cusco - Peru
E-mail: viannedia@hotmail.com

Recebido: 08.09.2020

Modificado: 30.09.2020

Aceito: 07.11.2020

RESUMEN

El propósito del estudio fue determinar la descontaminación de microorganismos de la superficie de titanio III[®] con clorhexidina y luz ultravioleta, expuestos a: Escherichiacoli, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumoniae y Candida albicans, presentes en las periimplantitis, para lo cual se siguió un diseño experimental in vitro. La muestra estuvo compuesta por clorhexidina al 0.5%, luz ultravioleta a 30 cm = 11.28 m watts.cm⁻².seg⁻¹ y veinticinco discos de titanio tipo III[®] mecanizado con una superficie de 70.65 mm², e preparó saliva artificial y se llevó a cabo con instrumentos estériles sobre medios de cultivo estériles.

PALABRAS CLAVE: Descontaminación. Clorhexidina. Rayos ultravioleta.

ABSTRACT

The purpose of the research was to determinate the process of decontamination of microorganisms on the titanium III[®] surface with chlorhexidine and ultraviolet (UV), exposed to Escherichiacoli, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumonia and Candida albicans, present in the peri-implantitis. To reach that aim was applied an in vitro experimental test. The sample of that test was composed by 0.5% chlorhexidine solution, ultraviolet (UV) light at 30 cm = 11.28 m watts.cm⁻².seg⁻¹ and twenty-five processed titanium III[®] discs with a surface of 70.65 square millimeters. This investigation was carried out with artificial saliva and sterile instruments on a sterile culture.

KEYWORDS: Decontamination. Chlorhexidine. Ultraviolet rays.

RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a descontaminação de microrganismos da superfície do titânio III^o com clorexidina e luz ultravioleta, expostos a: *Escherichiacoli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenicans* presente *enebsiella* e *Klebsiella pyogenes*, *Klebsiella pneumoniaebidae*, para o qual foi seguido um desenho experimental in vitro. A amostra consistia em clorexidina 0.5%, luz ultravioleta a 30 cm = 11.28 m watts. cm⁻².seg⁻¹ e vinte e cinco discos de titânio tipo III^o usinados com superfície de 70.65 mm², e saliva artificial preparada e transportada realizada com instrumentos estéreis em meios de cultura estéreis.

PALAVRAS-CHAVE: Descontaminação. Clorexidina. Raios ultravioleta.

INTRODUCCIÓN

La clorhexidina 0.5% y la radiación ultravioleta en la banda UV (100-280 nm) tiene un fuerte efecto germicida que puede aprovecharse en la eliminación de microorganismos de la superficie de titanio, ambientes específicos, utensilios de trabajo y sistemas líquidos. Con un equipo experimental, diseñado y construido con mano de obra local, y cuya fuente de radiación (luz ultravioleta), está formada por una lámpara de descarga catódica de 30 W, sin recubrimiento de fósforo con acción germicida del 80%, se evalúa la influencia de las radiaciones ultravioletas en la variación de carga microbiana, así como la acción de la clorhexidina. El objetivo perseguido fue: determinar la descontaminación de microorganismos de la superficie de titanio III®, con clorhexidina y luz ultravioleta. Lo que permitió aplicar el desarrollo de esta técnica de laboratorio y aportar desde lo científico, tecnológico, herramientas de transferencia, que permitan la articulación entre el implantólogo y el paciente, de tal manera que se pueda aportar nuevas alternativas que beneficien el desarrollo y cuidado de la salud bucal, de los pacientes portadores de implantes y los casos de periimplantitis. La metodología empleada para analizar la variación microbiológica y fisicoquímica en muestras de titanio III® mecanizado, es irradiar con luz ultravioleta, adoptando un primer intervalo de tiempo, de 10 segundos, luego 20 segundos y 30 segundos respectivamente de exposición, se procede de la misma forma con la clorhexidina. Los valores extraídos de los análisis realizados, fueron tabulados y graficados en función al tiempo de exposición, usando pruebas no paramétricas de Mann Whitney y pruebas de Kruskal-Wallis¹.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño Metodológico

Enfoque de investigación cuantitativo², diseño experimental in vitro realizado en el Laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Andina del Cusco y Laboratorio de Microbiología del Campus de Bellvitge de la Universidad de Barcelona., tipo de diseño de la investigación longitudinal, con muestreo no probabilístico y la muestra conformada por: clorhexidina al 0.5%; luz ultravioleta de 253.7 nanómetros; 25 discos mecanizados de titanio III®, siete microorganismos: *Escherichia coli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*³, se utilizaron condiciones ambientales estériles durante el proceso, para evitar conta-

minaciones durante el manejo del instrumental y de los medios de cultivo. Preparación de medios sólidos en placa: Trypticase Soja Agar (TSA) para el crecimiento del microorganismo *Candida albicans*. Se pesaron en una balanza digital las cantidades de: triptona 15 g, soja 5 g, cloruro sodico 5 g, agar 15 g y se ajustó a un pH 7.3 Para preparar un litro de medio. Se autoclavó a 120°C durante 20 minutos. Se introdujo en estufa a 50°C, durante 30 minutos para evitar la solidificación. Se plaqueó el medio en placas Petri estériles dentro de una campana de flujo laminar, flameando bien la boca de la botella para evitar contaminaciones. Las placas Petri se marcaron con el medio, nombre del microorganismo a sembrar, fecha y nombre del operador. Una vez que el medio solidifico, se taparon y se almacenaron a 4°C. Preparación del medio líquido caldo: Brain Heart Broth (TSB) para el crecimiento del microorganismo. *Streptococcus mutans*. Se pesaron en una balanza digital las cantidades de brain heart infusión 17.5 g, peptona 10 g, glucosa 2 g, cloruro sodico 5 g y se ajustó a pH 7.3 Para un litro de medio. Se autoclavó 120°C durante 20 minutos⁴. Se introdujo en estufa a 50°C, por 30 minutos. Se procedió a distribuir el medio en tubos estériles dentro de la campana de flujo laminar, flameando bien la boca de la botella para evitar contaminaciones. Los tubos de ensayo se marcaron con el medio, nombre del microorganismo a sembrar, fecha y nombre del operador. Se taparon los tubos de ensayo y se almacenaron en una nevera a 4°C. Preparación de medios sólidos en placa: tripticase soja agar (TSA) para el crecimiento de los microorganismos: *Escherichia coli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, y *Klebsiella pneumoniae*. Se pesaron en una balanza digital las cantidades de: tripticase soja agar 20 g, extracto de levadura 3 g y glucosa 4 g. Para preparar 500 ml de medio. Se esterilizó en autoclave a 120°C. durante 20 minutos. Se introdujo en estufa a 50°C, durante 30 minutos. Se procedió a distribuir el medio en placas Petri estériles dentro de la campana de flujo laminar, flameando bien la boca de la botella para evitar contaminaciones⁵. Las placas Petri se marcaron con el medio, nombre del microorganismo a sembrar, fecha y nombre del operador. Preparación del medio líquido: trypticase soja caldo (TSB). Para los microorganismos: *Escherichia coli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*. Se pesaron en una balanza digital las cantidades de: tripticase soja caldo 6 g, extracto de levadura 1.2 g y glucosa 1.6 g. Para preparar 200 ml de medio. Se autoclavó a 120°C, durante 20 minutos. Retirado del autoclave, se introdujo en estufa a 50°C, por 30 minutos. Se guarda en nevera a 4°C hasta su utilización⁶. Elaboración de la saliva artificial⁷ enriquecida: se procedió a pesar en balanza digital: fosfato de potasio 0.20 g, cloruro de potasio 1.20 g, tiocianato de potasio 0.33 g, fosfato de sodio 0.26 g, cloruro de sodio 0.70 g, carbonato

de sodio 1.50 g, urea 1.50 g y glucosa 0.5 g, extracto de levadura 0.5 g. En una botella se colocó agua destilada csp. 1000 ml. Luego se añadieron solutos excepto la glucosa, se colocó un imán y se llevó al agitador magnético para su dilución homogénea⁷. Se procedió a etiquetar y autoclavar a 120°C por 15 minutos, dejándolo enfriar, se procedió a flamear el borde del matraz, para añadir a la solución la glucosa, luego se calibró el pH añadiendo base o ácido al volumen mencionado (NaOH 1N y el HCl al 35%)⁸ hasta obtener un pH de 6.7. Enfriada la saliva se conservó en nevera a 4°C hasta su utilización. Se fabricó una caja de madera de 40 cm de largo por 30 cm de alto, pintada de color blanco y en la parte del frontis pusimos una persiana que permitió manipular la colocación y retiro de los discos de titanio motivo del experimento. Se adquirió un fluorescente de luz ultravioleta germicida de 30 cm. de largo, con una radiación de luz ultravioleta de 253.7 nm para un voltaje de 220 v (Philips)⁹ Se incluyó un reloj para controlar el tiempo, un enchufe. Previamente al inicio del experimento se encendía la fluorescente media hora antes para evitar el halo de ozono¹⁰. Se adquirió una forma comercial de digluconato de clorhexidina al 1% (Hibitane 250 ml) se procedió a la dilución de la clorhexidina a 0.5%. En un frasco, se esterilizó agua en un volumen de 100 ml se dejó enfriar y luego se añadió digluconato de clorhexidina en un volumen de 100ml. de tal manera que se obtuvo una solución al 0.5%¹¹⁻¹². Se procedió a envasar y guardar en una nevera hasta su uso. En el laboratorio la Universidad Andina del Cusco y el Laboratorio de Microbiología del Campus de Bellvitge de la Universidad de Barcelona, nos proporcionó una placa de cultivo puro con *Escherichia coli*¹³ y sucesivamente los siguientes microorganismos: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*. Se procedió a colocar en 10 tubos de ensayo 5 ml de TSB como medio de cultivo y en 10 tubos de ensayo saliva artificial como medio de cultivo, a los cuales se los rotuló, con el nombre del medio de cultivo¹⁴, nombre del microorganismo y fecha, luego introducimos un disco de titanio¹⁵⁻¹⁶ en cada tubo de ensayo, a excepción de 04 que fueron marcados como control negativo, en los que no se introdujo el disco de titanio. Con una asa de siembra estéril recogimos una colonia de *Escherichia coli* de la placa de cultivo puro, para inocular el primer tubo de ensayo, luego de esterilizar el asa de siembra y se procedió a repetir el procedimiento con el segundo, tercero, cuatro hasta el veintavo tubo de ensayo. Cuidadosamente en una rejilla porta tubos de ensayo se procedió a separar en 04 grupos los tubos de ensayo: 04 con TSB como medio de cultivo para incubar por 24 horas y 04 tubos con TSB como medio de cultivo para incubar por 48 horas, además, 04 tubos con saliva artificial como medio de cultivo para incubar por 24 horas y 04 tubos con saliva artificial como medio de cultivo para incubar por 48 horas.

Concluida esta siembra y separación en cuatro grupos, se procedió a llevarlos a la estufa para incubar a 37°C con un CO² al 5% por un periodo de 24 ó 48 horas según el grupo. Para ser expuestos primeramente a la clorhexidina y luego se repiten los pasos para 20 tubos de ensayo más, para ser expuestos los discos de titanio al efecto de la luz ultravioleta. Se observaron a las 24 y después a las 48 horas los tubos de ensayo, para comparar algunas características como: el color, la turbidez del medio o el olor, de esta manera cerciorarnos que estamos ante un crecimiento óptimo para continuar con los siguientes pasos, (se retiraron los tubos de ensayo con el control negativo). Se procedió a seleccionar los 04 tubos de ensayo rotulados con TSB, titanio, *Escherichia coli* a 24 horas. Luego se trabajó con los otros 04 tubos rotulados con TSB, titanio, *Escherichia coli* a 48 horas. Para afrontararlos a la clorhexidina. Y de igual forma se procedió con los otros 04 tubos de ensayo rotulados con saliva artificial, titanio, *Escherichia coli* a 24 horas. Luego se trabajó con los otros 04 tubos rotulados con Saliva artificial, titanio, *Escherichia coli* a 48 horas. Para afrontararlos a la clorhexidina. A los 04 primeros tubos de ensayo (24 horas) se le retiraron uno a uno los discos de titanio con una pinza mosquito estéril, para introducirlos en un eppendorf que contenía un volumen de 200 microlitros de clorhexidina al 0.25% por un periodo de tiempo de 10"; 20" y 30" segundos, igual procedimiento se siguió con los 04 tubos de ensayo rotulados con 48 horas. Concluidos los tiempos de exposición a la clorhexidina, se introdujeron los discos uno a uno en cada uno de los eppendorf que contenían 100 microlitros de ringer ¼ cuidadosamente rotulados; para proceder en forma secuencial durante 30" en un agitador, luego 10" en el sonicador, luego 30" en el agitador y final, mente 10 "en el sonicador para favorecer el desprendimiento de los microorganismos. Con el contenido anterior se procedió a realizar diluciones al 1/100; 1/1000 y 1/10000 para realizar la siembra en placa mediante asa de Drigralsky. Luego se procedió a llevar las placas a la estufa para incubar a 37°C con atmósfera de CO² al 5%, por un periodo de 24 ó 48 horas. Tras el tiempo establecido se retiraron las placas para hacer el recuento en Unidades Formadoras de Colonias y registrar en una matriz los datos obtenidos. Luego se hizo la exposición a la luz ultravioleta, procediendo a seleccionar los 04 tubos de ensayo rotulados con TSB, titanio, *Escherichia coli* a 24 horas. Luego se trabajó con los otros 04 tubos rotulados con TSB, titanio, *Escherichia coli* a 48 horas. Para afrontararlos a la luz ultravioleta. Y de igual forma se procedió con los otros 04 tubos de ensayo rotulados con Saliva artificial, titanio, *Escherichia coli* a 24 horas. Luego se trabajó con los otros 04 tubos rotulados con Saliva artificial¹⁷⁻¹⁸, titanio, *Escherichia coli* a 48 horas. Para afrontararlos a la luz ultravioleta. A los 04 primeros tubos de ensayo rotulados con 24 horas, se le retiraron uno a uno los discos de titanio con una pinza mosquito estéril, para introducirlos en la cámara de exposición de

luz ultravioleta por un periodo de tiempo de 10"; 20" y 30" segundos, igual procedimiento se siguió con los 04 tubos de ensayo rotulados con 48 horas. Concluidos los tiempos de exposición a la luz ultravioleta, se introdujeron los discos uno a uno en cada uno de los eppendorf que contenían 100 microlitros de ringer ¼ cuidadosamente rotulados; Para proceder en forma secuencial durante 30" en un agitador, luego 10" en el sonicador, luego 30" en el agitador y final, 85 mente 10" en el sonicador para favorecer el desprendimiento de los microorganismos. Con el contenido anterior se procedió a realizar diluciones al 1/100; 1/1000 y 1/10000 para realizar la siembra de 100 microlitros en placa mediante asa de Drigralsky. Luego se procedió a llevar las placas a la estufa para incubar a 37°C con una atmósfera de CO² al 5%, por un periodo de 24 ó 48 horas. Tras el tiempo establecido se retiraron las placas para hacer el recuento en unidades formadoras de colonias¹⁹⁻²⁰ y registrar en una matriz los datos, luego se procedió de igual forma, que lo descrito anteriormente con: el Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumoniae y Candida albicans.

RESULTADOS

Los resultados del análisis de la prueba de Kolmogorov Smirnov difiere significativamente ($p < 0.05$) de la distribución normal; por lo cual se utilizará la prueba no paramétrica de Mann Whitney en la comparación del efecto de dos atributos y la prueba de Kruskal - Wallis en la comparación de más de dos atributos para medir el efecto descontaminante de superficie de titanio mecanizado tipo III° expuesto a microorganismos entre la aplicación de clorhexidina y luz ultravioleta. Además, se realizó un análisis multivariado en la determinación de factores significativos para la determinación de los posibles factores que contribuyen a la descontaminación de microorganismos.

Tabla 1 - Análisis de bondad de ajuste a la curva normal de Kolmogorov - Smirnov.

Tratamiento	N	Kolmogorov - Smirnov	p
Clorhexidina	140	0.397	0.000
Luz Ultravioleta	140	0.457	0.000

De acuerdo a la Tabla 2 la aplicación de clorhexidina en TSB tiene un efecto promedio descontaminante en la superficie de titanio mecanizado tipo III° de $1.0673E + 07 \pm 3.84702E + 07$ y en saliva registra $4.5334E + 06 \pm 1.45984E + 07$. Al 95% de confiabilidad según la prueba Mann Whit-

ney el efecto de la clorhexidina en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III° expuesto a microorganismos es más eficaz en saliva que en TSB; presentando diferencias estadísticamente significativas, $p = 0.005 < 0.05$.

Referente a la luz ultravioleta en TSB tiene un efecto promedio descontaminante en la superficie de titanio mecanizado tipo III° de $3.0381E + 07 \pm 1.01321E + 08$ y en saliva registra $1.0909E + 07 \pm 7.87600E + 07$. Al 95% de confiabilidad según la prueba Mann Whitney el efecto de la Luz ultravioleta en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III° expuesto a microorganismos es más eficaz en saliva que en TSB; presentando diferencias estadísticamente significativas, $p = 0.001 < 0.05$.

Tabla 2 - Aplicación de clorhexidina y uso de luz ultravioleta en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III° expuesto a microorganismos según ambiente.

	Clorhexidina			Luz Ultravioleta	
	N	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica
TSB	70	1.0673E+07	3.84702E+07	3.0381E+07	1.01321E+08
Saliva	70	4.5334E+06	1.45984E+07	1.0909E+07	7.87600E+07
U de Mann Whitney = 1783 p = 0.005			U de Mann Whitney = 1677 p = 0.001		

De acuerdo a la Tabla 3 la aplicación de clorhexidina a las 24 h tiene un efecto promedio descontaminante en la superficie de titanio mecanizado tipo III° de $7.6422E + 06 \pm 2.31705E + 07$ y a las 48 h registra $7.5637E + 06 \pm 3.42829E + 07$. Al 95% de confiabilidad según la prueba Mann Whitney el efecto de la clorhexidina en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III° expuesto a microorganismos es muy similar a las 24 h y a las 48 h no presentando diferencias estadísticamente significativas, $p = 0.324 > 0.05$.

Referente a la luz ultravioleta a las 24 h de exposición el efecto promedio descontaminante en la superficie de titanio mecanizado tipo III° fue de $2.7733E + 07 \pm 1.10815E + 08$ y a las 48 h registra $1.3557E + 07 \pm 6.54191E + 07$. Al 95% de confiabilidad según la prueba Mann Whitney el efecto de la luz ultravioleta en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III° expuesto a microorganismos es mucho más eficaz a las 48 h que a las 24 h; sin embargo no presenta diferencias estadísticamente significativas, $p = 0.564 > 0.05$.

Tabla 3 - Aplicación de clorhexidina y uso de luz ultravioleta en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos según tiempo.

Tiempo	N	Clorhexidina		Luz Ultravioleta	
		Media	Desviación típica	Media	Desviación típica
24 h	70	7.6422E+06	2.31705E+07	2.7733E+07	1.10815E+08
48 h	70	7.5637E+06	3.42829E+07	1.3557E+07	6.54191E+07
U de Mann Whitney = 2213.5 p = 0.324			U de Mann Whitney = 2311.5 p = 0.564		

De acuerdo a la Tabla 4 la aplicación de clorhexidina en el inoculo tubo una medida inicial de $3.0026E + 07 \pm 5.89401E + 07$, a medida que el tiempo de la exposición de la clorhexidina es mayor presenta una tendencia decreciente respecto al efecto promedio descontaminante en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] llegando a los 30 min a una descontaminación de $8.7550E + 04 \pm 9.86727E + 04$. Al 95% de confiabilidad según la prueba H de Kruskal Wallis el efecto de la clorhexidina en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos es diferente a medida que se aumenta el tiempo de exposición presentando así diferencias estadísticamente significativas, $p = 0.000 < 0.05$.

Referente a la luz ultravioleta en el inoculo tubo una medida inicial de $5.0223E + 07 \pm 1.34299E + 08$, a medida que el tiempo de la exposición de la luz ultravioleta es mayor presenta una tendencia decreciente respecto al efecto promedio descontaminante en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] llegando a los 30 min a una descontaminación de $8.0950E + 05 \pm 2.26839E + 06$. Al 95% de confiabilidad según la prueba H de Kruskal Wallis el efecto de la luz ultravioleta en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos es diferente a medida que se aumenta el tiempo de exposición presentando así diferencias estadísticamente significativas mucho mayor entre el tiempo inicial y a los 10 min, $p = 0.000 < 0.05$.

Tabla 4 - Aplicación de clorhexidina y uso de luz ultravioleta en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos según el tiempo de exposición.

	N	Clorhexidina		Luz Ultravioleta	
		Media	Desviación típica	Media	Desviación típica
Inoculo	28	3.0026E+07	5.89401E+07	5.0223E+07	1.34299E+08
0	28	7.0571E+06	1.45179E+07	4.7140E+07	1.47226E+08
10	28	7.0393E+05	1.85485E+06	3.1329E+06	9.98563E+06
20	28	1.4012E+05	1.52771E+05	1.9180E+06	6.14112E+06
30	28	8.7550E+04	9.86727E+04	8.0950E+05	2.26839E+06
H de Kruskal - Wallis = 73.261 p = 0.000		H de Kruskal - Wallis = 45.336 p = 0.000			

De acuerdo al análisis multivariado solo el tiempo de exposición de la clorhexidina es un factor determinante para la descontaminación en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®], $p = 0.000 < 0.05$.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	13811355293908736.000 ^b	3	4603785097969579.000	6.001	.001
Intersección	8141470663760336.000	1	8141470663760336.000	10.613	.001
Ambiente	1319099822260071.200	1	1319099822260071.200	1.720	.192
Cultivo	215827925785.714	1	215827925785.714	.000	.987
Exposición	12492039643722894.000	1	12492039643722894.000	16.284	.000
Error	10432955693067776.000	136	767129095078513.000		
Total	126233601687070000.000	140			
Total corregida	118140912224586512.000	139			

a. Tratamiento = clorhexidina

b. R cuadrado = .117 (R cuadrado corregida = .097)

Figura 1 - Análisis multivariado en la determinación de factores que afectan la descontaminación en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] tras la aplicación de clorhexidina.

De acuerdo al análisis multivariado solo el tiempo de exposición de luz ultravioleta es un factor determinante para la descontaminación en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®], $p = 0.007 < 0.05$.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	78404496512345216.000 ^b	3	26134832170781740.000	3.318	.022
Intersección	77873213914047472.000	1	77873213914047472.000	9.886	.002
Ambiente	13270639222525998.000	1	13270639222525998.000	1.685	.196
Cultivo	7033107700205999.000	1	7033107700205999.000	.893	.346
Exposición	58100749589612896.000	1	58100749589612896.000	7.376	.007
Error	1071235065149669120.000	136	7876728420218155.000		
Total	1209308244410219260.000	140			
Total corregida	1149639561662014340.000	139			

a. Tratamiento = luz ultravioleta

b. R cuadrado = .068 (R cuadrado corregida = .048)

Figura 2 - Análisis multivariado en la determinación de factores que afectan la descontaminación en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] tras la aplicación de luz ultravioleta.

DISCUSIÓN

En ambiente periodontal la consecución de los criterios adecuados para la rehabilitación de los implantes osteointegrados es 2.7 veces menor que en implantes en ambiente oral sano y el uso de antiséptico orales tipo clorhexidina al 0.12% aplicados en el momento quirúrgico en el lecho óseo y en la superficie implantaria de pacientes con enfermedad periodontal severa, parecen mejorar la osteointegración en el momento óptimo para la rehabilitación protésica. Hasta niveles similares al de implantes en ambiente oral no periodontal.

En nuestra investigación se usó clorhexidina al 0.5%, por lo que el efecto es cuatro veces más efectiva, aún más, si esta investigación empleó la variable luz ultravioleta para desintoxicar la superficie de implantes de titanio tipo III.

Los implantes dentales son dispositivos destinados a crear soportes estables, sobre los cuales se adapta una prótesis con el fin de devolverle al paciente una función adecuada. Confort y una estética compatible con su función social y que las claves para el éxito en implantología son: minimizar el riesgo de la infección. Minimizar la injuria tisular y evitar la contaminación de la superficie del implante.

En nuestro estudio los resultados del análisis de bondad de ajuste de la curva normal realizados a través de la prueba de Kolmogorov Smirnov difiere significativamente ($p < 0.05$) de la distribución normal; por lo cual se utilizara la pruebas no paramétrica de Mann Whitney en la comparación del efecto de dos atributos y la prueba de Kruskal - Wallis en la comparación de más de dos atributos para medir el efecto descontaminante de superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos entre la aplicación de clorhexidina y luz ultravioleta. Además, se realizó un análisis multivariado en la determinación de factores significativos para la determinación de los posibles factores que contribuyen a la descontaminación de microorganismos.

Empleo de la irradiación láser de diodo InGaAsP (980 nm) no produce alteraciones morfológicas de las superficies de los implantes independientemente de la potencia y el modo de la irradiación (continuo/discontinuo) lo que supone una alternativa terapéutica segura y eficaz como tratamiento coadyuvante de la enfermedad peri implantaria.

En la investigación realizada la aplicación de clorhexidina tiene un efecto promedio descontaminante en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] de $7.6030E + 06 \pm 2.91536E + 07$ y la luz ultravioleta de $2.0645E + 07 \pm 9.09439E + 07$. Al 95% de confiabilidad según la prueba Mann Whitney el efecto de descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®]

expuesto a microorganismos es similar entre la aplicación de clorhexidina y el uso de la luz ultravioleta. $p = 0.067 > 0.05$.

Los recubrimientos de sílice cargados con AgNPs sobre las superficies de titanio no presentaron micro defectos. Estos recubrimientos mostraron una liberación sostenida (42 días) de Ag de $\sim 0.02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Los ensayos bacteriológicos demostraron que los recubrimientos tienen un marcado efecto bactericida estadísticamente significativo ($p < 0.05$) sobre la biopelícula formada en la superficie del titanio, así como sobre las bacterias planctónicas del medio en contacto con el material. La reducción del recuento en biopelícula fue estadísticamente significativa y de valores entre 75-55% en relación a la superficie de titanio sin modificar. Recubrimientos con contenidos de AgNPs de 2.5 y 5%, inhiben la formación de biopelícula en un 58 y 66%, respectivamente.

En nuestro estudio el efecto de descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos es similar entre la aplicación de clorhexidina y el uso de la luz ultravioleta. $p = 0.067 > 0.05$.

CONCLUSIÓN

Se determinó que la descontaminación de microorganismos de la superficie de titanio III[®], con clorhexidina y luz ultravioleta, no presentaron diferencias estadísticamente significativas. $p = 0.067 > 0.05$.

Se determinó que la eficacia que presenta la aplicación de luz ultravioleta en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos, es mucho más eficaz a las 48 horas que a las 24 horas; sin embargo, no presenta diferencias estadísticamente significativas. $p = 0.564 > 0.05$.

Se determinó que la eficacia que presenta la aplicación de clorhexidina en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos. Al 95% de confiabilidad según la prueba H de Kruskal Wallis el efecto de la clorhexidina en la descontaminación de la superficie de titanio mecanizado tipo III[®] expuesto a microorganismos no presenta diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a los microorganismos presentes; $p = 0.067 > 0.05$

De acuerdo al análisis multivariado solo el tiempo de exposición de la clorhexidina es un factor determinante para la descontaminación en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®]. $p = 0.000 < 0.05$.

De acuerdo al análisis multivariado solo el tiempo de exposición de luz ultravioleta es un factor determinante para la descontaminación en la superficie de titanio mecanizado tipo III[®]. $p = 0.007 < 0.05$.

REFERENCIAS

1. Afir A, Achour M, Saoula N. X-ray diffraction study of Ti-O-C system at high temperature and in a continuous vacuum. *J Alloys Comp.* 1999;288:124-40.
2. Fujishima A, Honda K. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. *Nature.* 1972;238(5358):237-8.
3. Fujishima A, Rao TN, Tryk DA. Titanium dioxide photocatalysis. *J Photochem Photobiol C.* 2000;1(1):1-21.
4. Giardini-Guidoni A, Marotta V, Teghil R, Di Palma TM, Beccaria AM, Chiaruttini L. Anticorrosion titanium oxide coatings deposited by pulsed laser ablation. *Surf Coat Technol.* 1998;100-101:437-9.
5. Abel K, Schmertzing H, Pelerson JL. Classification of microorganisms by analysis of composition. *J Bacteriol.* 1963;85(5):1039-44.
6. Addy M, Prayitno S, Taylor L, Cadogan S. In vitro study of the role of dietary factors in the etiology of tooth staining associated with the use of chlorhexidine. *J Periodontal Res.* 1979;14(5):403-10.
7. Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous maxillary. *Int Oral Maxillofac Implants.* 1990;5(4):347-59.
8. Albergsson T, Erikson AR, Friberg B, Lekholm U, Lindahl L, Nevins M, et al. Metal histologic investigations of 33 retrieved Nobelpharma implants. *Clin Mater.* 1992;12(1):1-9.
9. World Health Organization. Artificial tanning sunbeds: risks and guidance. Geneva: WHO; 2003.
10. Astrand P, Almfeldt I, Brunell G, Hamp S-E, Hellem S, Kerlsson U. Non-submerged implants in the treatment of the edentulous jaw. A 2-year longitudinal study. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(4):337-44.
11. O'Regan B, Grätzel M. A low-cost, high-efficiency solar cell based on dyesensitized colloidal TiO₂ films. *Nature.* 1991;353:737-40.
12. Predel B. Landolt-Börnstein new series IV/5-I. Berlin: Springer-Verlag; 1998.
13. Bagno A, di Bello C. Surface treatment and roughness properties of Ti-based biomaterials. *J Mater Sci Mater Med.* 2004;15(9):935-49.
14. Baqui AA, Kelley JJ, Jabra-rizk MA, Depaola LG, Falkler WA, Meiller TF. In Vitro effect of oral antiseptics on human immunodeficiency virus-1 and herpes simplex virus type 1. *J Clin Periodontol.* 2001;28(7):610-6.
15. Benett JM, Mattsson L. Introduction to surface roughness and scattering. Washington: Optical Society of America; 1989.
16. Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol.* 2003;30(Suppl 7):7-9.
17. Bonesvoll P, Lokken P, Rolla G. Influence of concentration time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouthrinses. *Arch Oral Biol.* 1974;19(11):1025-9.
18. Boyer R, Welsh G, Collings EW, editors. Materials properties handbook: titanium alloys. Materials Park, OH: ASM International, 1994.
19. Branemark PI, Hansson HA, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experiences from 10 years period. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1997;16(Suppl):1-132.
20. Branemark PI. Introduction to osseointegration. In: Branemark PI, Zarb AT. Cells tissues integrated prostheses. Chicago: Quintessence; 1985. p. 11-76.