

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO ANTES Y DESPUÉS DE LA UTILIZACIÓN DE LA PIEZA DE MANO DE USO ODONTOLÓGICO

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS BEFORE AND AFTER THE USE OF THE DENTAL HAND PIECE

Jorge Reyes-Saberbein¹, Luis Rodríguez-Torres¹, Meylin Fernández-Reyes², Janeth Iparaguirre-Carbajal², Williams Montalvo-Meléndez², Karen Bravo-Morocho², Allison Guardia-Quispe², Fiorella Pino-Guerrero²

RESUMEN

Objetivo. Evaluar la condición microbiológica antes y después del uso de la pieza de mano en pacientes atendidos en la clínica odontológica de la USMP. **Material y métodos.** Estudio de tipo descriptivo, prospectiva, longitudinal. Se utilizaron 16 piezas de mano de la clínica especializada en odontología de la USMP, como medio de cultivo se usó el Agar sangre para observar las diferentes clases de microorganismos presentes. **Resultados.** Las muestras esterilizadas en autoclave, sembradas en agar sangre presentaron ausencia de microorganismos. En contraste, las muestras desinfectadas con glutaraldehído al 2%, hipoclorito de sodio al 5% y alcohol al 70 % mostraron presencia de estafilococos epidermidi, estafilococos aureus, cocos beta hemolítico en el agar sangre. Las muestras desinfectadas con glutaraldehído al 2%, hipoclorito de sodio al 5% y alcohol al 70 % mostraron una reducción en la presencia de microorganismos de alrededor de 82%, 44% y 86%, respectivamente. **Conclusiones.** El método óptimo para esterilizar las piezas de mano luego de su uso y sin deteriorarla es la autoclave. (Kiru 2012;9(1):13-20).

Palabras clave: Estafilococo aureus, estafilococo epidermidi (Fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Objective. To evaluate the microbiological condition before and after the use of the hand pieces in patients that were attended at the clinica odontologica of USMP. **Material and methods.** Descriptive, prospective, longitudinal research. 16 hand pieces of the clinica especializada en odontologia of the USMP were used. Blood agar was used as the culture medium to observe the different types of microorganisms that were present. **Results.** The samples that were sterilized by autoclave and seeded in blood agar showed an absence of microorganisms. In contrast, the samples disinfected with glutaraldehyde 2%, hypochlorite of sodium 5% and alcohol 70 % showed the presence of Staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis, beta hemolytic cocci in blood agar. The samples disinfected with glutaraldehyde 2%, sodium hypochlorite 5% and alcohol 70 % showed a reduction in the presence of microorganisms about 82%, 44% and 86%, respectively, compared to before the disinfection. **Conclusions.** The effective method to sterilize the hand pieces after use and without damaging it is the autoclave. (Kiru 2012;9(1):13-20).

Key words: Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis (Source: MeSH NLM).

¹Docente clínica I.

²Alumnos de clínica I. Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres. Lima, Perú.

Correspondencia:

Jorge Reyes Saberbein

Dirección: Calle Badajoz 264, Lima 33, Perú

Correo electrónico: jreyessaberbein@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal está formada por un conjunto de tejidos, con numerosos microorganismos asociados a ellos, constituyendo un ecosistema. Cuando está en equilibrio se denomina eubiosis y cuando se encuentra alterado se llama disbiosis, que correspondería a la boca enferma¹, por lo tanto, cuando un instrumento odontológico entra en contacto con la cavidad bucal debe ser esterilizado o desinfectado, para así ser usado nuevamente en otro paciente.

Con tales motivos lo que se debe evitar son las infecciones cruzadas; siendo indispensable conocer que los aspectos de mayor complejidad dentro de la patología bucal son las infecciones, ya que en ella intervienen diversidad de factores². Por lo anterior expuesto, debemos conocer las normas básicas de bioseguridad, estas han sido diseñadas para prevenir, además de controlar el contagio o diseminación de enfermedades infectocontagiosas. El uso de normas efectivas de control y prevención, así como las medidas de protección universal permitirán evitar la contaminación cruzada entre pacientes, el personal auxiliar del consultorio y hasta de pacientes al profesional de la odontología o al asistente y vice-

versa³. Por otro lado, la pieza de mano es un instrumento que puede ser considerado semicrítico y crítico; por que puede introducirse en un tallado en tejido blando y a su vez en tejidos duros, requiriendo ser esterilizado o desinfectado después de su uso⁴.

Es entonces indispensable limpiar las piezas de mano de uso odontológico antes de ser usadas en otro paciente, la cual se puede realizar usando métodos tradicionales de esterilización, en función a calor húmedo (autoclave), que consiste en vapor saturado bajo presión a altas temperaturas. La norma universal dice que debe usarse a 121°C 1 atm por 20 minutos; y a calor seco (horno esterilizador), que es el más usado por la mayoría de los odontólogos a 180°C por 30 minutos o 160°C por 1 hora, pero haciendo la salvedad de que se debe calcular el tiempo que tarda el horno en alcanzar esas temperaturas y luego sumarle el tiempo requerido para la correcta esterilización³. Sin embargo, no todas pueden ingresar a éstas, también existen alternativas, como el lavado en detergente, soluciones antisépticas, o limpiarlas con alcohol las cuales pueden ser una opción⁵.

Las turbinas y los micromotores deberán ser limpiados exteriormente con una solución de hipoclorito de sodio al 1% o con glutaraldehído al 2% y colocados en cajas metálicas con pastillas de formalina después de su uso⁶. Es así que la ADA señaló medidas radicales para sus miembros sobre la obligatoriedad de esterilizar las piezas de mano antes de usarla en los pacientes donde sino se cuenta con autoclave, lo menos que se debe hacer es desinfectar la piezas de mano entre paciente y paciente, utilizándose una gasa embebida en alcohol al 70%, hipoclorito al 5% o utilizando Decident (glutaraldehído)⁶.

La microbiota presente al completarse la dentición decidua y luego la permanente conforma la comunidad climax. Esta comunidad varía durante la vida del individuo de acuerdo a factores que influyen en su distribución, promoviendo y limitando su desarrollo⁷.

Existen un gran número de bacterias y microorganismos en la cavidad bucal, sin embargo, podemos mencionarlas de acuerdo a la patología de enfermedad que pueden ocasionar, en el caso de la periodontitis hay tres patógenos periodontales específicos asociados a la destrucción periodontal que son: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis* y *Porphyromonas gingivalis*⁸. De igual forma, las tres especies relacionadas mayormente con la caries dental se encuentran el *Streptococcus* (sub especies *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. sanguinis*), los *Lactobacillus* (sub especies *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum* y *L. oris*), y los *Actinomyces* (con las sub especies *A. israeli* y *A. naslundii*⁹. Habitualmente en necrosis pulpaes podemos encontrar *S. mitis*, *S. oralis*, *S. mutans*, *S. sanguis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* entre otros¹⁰.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 piezas de mano de alta velocidad marca KAVO, como medio de cultivo se usó el Agar sangre, ya que no es selectivo y es ideal para observar las diferentes clases de microorganismos presentes. Cada una fue mandada al labo-

ratorio por 48 horas a una temperatura de 37°C.

Para la observación de los microorganismos utilizamos microscopía electrónica (Laboratorio de microbiología de la clínica San Borja) (microscopio binocular marca Nikon modelo SC. y para observar tridimensionalmente se usó microscopía de barrido, microscopio de barrido marca Philips 505) de la facultad de ciencias de la UNI.

Procedimiento:

1. Se procedió a lavar todas las piezas de mano con agua a chorro, frotadas con una escobilla para eliminar todo el detritus, secadas y lubricadas para luego ser empaquetadas; posteriormente se procedió a esterilizarlas en autoclave, en el centro quirúrgico de la clínica especializada en odontológica de la USMP, donde estuvieron por 15 minutos a 135°C; como medio de control y comparación. Se procedió a la verificación, se tomó una pieza de mano al azar, donde se procedió a sembrarla en agar sangre y utilizamos microscopía de barrido para visualizar la presencia de microorganismos.
2. Luego, se utilizó todas las piezas de mano en pacientes que asistieron a la consulta en clínica I, para tratamientos de coronas (tallados en prótesis fija), en la CEO de la USMP.
3. Se desinfectó 5 piezas de mano en glutaraldehído al 2% por 30 minutos, se sembraron en agar sangre enviándolas al laboratorio por 48 horas a una temperatura de 37°C, después se utilizó microscopía electrónica para identificar microorganismos en el cultivo.
4. Se desinfectó 5 piezas de mano con hipoclorito de sodio al 5% por 10 minutos, se sembraron en agar sangre enviándolas al laboratorio por 48 horas a una temperatura de 37°C, después se utilizó microscopía electrónica para identificar microorganismos en el cultivo.
5. Se desinfectó 5 piezas de mano con alcohol al 70 % cubriéndolas con gasa por 30 minutos, se sembraron en agar sangre, enviándolas al laboratorio por 48 horas a una temperatura de 37°C, después se utilizó microscopía electrónica para identificar microorganismos en el cultivo.



Figuras 1 y 2. Lavado de pieza de mano agua a chorro.



Figura 3. Pieza de mano en Glutaraldehído al 2%.



Figura 4. Pieza de mano en agar sangre luego del alcohol al 70%.

RESULTADOS

Esterilización en autoclave y muestra sembrada en agar sangre, posteriormente se observó la ausencia de microorganismos usando la microscopia de barrido.

En la figura 5, se puede observar que la esterilización en autoclave realizada en centro quirúrgico de la clínica especializada en odontológica de la USMP, está libre de gérmenes. Se utilizó microscopia de barrido a 5000X.

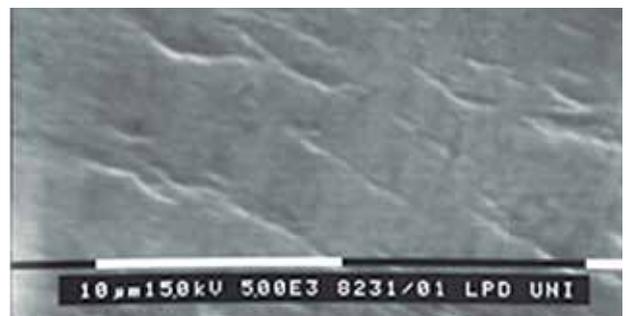
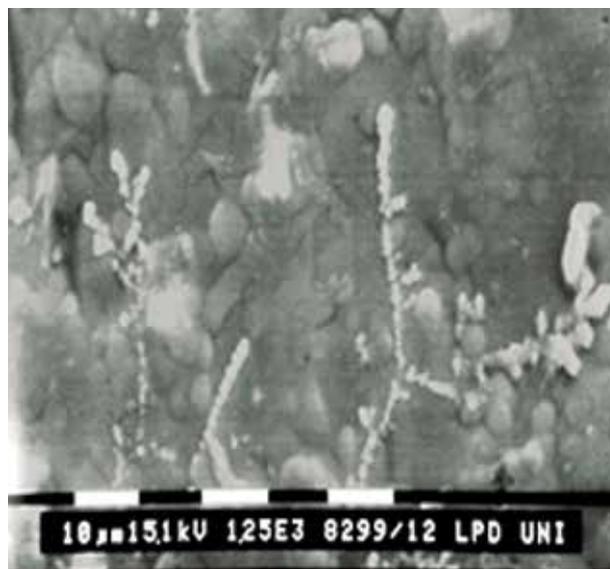
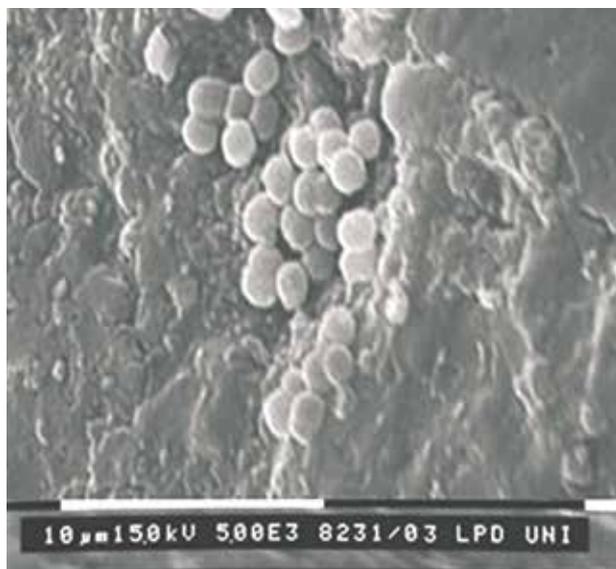


Figura 5. Superficie de pieza de mano estéril (Cabezal) 5000X. Fuente: Microscopia de barrido de la facultad de ciencias de la UNI

En la figura 6 se puede observar la presencia de detritus dentinario y estafilococos (pieza de mano sin esterilizar ni desinfectar). Se utilizó microscopia de barrido 5000x



Figuras 6 y 7. Superficie de pieza de mano contaminada (Cabezal). Detritus dentinario y estafilococos 5000X Fuente: Microscopia de barrido de la facultad de ciencias de la UNI.

Desinfección mediante Glutaraldehído al 2%

En las piezas de mano desinfectadas en glutaraldehído al 2% se evidenció un crecimiento de colonias, donde utilizó microscopía electrónica para identificar microorganismos en

el cultivo. Se pudo observar en el agar sangre: estafilococos gram+, estafilococos epidermidi, estafilococos aureus, cocos beta hemolítico



Figura 8. Cultivo agar sangre después de ser desinfectada con glutaraldehído al 2%.

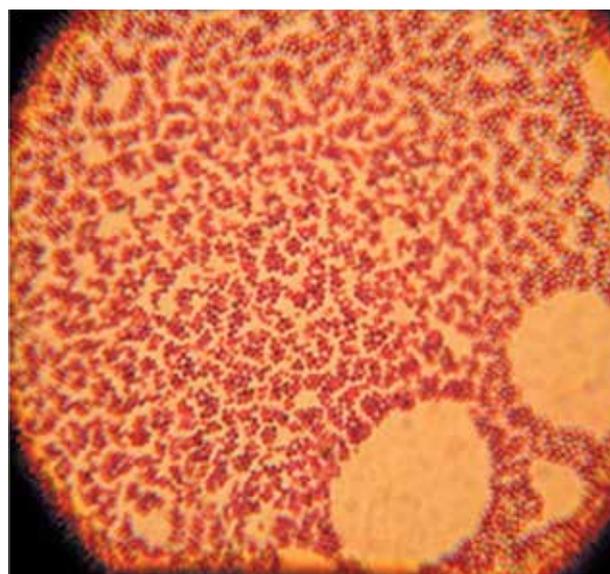


Figura 9. Estafilococos Gram + en tinción de Gram en microscopía electrónica.

Tabla 1. Presencia de microorganismos antes y después de desinfección con Glutaraldehído al 2%.

GLUTARALDEHÍDO AL 2%					
ANTES	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Colonias bien amarillas y definidas	28	14	27	12	15
Colonias amarillas con borde negro	3	0	4	0	4
Colonias blancas y definidas	34	22	37	25	31
Colonias blancas con halo negro	13	4	5	7	7
Total	78	40	73	44	57

GLUTARALDEHÍDO AL 2% por 10					
DESPÚES	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Colonias bien amarillas y definidas	2	0	0	0	0
Colonias amarillas con borde negro	0	0	0	0	0
Colonias blancas y definidas	10	8	11	8	8
Colonias blancas con halo negro	0	0	0	0	0
Total	12	8	11	8	8

Muestra 1: Reducción del 85% donde en la microscopía se observó: Estafilococos Gram⁺, estafilococo epidermidi, estafilococo aureus, cocos beta hemolítico.

Muestra 2: Reducción del 80% donde en la microscopía se observó: Estafilococos Gram⁺, estafilococo epidermidi, estafilococo aureus.

Muestra 3: Reducción del 85% donde en la microscopía se observó: Estafilococo Gram⁺, estafilococo aureus, cocos beta hemolítico.

Muestra 4: Reducción del 82% donde en la microscopía se observó: Estafilococos Gram⁺, estafilococo epidermidi.

Muestra 5: Reducción del 86% donde en la microscopía se observó: Estafilococo Gram⁺, estafilococo epidermidi, estafilococo aureus.

Se realizó un promedio y como resultado el glutaraldehído al 2%, produjo una reducción en 84%, cabe destacar que el glutaraldehído ha disminuido significativamente los microorganismos

Desinfección mediante hipoclorito de sodio al 5%

En las piezas de mano desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5%, se observó un crecimiento de colonias, donde se utilizó microscopía electrónica para identificar microorganismos en el cultivo. Se pudo observar en el agar sangre mediante el uso de microscopía electrónica los siguientes microorganismos: estafilococos gram⁺, estafilococos epidermidi, estafilococos aureus, cocos beta hemolítico y alfa hemolítico.



Figura 9. Cultivo agar sangre después de ser desinfectada con hipoclorito de sodio al 5%.

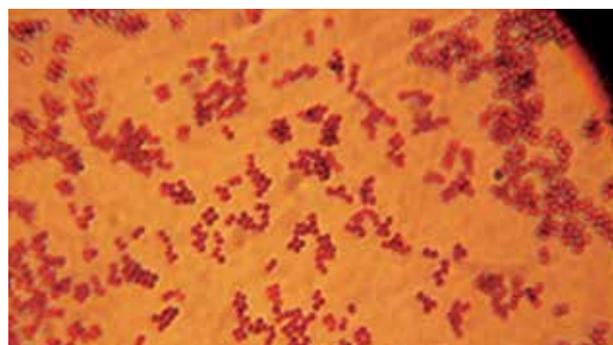


Figura 10. Estafilococo gram +, en tinción de gram en microscopía electrónica.

Tabla 2. Presencia de microorganismos antes y después de desinfección con Hipoclorito de sodio al 5%.

HIPOCLORITO DE SODIO AL 5%					
Antes					
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Colonias bien amarillas y definidas	19	13	8	14	18
Colonias amarillas con borde negro	4	5	4	5	4
Colonias blancas y definidas	28	20	20	31	22
Colonias blancas con halo negro	6	6	7	5	9
Total	57	43	39	55	60

HIPOCLORITO DE SODIO AL 5%					
Después					
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Colonias bien amarillas y definidas	9	6	5	12	9
Colonias amarillas con borde negro	4	5	4	5	7
Colonias blancas y definidas	12	7	7	10	10
Colonias blancas con halo negro	6	6	7	5	9
Total	37	24	23	32	35

Muestra 1: Reducción del 45% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aerus, bacilos Gram +

Muestra 2: Reducción del 44% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aerus, bacilos Gram +

Muestra 3: Reducción del 41% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aerus, bacilos Gram +

Muestra 4: Reducción del 41% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aerus, bacilos Gram +

Muestra 5: Reducción del 41% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aerus, bacilos Gram +

Las muestras desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5% no tuvieron mayor efecto, sin embargo produjo erosión y corrosión en la pieza de mano, ya que le producía manchas.

Desinfección mediante alcohol al 70%

En las piezas de mano desinfectadas con alcohol al 70% se observó un crecimiento de colonias, donde se utilizó microscopia electrónica para identificar microorganismos en el cultivo. Se pudo visualizar en el agar sangre colonias bien definidas y en la microscopia electrónica se observó estafilococos Gram +, estafilococos epidermidi, estafilococos aerus, cocos beta hemolítico y alfa hemolíticos y bacilos Gram +.



Figura 11. Cultivo agar sangre después de ser desinfectada.

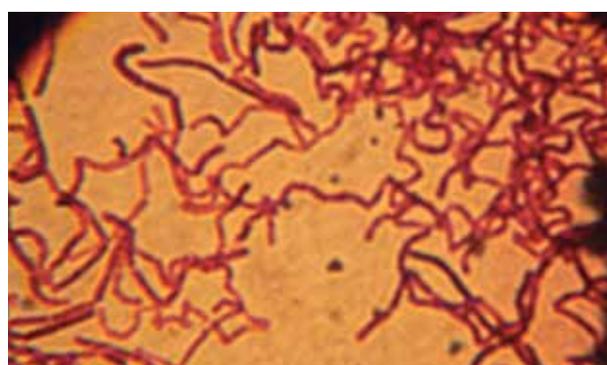


Figura 12. Bacilos gram+ en tinción de gram en microscopia electrónica.

Tabla 3. Presencia de microorganismos antes y después de desinfección con alcohol al 70%.

ALCOHOL 70% POR 30´ ANTES					
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Colonias bien amarillas y definidas	36	18	15	16	20
Colonias amarillas con borde negro	8	4	6	3	4
Colonias blancas y definidas	20	10	31	29	29
Colonias blancas con halo negro	12	3	8	9	7
Total	76	35	60	57	60

ALCOHOL 70% POR 30´ DESPUÉS					
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Colonias bien amarillas y definidas	3	1	1	2	1
Colonias amarillas con borde negro	6	2	3	2	4
Colonias blancas y definidas	2	1	1	1	2
Colonias blancas con halo negro	2	1	3	1	1
Total	12	5	8	6	8

Muestra 1: Reducción del 84 % donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aureus, cocos, bacilos gram positivos.

Muestra 2: Reducción del 86 % donde en la microscopia electrónica se observó: Estafilococos Gram +, estafilococos epidermidi, estafilococo aerus, cocos beta hemolítico y alfa hemolítico, bacilos gram positivos.

Muestra 3: Reducción del 87% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aureus, cocos, bacilos gram positivos.

Muestra 4: Reducción del 89% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, bacilos gran positivos.

Muestra 5: Reducción del 87% donde en la microscopia se observó: Estafilococo Gram +, estafilococo epidermidi, estafilococo aerus, bacilos Gram +.

Se realizo un promedio y resultado que hubo una reducción del 87% sin embargo el alcohol no es selectivo y puede eliminar todos pero no a las nocivas que pueden producir enfermedades dejando como residuos de bacilos.

DISCUSIÓN

La cavidad bucal es considerada una vía de ingreso principal a diferentes enfermedades, pues se considera portador de gran variedad de microbiota. Sin embargo, se debe tener alternativas de desinfección como el uso de diferentes agentes químicos ¹¹⁻¹⁴.

En cuanto a las muestras desinfectadas con los tres componentes (glutaraldehído al 2%, alcohol al 70% e hipoclorito

de sodio al 5%); la que mayor reducción produce después de haber sido usada en cavidad bucal es el alcohol al 70% con una reducción del 87% de microorganismos, seguido del glutaraldehído al 2% con una reducción del 84% mientras solo el hipoclorito de sodio al 5% reduce un 41% (teniendo presente que el hipoclorito causo corrosión a las piezas de mano); contraponiéndose con Gutiérrez C. et al. ¹², que evidenciaron una mayor eliminación de microorganismos por el protocolo de desinfección con glutaraldehído al 2%, seguido de hipoclorito de sodio al 5% y cloruro de benzalconio al 1%.

Así mismo Briseño et al. ¹³ manifestó que usando AMU-218 cuyo principio activo es el hipoclorito de sodio 0.025g y excipientes, puede ser un método alternativo de solución biocida por inmersión, para la esterilización de piezas de mano de alta velocidad. De igual forma Echeverri et al. ¹⁴, realizaron una investigación para evaluar las soluciones desinfectantes que incluyen en sus formulaciones un glutaraldehído (desinfloor), hipoclorito de sodio (decol-NV), una formulación con alcohol etílico al 56% con fenoles (desinmur) y alcohol etílico al 70%. Con el propósito de eliminar Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Candida albicans ATCC 9341, Aspergillus niger ATCC 16404 y Bacillus subtilis ATCC 21556. La acción biocida de los desinfectantes: luego de los tratamientos con los diferentes tiempos de contacto y los desinfectantes, obtuvieron una reducción total de las poblaciones microbianas de C. albicans, S. aureus y E. coli con los 5 desinfectantes de evaluación; no encontrando diferencias de las mismas. Silva da et al. ¹¹ también realizaron un comparativo de diferentes agentes desinfectan-

tes para la eliminación del estafilococos aureus de material de acero inoxidable, encontrando como resultado que existen diferencias significativas entre el control que fue el agua destilada, en comparación con soluciones desinfectantes, logrando demostrar que existe una reducción de la adherencia de *S. aureus* por el glutaraldehído, vinagre, ácido peracético; no encontrándose diferencias entre ellos.

Sennhenn-Kirchner et al.¹⁵ compararon el uso de alcohol al 80% con otros agentes químicos para desinfección en odontología, reportando datos de disminución de microorganismos en un 80% similar a los reportados por los investigadores del presente estudio.

Se concluyó que el método óptimo para esterilizar las piezas de mano luego de su uso y sin deteriorarla es la autoclave. Para su uso requiere un equipo en buen estado y tener 5 piezas de mano como mínimo para poder tener una atención a nuestros pacientes en forma adecuada libre de contaminantes.

El uso de hipoclorito de sodio en cualquier porcentaje es perjudicial para la conservación de nuestras piezas de mano por que las deteriora considerablemente produciéndole corrosión inmediatamente.

La desinfección con glutaraldehído al 2% y alcohol al 70% no muestran diferencias significativas en cuanto a desinfección, sin embargo, el tiempo del glutaraldehído es menor por lo que ahorraría tiempo. Teniendo solo el glutaraldehído la desventaja que se debe manipular con cuidado por ser irritante. Es importante realizar obligatoriamente la desinfección o esterilización de las piezas de mano antes de uso entre pacientes como mecanismo de prevención de transmitir y producir posibles infecciones cruzadas.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Autofinanciado

CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara no tener conflicto de interés en la publicación de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Liébana J, Microbiología Oral. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill. España. 1995; 42.
- 2.- Malagon G, Malagon O. Urgencias odontológicas. 3ra ed. Editorial medica Panamericana. Colombia. 2003; 84.

- 3.- Del Valle A, Sol C. Normas de Bioseguridad en el consultorio Odontológico. Acta odontol Venez 2000;40(2):213-6.
- 4.- Guerra ME, Tovar V, La Corte E. Estrategias para el control de infecciones en odontología. Acta Odontológica Venezolana 2006;44(1).
- 5.- Molinari J. Dental infection control at the year 2000 accomplishment recognized. ADA 1999.
- 6.- Barrancos J, Barrancos P. Operatoria Dental. Editorial Médica Panamericana. 2006: 226-
- 7.- Negroni M. Microbiología Estomatológica. Editorial Médica Panamericana 2009: 225-7.
- 8.- Cuenca E, Baca P. Odontología preventiva y comunitaria. Principios, métodos y aplicaciones. 3ra ed. Editorial Masson España. 2005: 184.
- 9.- Henostroza G. Caries Dental. Principios y procedimientos para el diagnóstico. Editorial Universidad Peruana Cayetano Heredia. Primera Edición. 2007: 23.
- 10.- Canalda C, Brau A. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. 2ª ed. España: Masson; 2006.
- 11.- Silva F, Paradella T, Navas E, Claro A, Kogaito C, Olavo J. Influência de agentes desinfetantes sobre a aderência de *Staphylococcus aureus* em aço inoxidável. Cienc Odontol Bras 2008;11(3):60-5.
- 12.- Gutiérrez C, Sonia J, Dussán D, Leal B, Silvia C, Sánchez A. Evaluación microbiológica de la desinfección en unidades odontológicas. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 2008;37(2):133-49.
- 13.- Briseño J, Torres D. Comprobación de la esterilización por inmersión de piezas de mano de alta velocidad Investigación con una solución de alto nivel biocida. 2000;52(5):180-2.
- 14.- Echeverri L, Cifuentes G, Granados J, Arias J, Fernández C. Cinética de desinfección para cinco desinfectantes utilizados en industria farmacéutica. Rev Cubana Farm 2007;41(2).
- 15.- Sennhenn S, Weustermann S, Mergeryan H, Jacobs H, Borg-Von Z, Kirchner B. Preoperative sterilization and disinfection of drill guide templates Clin Oral Invest 2008;12:179-87.

Recibido: 16 de marzo de 2012

Aceptado para publicación: 11 de mayo de 2012