

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de un material de obturación endodóntica

* **Liliana Sierra**
** **M. Tobia**
*** **N. Piazza**
**** **B. Maresca**

* Prof. Adjunto, Catedra Endodoncia UBA.
** Prof. Titular, Catedra de Microbiología especial, UNLP.
*** Docente Catedra de Microbiología especial, UNLP.
**** Prof. Titular, Catedra de Endodoncia UBA.
Correspondencia:
Calle 3 N° 685 (1900) La Plata
email: dra_sierra@sinectis.com.ar
copp@sinectis.com.ar

RESUMEN

Los estudios y ensayos de laboratorio "in Vitro" realizados en el presente trabajo con P.L.R.M (pasta lentamente reabsorbible de Maisto) confirman un efecto bacteriostático con todas las cepas de microorganismos estudiados : Fusobacterium periodonticum ATCC 33693 Prevotella Melaninogenica ATCC 439822 Porphyromonas endodontalis ATCC 35406 Staphylococcus sp, Streptococcus viridans y Streptococcus Grupo A, en periodos de 0 a 56 días y valores de 1 g hasta 0,5mg/ml.

SUMMARY

The research and the trial laboratory "in vitro" carried out in this work with P.L.R.M. confirm a Bacterium-static effect with the stokes of the microorganism studied: Fusobacterium pariodonticum ATCC33693 Prevotella melaninogenica ATCC439822 Prophyronomas endodontalis ATCC35406 Staphylococcus sp, Streptococcus viridans and Streptococcus Group A, in periods of 0 to 56 days and dose of 1g to 0,5 mg/ml

PALABRAS CLAVE

Microorganismos, antiséptico, material de obturación.

KEY WORDS

Microorganisms; antiseptical; obturation material

INTRODUCCIÓN

Es universalmente aceptado que el agente etiológico de daño es de origen bacteriano en las patologías endodónticas.⁽¹⁻²⁻³⁻⁴⁻⁵⁻¹⁰⁾ También es conocido que existen bacterias que escapan a los mecanismos normales de defensa del organismo y que en la Patología Periapical Crónica (PPC), existe un compromiso inmune.⁽⁹⁻¹¹⁾ La simple remoción instrumental de los tejidos pulpaes infectados y el lavaje de las paredes dentinarias contaminadas no es suficiente para asegurar la eliminación completa de las bacterias en los conductos dentarios, de allí que consideramos, al igual que otros autores,⁽⁸⁾ que es importante complementar la instrumentación con sustancias de efectividad antibacteriana, inocuidad y persistencia en el tiempo.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la PLRM (Pasta lentamente reabsorbible de Maisto) in vitro ante microorganismos aeróbicos y anaeróbicos en diferentes parámetros de tiempo y en diferentes concentraciones.

MATERIALES Y METODOS

- Microorganismos

En función de la bibliografía mundial⁽⁵⁻²⁻¹⁰⁾ consultada se eligió el siguiente listado de microorganismos como los de mayor relevancia y especificidad en P.P.C. Las cepas liofilizadas utilizadas fueron solicitadas a ATCC (A.T. Culture Collection U.S.A.) por ser éste un centro de colección de cultivos microbiológicos que cuenta con cepas de referencia que han sido caracterizadas por su morfología, serología, antigenicidad, naturaleza química y biología molecular. Los microorganismos en esta experiencia fueron *Fusobacterium periodonticum* (ATCC 33693), *Prevotella melaninogenica* (ATCC 439822) y *Porphyromonas endodontalis* (ATCC 35406), mantenidos en medios de cultivo 593 ATCC y 1490 ATCC y 1490 ATCC respectivamente en condiciones de anaerobiosis estrictas de cultivos en Jarra de Oxoid Complete Anaerobic Jar. Assembly C.D.O. H.M.P1 (80% N₂ (nitrógeno) 10% de CO₂ (anhídrido carbónico) y 10% H₂ (hidrógeno)).

Se utilizan también cepas aeróbicas provenientes de muestras clínicas de infecciones valvulares cardíacas, faringitis y endocarditis (*Staphylococcus*, *Streptococcus viridans* y *Streptococcus grupo A*) respectivamente.

Ensayo "in vitro" de P.L.R.M (Maisto 1962/65)

Composición

Oxido de Zinc (Purísimo)	14 g
Yodoformo (Cicarelli)	42g
Timol	2g
Clorofenol alcanforado	3 ml
Lanolina Anhidra	0,5g

La pasta de prueba se preparó de acuerdo a la fórmula original

1. Control de Esterilidad de la P.L.R.M

Se utiliza la pasta en las condiciones recibidas del laboratorio de la Cátedra de Endodoncia de la Facultad de Buenos Aires U.B.A.

Se coloca 1 g de pasta en 5 ml de caldo infusión cerebro corazón, se incubó a 37° C. Por periodos de 24 hs, 48hs, 72hs, 96 hs, 120 hs, 168 hs, correspondiendo en total a 7 días. Cada uno de estos ensayos fue subcultivado en medio sólido (agar, sangre) y líquido. En ambos no se observó desarrollo de morfología colonial, ni turbidez.

Lectura

Se demuestra que la pasta estaba en condiciones de esterilidad.

2. Efecto Antimicrobiano de P.L.R.M. " in vitro"

Un gramo (1) de pasta más 2 ml de C.T.S (Caldo Tripticasa Soya) para los microorganismos aeróbicos y 2 ml de medio ATCC 1490 (Medio de Carne Trozado modificado) y medio ATCC 593 (Chopped Meat Medium) para los microorganismos anaerobio (pasta-medio + inóculo) fue incubado a 37°C en periodos de 0 - 7- 14-28 y 56 días.

Posteriormente se subcultivó de cada uno de los tubos de cultivo (medio + microorganismos + pasta) de los diferentes periodos de tiempo en Agar Sangre para los microorganismos aeróbicos y en medio específico para los anaeróbicos como ya fue descrito y se observó crecimiento o no crecimiento.

LECTURAS Y RESULTADOS

No hubo turbidez en los tubos con pasta + organismos en los periodos 0-7-14-28- y 56 días. En

los subcultivos respectivos a cada uno de los períodos se observa desarrollo.

El efecto observado en la experiencia demuestra que tenemos un efecto bacteriostático en todos los ensayos que frena el desarrollo pero no mata los microorganismos.

3. CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MINIMA (M.I.C.)

Preparación de la dilución de pasta

A partir de la solución madre de pasta, se prepara la dilución de trabajo a una concentración al doble de la concentración final más alta deseada para la M.I.C. La solución de trabajo se realiza en Caldo Mueller Hinton (M.H) para los aerobios y en los medios específicos para los anaerobios. La solución de trabajo se realiza en tubos de vidrio boro-silicato de 13x100 mm (milímetros) estériles con tapa a rosca.

Se colocaron 2 ml de la solución de trabajo en el primer tubo y 1 ml de M.H (Mueller Hinton) estéril en los restantes con los respectivos medios. Transferir 1 ml del tubo 1 al tubo 2 y así sucesivamente para lograr las diluciones en base dos de la pasta, descartando el último mililitro.

Preparación del Inóculo

La concentración del inóculo para la M.I.C. debe ser de $10^5 - 10^6$ u.f.c./ ml., Unidades formadoras de colonias por mililitro.

Se trabaja en fase logarítmica media, se suspende 3-4 colonias en 3 ml. de caldo adecuado se incuba de 2 - 5 hs. (no más de 5 hs.) luego ajustar con caldo estéril a la dilución 0,5 de Mc Farland .

El 0,5 de Mac Farland equivale a 0,5 ml. de

cloruro de bario 0,048 M (molar) (1,173 % de Cloruro de Bario 2 moléculas de agua por volumen) más 99,5 ml de ácido sulfúrico 0,1 M (1% volumen en volumen). Estas 2 soluciones corresponden a 0,5 de la escala de Mac Farland. El 0,5 de la escala equivale a 10^7-10^8 Unidades Formadoras de Colonias por Mililitro.

0,5 Mac Farland { 0,5 ml de BaCl₂ 0,048M
(1,175 BaCl₂ .2H₂O p/v)
99,5 ml de H₂SO₄ 0,1M
(1% v/v)

Una vez ajustada a la turbidez, diluir el caldo con el inóculo 1/100 - 1/200 con caldo estéril. Colocar en todos los tubos con las diluciones de la pasta (P.L.R.M) Pasta Lentamente Reabsorbible de Maisto 1ml de inóculo ajustado a $10^5- 10^6$ mg/ml u.f.c/ml para cada uno de los microorganismos ensayados en el paso anterior. No se debe demorar más de 15 minutos entre la preparación del inóculo y la realización de la M.I.C. Se realizan subcultivos de 6 experiencias de M.I.C realizadas. (fig. 1)

LECTURAS Y RESULTADOS

Lectura no dio turbidez , se realizaron técnicas de subcultivo en c/u de las 6 M.I.C. realizadas para cada uno de los microorganismos, en los subcultivos hay crecimiento.

Esto demuestra que si bien la escala de turbidez de la M.I.C. nos da negativa, en los subcultivos se observa crecimiento. La lectura de este ensayo pone en evidencia que en mínimas proporciones mantiene un efecto bacteriostático y no letal. (fig. 2.)

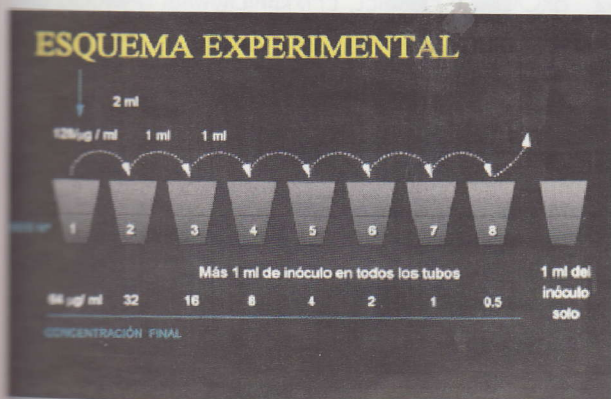


Fig. 1. Esquema experimental. M.I.C.

		CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA							37°C A 48hs.			
		CONCENTRACION µg/ml VALORES							TESTIGO			
MICROORGANISMOS		128	64	36	16	8	4	2	1	0.5	MEDIO	MEDIO + MICROORG
FUSOBACTERIUM PERIODONTICUM	ATCC 33893	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	N	C
PREVOTELLA MELANOGENICA	ATCC 439622	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	N	C
PORFIROMONAS ENDODONTALIS	ATCC 35406	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	N	C
STAPHYLOCOCCUS	INFECC. VALVULAR	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	N	C
STREPTOCOCCUS VIRIDANS	FARINGITIS	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	N	C
STREPTOCOCCUS GRUPO A	ENDOCARDITIS	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	N	C

ND - NO DESARROLLO
C - CRECIMIENTO
N - NEGATIVO

AJUSTE DE TURBIDEZ 0,5 - FARLAND (10⁷ - 10⁸ U.F.C. ml)

Fig. 2. Tabla de resultados de la M.I.C.

DISCUSIÓN

Los resultados "in vitro" de estos estudios definen la acción de la P.L.R.M. ante el espectro de microorganismos empleados aerobios y anaerobios como bacteriostático en todos los casos. Es de destacar que se mantiene la acción en el tiempo habiéndose tomado 56 días de máxima. También fue significativo el hecho de haber empleado el ensayo de M.I.C. que se utiliza para valorar el efecto bactericida de los antibióticos, aplicándolo a un material obturador de actividad antiséptica. Consideramos que la técnica de M.I.C. puede ser aplicada con otros materiales de uso odontológico. Sorpresivamente no obtener turbidez en la escala de lecturas a 37°C a 48hs. y en los repiques de subcultivo obtener desarrollo nos está indicando que en presencia de dosis mínimas (valor 0,5 mg/ml) frena el desarrollo pero sigue sin ser letal. Esta acción no letal sería de suponer que lo es tanto hacia los microorganismos como hacia las células de la lesión, siendo éstas las que montan el proceso reparativo una vez limitado el antígeno.

El concepto de biodisponibilidad en la farmacología actual es relevante. Las investigaciones farmacéuticas se concentran cada vez más en prolongar la acción de sustancias activas y en dirigir las de manera selectiva hacia el punto deseado, eliminando los efectos secundarios.⁽⁷⁻⁹⁾

En nuestra Patología Periapical Crónica se podría especular que la acción terapéutica a través de agentes antisépticos no letales que mantuvieran por liberación lenta un tiempo suficiente en el cual la bacteria no tenga viabilidad considerando el concepto de la biología en que un microorganismo que no se reproduce se considera latente o quiescente, transpolando este efecto a la acción bacteriostática, observamos en este estudio de la P.L.R.M. durante 56 días se transformaría en un parámetro tiempo importante para que el organismo se encargara de eliminar con su mecanismo celular e histoquímico el antígeno y montar el mecanismo reparativo.

Los resultados de nuestros trabajos anteriores (Inóculo de flora endodóntica en ratas con y sin P.L.R.M) evaluados histológicamente, nos indujeron a pensar que algunos de los componentes de las mismas parecerían tener quimiotactismo para células neutrofílicas siendo ésta la barrera microbicida que favorece el descombro del agente agresor.

Si lográramos un equilibrio entre el parámetro tiempo de permanencia de un efecto bacteriostático no

letal de una droga natural, el tiempo de ventaja de la respuesta reparativa y el tiempo necesario de aposición del tejido inicial existente antes del daño (osteocemento) acontecería una restitución ad-integrum situación que acontece muchas veces y que nuestra escuela llama "cierre biológico", pero no siempre. Sin duda el problema es multifactorial, el tipo de respuesta del huésped, anatomofisiología del terreno, la densidad y calidad del agente agresor, el tipo de acción de las maniobras técnico quirúrgicas, la acción terapéutica de algunas sustancias irrigantes o material de obturación empleados en conjunto definen el resultado.

Las herramientas complementarias bacteriológicas - histoquímicas y genéticas - permitirán monitorear con estudios de laboratorio o tests de diagnóstico a través de sondas de ADN, estudios de componentes de fluido intersticial, permitirían conocer el momento evaluativo y el más propicio para actuar en forma menos empírica y con acción terapéutica de mayor especificidad.

CONCLUSIÓN

Los estudios y ensayos de laboratorios "in vitro" realizados en el presente trabajo con P.L.R.M. confirman un efecto bacteriostático con todas las cepas de microorganismos estudiados, en períodos de 0 a 56 días y valores de 1 g hasta 0,5 mg/ml

BIBLIOGRAFÍA

1. BERGEWHOLTZ, G. Effect of bacterial products on inflammatory reactions in the dental pulp. *Scand. J. Dent. Res.* 1977; 85 : 122-9.
2. BROOK, J; FRAZIEL, EH; GHER, ME. Aerobic and anaerobic microbiology of periapical abscess. *Oral. Microbiol. Immunol.* 1991; 6: 123-5.
3. DAHLEW, G; WIKSTION, M; MOLLER, A. Production of histolytic enzymes by a combination of oral bacteria with known pathogenicity. *J. Dent. Res.* 1983; 62: 1041-4.
4. DYMOCK, D; WEIGHTMAN, AJ; SCULLY, C AND WADE, WG. Molecular analysis of microflora associated with microbiology. *HAA*, 1996; 34 : 3537-42.

5. HASHIOKA, K; YAMASAKI, M; NAKAMA, A; HORIBAN; NAKAMURA, A. The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. J. Endodon, 1992; 18 : 558-61.
6. MARESCA, B; FERNÁNDEZ, J; SIERRA, L. Determinación de presión del fluido intersticial ápico-periapical en humanos. Rev. Asoc. odont. Arg., 1992; 80 (4) : 235-40.
7. MASCARO, A; FERREIRA, M; BREWN, C; MARESCA, J; SIERRA L. Estudio fisicoquímico y de estabilidad del sistema óxido de cinc yodoformo en un material de obturación endodóntica. Rev. Scien. Farmac. e Biolog., 1997; 6 (136) : 488-491.
8. SAFAVIK, E; SPAWGBERG, LSW AND LANGELAND, K. Root canal dentinal tubule disinfection. J. Endodon, 1990 ; 16(6) : 270.
9. STASHENKO, P. The role of immunecytokines in the pathogenesis of periapical lesions. Endod. Dent. Traumatol, 1990; 6 : 89-96.
10. SUNDWUIST, G. Ecology of the root canal flora. J. Endodon, 1992; 18(9) : 427-30.
11. TORABINEJAD, M; ELOY, WC; NAIDORF, JJ. Inflammatory cells and immunological aspects of the pathogenesis of periapical lesions. J. Endodon, 1985; 11 : 474-88.



"Septodont, embajador de la odontología francesa en el mundo entero"

ANESTESIAS SEPTODONT

La elección de la anestesia es una decisión importante, el objetivo es facilitársela ofreciendo una calidad garantizada y constante.

Anestubo de cristal neutro con émbolo siliconado

Cuadro comparativo de equivalencias entre las Anestésias de Septodont y las nacionales.

Scandonest 3% Sin vaso constricтор Clorhidrato de Mepivacaina caja x 50 anestubos	Xylocaina 2% Sin vaso constricтор Clorhidrato de Lidocaina caja x 25 anestubos
Scandonest 2% Similar a la Xylocaina Clorhidrato de Mepivacaina non-adrenalina caja x 50 anestubos	Xylocaina Clorhidrato de Lidocaina Epinefrina caja x 50 anestubos
Xylonor 2% Clorhidrato de Lidocaina Tartrato de Adrenalina caja x 50 anestubos	Xylocaina Clorhidrato de Lidocaina Epinefrina caja x 50 anestubos
Septanest 4% Clorhidrato de Articaina Bitartrato de Epinefrina caja x 50 anestubos	Totalcaina Clorhidrato de Carticaina L-Adrenalina caja x 50 anestubos
Xylonor Spray	Presty Spray



SOLICÍTELO EN TODAS LAS CASAS DENTALES DE LA PLATA



M. T de Alvear 2081
(C1122AAE) Buenos Aires
Tel: 011-4821-4114
Fax: 011-4821-3229
0-800-44-Grimberg (47462)
www.grimbergdentales.com
ventas@grimbergdentales.com