

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

FABRICACIÓN DE UN DISPOSITIVO CON SELLADO A PRUEBA DE FUGAS, QUE PERMITA FILTRACIÓN BACTERIANA A TRAVÉS DE UN DIENTE HUMANO PREVIAMENTE OBTURADO.

Tesis presentada a la Facultad de Odontología como requisito para obtener el grado de Especialista en Endodoncia

PRESENTA:

C.D. Eleazar Soto López

DIRECTOR DE TESIS

CDME: Alfredo del Rosario Ayala Ham

ASESOR

DCM. María de Lourdes Verdugo Barraza

Dr. Manuel Gómez Ruelas

Culiacán de Rosales, Sinaloa, Diciembre 2011.

Resumen:

La Universidad Autónoma de Sinaloa, a través de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas y el Laboratorio de Microbiología Molecular, en colaboración con la Facultad de Odontología y la Especialidad Endodoncia hace posible realizar éste trabajo.

El objetivo de ésta tesis fue mostrar la fabricación de un dispositivo a prueba de fugas, con la colocación de un diente humano previamente obturado con la técnica lateral convencional, colocado entre una doble cámara del dispositivo, se presentan todos los elementos componentes y el proceso necesario para su elaboración, así como su prueba de filtración bacteriana en la cual se estuvo sembrando bacterias cada 3 días al igual que se estuvo elaborando caldo TSB (Trypticasa de soya), mas la colocación de un antibiótico.

Colocando el caldo TSB con antibiótico mas bacteria cada tercer día y el retiro del cultivo viejo de su cámara superior realizando un monitoreo diario en las cuales las bacterias nos mostraron su paso a través del diente por medio de la turbidez observada en la cámara inferior en un lapso de 72 días.

Con la fabricación de tal dispositivo, se comprueba que se puede y se sientan bases para que en futuras investigaciones, se cuente con los elementos necesarios y el proceso para la elaboración de dicho dispositivo, ya que los artículos existentes, ninguno muestra la fabricación de dicho dispositivo.

Palabras clave: TSB, (Trypticasa de soya), Turbidez, Filtración.

ABSTRACT:

The Autonomous University of Sinaloa, through the Faculty of Biological Chemistry and Molecular Microbiology Laboratory, in collaboration with the Faculty of Dentistry and the Epecialty of Endodontics makes this work possible. The aim of this thesis was to show the manufacture of a leak-proof device, the placement of a human tooth previously sealed with conventional lateral technique placed between a dual chamber device, presents all the components and the process needed for processing, as well as bacterial leak proof which was spreading bacteria every 3 days as it was preparing broth TSB (trypticase soy), but the placement of an antibiotic. Placing the TSB broth with antibiotics every third day bacteria and removal of old culture of his upper chamber in performing daily monitoring which bacteria were shown passing through the tooth by the observed turbidity in the lower chamber in a within 72 days. With the manufacture of such a device, it is found that you can and feel groundwork for future research are the necessary elements and process for the preparation of this device, because the existing articles, none shows the manufacture of the device.

Keywords: TSB (trypticase soy). Turbidity, Filtration.

AGRADECIMIENTOS:

Gracias al creador por permitir llegar a este día.

A mi Esposa é Hijos, por su comprensión y tolerancia.

A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional, no solo durante este proceso de mi vida, sino a lo largo de ella.

A mi cuñado Jesús, Q.E.P.D. donde quiera que se encuentre.

A mi tía Lupita, por su apoyo de hoy y siempre.

A todos mis compañeros Iván, Rubén, Carlos, Javier, Juan, Vanessa, Claudia, Trinidad, Alma, Verónica, Iris por los buenos momentos que compartimos juntos.

A mis maestros de aula y clínica, por el aporte de sus conocimientos y su amistad desinteresada.

A la Dra. Gloria Yolanda Castro Salazar, Coordinadora de la Especialidad en Endodoncia por sus conocimientos, comprensión y apoyo y permitirme formar parte de su primera generación.

Al Dr. Alfredo del Rosario Ayala Ham, tutor de esta tesis por su tiempo y conocimientos otorgados sin egoísmo.

A la Dra. María de Lourdes Verdugo Barraza, Asesora de tesis por sus conocimientos, tiempo y apoyo incondicional.

Al Dr. Rosalío Ramos Payan, Coordinador y jefe del Laboratorio de Microbiología Molecular de la Facultad de Ciencias Químico

Biológicas, por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

A los compañeros: QFB. Laura, Carolina y Geovanni, que me apoyaron en mi estancia en el laboratorio, sin esperar nada a cambio y a todas aquellas personas que me ayudaron de una u otra manera durante ésta especialidad.

A mi Alma Mater, mi agradecimiento por siempre.

INDICE

CAPÍTULO	PÁGINA
I. Introducción.....	
II. Marco teórico.....	
III. Planteamiento del Problema.....	
IV. Justificación.....	
V. Objetivos.....	
V.1 Objetivo general.....	
V.2 Objetivos específicos.....	
VI. Material y métodos.....	
VII. Resultados.....	
VIII. Conclusiones.....	
IX. Bibliografía.....	

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

A través de la historia, el hombre ha tratado de quitar los dolores dentales de los dientes afectados con caries o por algún traumatismo por medio de la extirpación del paquete vásculo-nervioso, el cual se encuentra en un conducto principal y en numerosos conductos accesorios y lo logra utilizando medios mecánicos y físicos, tales como, los instrumentos y diversas sustancias que alcanzan los lugares inaccesibles a la instrumentación. También ha tenido que buscar los medios adecuados para tratar de cerrar el espacio o hueco dejado por la extirpación de dicho paquete, a lo cual se le ha denominado endodoncia. La obturación del conducto radicular complementa lo que representa el objetivo de la triada endodóntica del conducto radicular (apertura coronaria, saneamiento y sellado endodóntico). Esto refuerza el concepto sobre la importancia de eliminar los espacios vacíos en el interior del diente. La obturación del conducto radicular corresponde a la fase final del tratamiento endodóntico y manifiesta la calidad del mismo por medio del simple aspecto radiográfico que aunque de carácter muy limitado constituye el único medio disponible al momento. El hombre ha utilizado desde láminas de oro, puntas de plata, bronce y un sin número de materiales, siendo la gutapercha la mas utilizada en las diferentes técnicas de obturación del sistema de conductos. [1]

La gutapercha tiene su origen en la resina que exuda el árbol isonandra Guta del orden de la Sapotaceae, su nombre se deriva de dos palabras malayas, eta que significa goma y pertja que es el nombre del árbol y fue introducida para la obturación de conductos radiculares en forma de conos en el año de 1867, por Bowman. [2]

Se han ideado un sin número de técnicas de obturación para tratar de lograr un hermético sellado dentro del conducto radicular, como la técnica de compactación vertical de gutapercha caliente ó técnica de Schilder, en la cual se corta la gutapercha en pequeños trozos, se calienta y se compacta hasta lograr la obturación completa del conducto.[3]

La Técnica de obturación lateral convencional, la cual consiste en colocar un cono de gutapercha en el conducto principal embebido con un cemento sellador e ir creando espacios introduciendo un instrumento dentro del conducto y posteriormente colocando conos accesorios de menor diámetro hasta llenar el conducto radicular de la manera mas compacta posible. Esta técnica ha sido la técnica de obturación mas utilizada a lo largo de la historia de la endodoncia, pero no cumple cabalmente con los requisitos ideales debido a filtración de líquidos, que puede deberse a la interfase del cemento con la dentina o del cemento con el cono de gutapercha por entre el cemento endodóntico o por la disolución del mismo, aun así sigue siendo ésta, la técnica de comparación de todas las otras técnicas que la preceden. [4]

El presente estudio, se hace con la finalidad de elaborar un dispositivo que permita determinar el sellado, la no contaminación de este dispositivo y el tiempo que se requiere para que un microorganismo pase a través de un diente humano previamente obturado con la técnica convencional.

II. MARCO TEÓRICO

II. MARCO TEÓRICO

La endodoncia se remonta a miles de años, en la actualidad se han encontrado rastros de dientes con una antigüedad de 200 años a.c. Un diente humano de un incisivo lateral, que el examen radiográfico reveló la presencia de un alambre de bronce de 2.5 mm implantado en el conducto radicular. Es el ejemplo arqueológico mas antiguo conocido de un diente obturado con un objeto metálico, la probable razón de la primitiva endodoncia es que, en ese tiempo la causa que se atribuía a la enfermedad dental en la zona mediterránea, era la presencia de un gusano que se introducía en el diente, esto puede darnos el indicio respecto al motivo por el que esta pieza dentaria fue obturada con un alambre metálico. Es posible que el alambre se implantara en el conducto del diente para cerrar el paso y evitar que los gusanos dentales penetraran en él y ocasionaran mas dolor dental. La primera mención de la teoría del gusano dental, se encuentra en un papiro de Anastasia del siglo XIII a.c.[5]

La endodoncia ha pasado por una serie de eventos, en los cuales los conocimientos eran más empíricos que científicos. En el año 1838, Maynard fabrica el primer instrumento para uso endodóntico con una muelle de reloj y Miller (1890), demuestra la presencia de bacterias en el conducto y su importancia en la etiología de las enfermedades pulpares y periapicales, con ello, el tratamiento de conductos deja de ser sinónimo de obturación y desde entonces se intenta buscar un medicamento capaz de destruir todos los microorganismos y resolver el problema de los dientes sin pulpa y con infección.[6]

En el año de 1901, se empiezan a utilizar los rayos X en endodoncia, con la finalidad de evidenciar lesiones infecciosas periapicales en los dientes.

Fue hasta el año de 1920, que llegó la teoría de la sepsis oral a los EEUU y se empieza a estudiar clínica y experimentalmente; esto dió pie a que realizaran numerosas investigaciones, y el descubrimiento del Hidróxido de Calcio Ca(OH)_2 como medicación intraconducto. Fue entre los años de 1933 a 1976 que Fish, hace pruebas en las cuales demuestra que el saneamiento del espacio radicular es uno de los pasos mas importantes en la endodoncia y se da la afirmación endodóntica.

También por esa época se da la introducción de los cementos selladores, puntas de plata, conos de gutapercha calibrados y el uso de algunos irrigantes como el hipoclorito de sodio, que fue introducido por Walker en 1936 a la endodoncia, el EDTA (Acido etilendiaminotetraácetico) y otros medicamentos.

En esos años, se da la estandarización de los instrumentos endodónticos y conos de gutapercha propuesta por Ingle y Levine y aceptada por la Asociación Americana de Endodoncia en 1962, conocida hoy en día como (ISO) International Stándar Organization.[6]

En el año de 1963, se da la aceptación para la Asociación Dental Americana de Endodoncia, y el inicio de este último periodo de la endodoncia se da con la llegada de los instrumentos rotatorios de níquel titanio introducido por Walia, Brantly y Gerstein en los años 80. Estas limas, poseían dos o tres veces más flexibilidad elástica que las de acero inoxidable, además de mayor resistencia a la fractura por torsión. A partir del inicio de la década de los noventa, se empiezan a fabricar instrumentos manuales de níquel-titanio.

Debido a la super elasticidad de estas limas, no se aconsejó su uso para la exploración de conductos o para abrir un espacio en dirección apical.

En la actualidad existen un sin numero de sistemas rotatorios que nos ayudan a hacer mas fácil la instrumentación de los conductos radiculares.[5]

A pesar de todos estos avances en el tratamiento del sistema de los conductos radiculares, con el uso de instrumentos, sustancias irrigantes, quelantes y materiales de obturación, no se ha podido encontrar una técnica o material de obturación que impida el paso de líquidos y bacterias a través del conducto, hasta la región periapical cuando éste es expuesto al medio oral. La obturación del conducto radicular, complementa lo que representa el objetivo de la triada endodóntica del conducto radicular (apertura coronaria, saneamiento y sellado endodóntico). Esto refuerza el concepto de la importancia de eliminar los espacios vacíos en el interior del diente.

Muchos objetivos para llenar completamente el sistema de conductos radiculares se pueden enumerar, no obstante, una vez que ha sido finalizado el proceso de saneamiento de la preparación endodóntica, resta aún, llenar el espacio dejado por la pulpa dentaria extraída e impedir de esa forma, que se convierta en un refugio ideal para los microorganismos.[1]

Esto representa la oportunidad de la reparación tisular a partir del reposo ofrecido por este medio a los tejidos periapicales y favorece la osteogénesis (formación de osteocemento). La reestructuración del ligamento periodontal y la reintegración de la lámina dura, el objetivo de la obturación biológica constituye la meta anhelada de alcanzar en la endodoncia moderna (capacidad de relleno, control microbiano y compatibilidad biológica).

Este tratamiento endodóntico debe abarcar detalles especiales, pues después de la ejecución bien orientada de cada paso operatorio previo, el objetivo final a ser alcanzado debe dirigirse únicamente hacia los objetivos de alcanzar la completa impermeabilización del sistema de los túbulos dentinarios para así alcanzar el éxito. En la actualidad se entiende, que la conclusión de la técnica del tratamiento endodóntico se cierra después del perfecto sellado coronario. El término biológico de la obturación vincula al éxito en base a la perfecta salud que se alcance en la reparación del tejido perirradicular.

Varios estudios se han realizado, tratando de demostrar la efectividad de este sellado, sin que hasta el momento se haya logrado encontrar el éxito en un 100%. [7-11]

El material de obturación que mejores resultados ha dado, sin ser aun el deseado pero que cumple con buenas características es la Gutapercha y fue introducida para la obturación de conductos radiculares en forma de conos en el año de 1867, por Bowman. [2]

La gutapercha usada para la obturación de los conductos radiculares, esta compuesta de una serie de materiales que han sido añadidos para permitirle mayores cualidades como son:

Oxido de zinc 60 á 75%, Gutapercha 20%, Sulfatos metálicos, Cera y Resinas, estandarizadas al igual que los instrumentos de limpieza del conducto radicular, representados con la mismos colores en su parte superior, 15 (blanco) 20 (amarilla) 25 (roja) 30 (azul) 35 (verde) 40 (negra) son de un color rosado o anaranjado . Presenta ventajas como:

Buena tolerancia tisular (es biocompatible)

Estabilidad física y química (no se deforma dentro del conducto una vez compactada y endurecida).

Plasticidad (dada por las ceras y resinas).

Posibilidad de ablandamiento

No tiñen

Son impermeables a la humedad (no se disuelven con sustancias orgánicas). Están estandarizadas.

También presenta desventajas como:

Poca rigidez (los diámetros muy pequeños son muy maleables, esto les presenta una dificultad en la obturación de conductos muy finos y curvos).

No presentan adhesividad entre si y al conducto lo que indica la necesidad de un adhesivo del conducto.

Pueden ser expulsadas mas allá del ápice cuando son muy condensadas debido a su plasticidad, (plasticidad dada por la cera).[5]

La gutapercha químicamente pura, existe de dos formas cristalinas diferentes Alfa y Beta, estas formas son intercambiables dependiendo del material.

Fase Beta 37^a C

Fase Alfa 42^a C

La mayoría de los materiales que se encuentran actualmente en el mercado se presentan con la estructura Beta.

Los mas nuevos se fabrican en estructuras cristalina, Alfa para fines con respecto al ablandamiento térmico del material durante la obturación

Este cambio se ha introducido debido a que el calentamiento de la fase Beta (37⁰ C) hace que la estructura cristalina cambie a la fase Alfa cuando es calentada a (42 o 44 C) cuando la gutapercha experimenta una retracción durante la fase de vuelta al estado Beta hace necesario que se de una compactación durante el enfriamiento.

La gutapercha fase Alfa presenta menos encogimiento. [12]

La obturación completa del espacio pulpar, con un material biocompatible e inerte se considera la parte importante del tratamiento del conducto radicular, aunque hay un gran número de materiales de relleno y técnicas de obturación, la combinación de gutapercha y un sellador es el mas utilizado en la práctica clínica.[13]

TÉCNICA LATERAL CONVENCIONAL

La Técnica de Obturación Lateral Convencional, consiste en colocar un cono de gutapercha en el conducto radicular previamente instrumentado , completamente limpio y seco; se selecciona el cono de gutapercha principal o maestro, ajustándolo al diámetro apical del conducto radicular dejado por el ultimo instrumento de preparación, se coloca el cono previamente seleccionado al diámetro apical, se introduce en el conducto principal embebido con un cemento sellador y se van creando espacios, introduciendo un instrumento espaciador entre la pared del conducto radicular y la gutapercha haciendo movimientos de rotación dentro del conducto y posteriormente, se van colocando conos accesorios de menor diámetro hasta llenar por completo el conducto radicular de la manera mas compacta posible, una vez terminada la colocación de los conos accesorios, la gutapercha se recorta con un instrumento caliente y se condensa de manera muy suave verticalmente.[14]

En la actualidad, la gutapercha tiene los mejores resultados clínicos en combinación de un sellador del conducto radicular a pesar de los muchos materiales de relleno de conductos radiculares disponibles, ninguno ha logrado substituir a la gutapercha aunque esta tiene algunas limitaciones sigue siendo el núcleo del material de relleno mas utilizado. [5]

Esta técnica, ha sido la más utilizada a través del tiempo dentro de la endodoncia.

En algunos estudios se comparó la infiltración apical con azul de metileno de diferentes cementos selladores endodónticos (Fill Canal, presentación comercial del cemento de Grossman, N. Rickers , Sealapex y AH 26) con la Técnica de condensación lateral.[3]

En evaluaciones in vivo de filtración coronal, también se ha demostrado la contaminación de toda la longitud de la obturación de los conductos radiculares cuando es expuesta al medio oral. [13]

Muñoz y cols realizaron estudio donde utilizaron modelo de fugas de doble cámara usando el *Enterococcus Faecalis*, en dientes obturados con Real Seal y dientes obturados con gutapercha y no encontraron diferencias estadísticamente significativas en microfiltración entre estos materiales en dientes sin preparar. [15]

Resistencia de fuga de los productos de obturación que se han evaluado tanto en modelos in Vitro como in Vivo.

Los estudios in Vitro han evaluado el paso de colorantes marcadores de bacterias, solución salina y endotoxinas a través de dientes obturados, para estimar la capacidad de las muestras de análisis para resistir la pérdida de la corona de agentes patógenos. [16-19]

Madison y Wilcox, demostraron que la penetración de colorantes se da a lo largo de todo el conducto radicular obturado y expuesto en un ambiente oral ex vivo. [17]

En algunos estudios que se han reportado en pruebas de fugas de filtración bacteriana, algunos investigadores reportan que el *Enterococcus faecalis*, es el microorganismo que se encuentra con

mas frecuencia en la habitual flora oral de los seres humanos y con frecuencia se encuentra en infecciones mixtas y en dientes con conductos no tratados. Reportan que el *Enterococcus faecalis* es probablemente la especie que mejor puede adaptarse y tolerar las condiciones ecológicamente existentes en un conducto radicular infectado.[20-23]

Ali Cagin, Yucel.DDS y cols observaron clínicamente que todas las muestras presentaron filtración bacteriana en un lapso de 60 días, estos hallazgos apuntan a la necesidad de hacer una buena restauración coronaria después de realizar un tratamiento de conductos. [23]

Hovland EJ. Dumsha TJ. han sugerido, que la filtración se produce entre el relleno del material de obturación del conducto y la pared del conducto y que el sellador juega un papel muy importante en la prevención de esta filtración. [4-24]

Arash Shahravan , 2007 y cols encontraron que el valor medio de la penetración de azul de metileno, fue significativamente mayor que la de tinta china. Esto podría explicarse por la parte ácida de azul de metileno, que puede disolver el tejido inorgánico y permitir una mayor penetración o por su tamaño molecular más pequeño en comparación con tinta china. [25]

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que existe una gran cantidad de estudios sobre filtración bacteriana, en los cuales no se muestra una información detallada sobre la fabricación de un dispositivo a prueba de fugas en los cuales se den a conocer los materiales, elementos y pasos necesarios para su elaboración.

¿ Es necesario un dispositivo prototipo a prueba de fugas para futuras investigaciones sobre filtración ?

IV. JUSTIFICACIÓN

IV. JUSTIFICACIÓN

Presentar la fabricación de un modelo con los materiales adecuados y dar a conocer cada una de sus partes y los elementos necesarios para su elaboración, que nos permita mostrar la no filtración de las sustancias líquidas por sus bordes periféricos, sino a través del diente previamente obturado y montado en este dispositivo completamente hermético, el cual nos debe mostrar su sellado más allá del tiempo que se requiere para que se lleve a cabo, una filtración a través del diente previamente obturado que es de 0 a 60 días aproximadamente, para así poderlo tomar como un patrón efectivo de fabricación a seguir y así evitar el error y el fracaso de prueba al no conocer los materiales y elementos necesarios para su fabricación, ya que la mayoría de dispositivos hechos para pruebas de filtración que se han fabricado, es para hacer pruebas de filtración con otras sustancias estáticas como el azul de metileno, tinta china y otros medios líquidos totalmente diferentes al medio a utilizarse en este dispositivo, que es un medio de cultivo con microorganismos viables que se asemeja más a las condiciones que se encuentran en la cavidad oral y dar a conocer los resultados para que se puedan tomar en cuenta en posteriores investigaciones de filtración bacteriana.

V. OBJETIVOS

V. 1 OBJETIVO GENERAL:

- Fabricar un dispositivo completamente hermético, con todos sus elementos y características, que presente un sellado periférico, y permita conocer el tiempo de la filtración de microorganismo, a través de un diente humano previamente obturado.

V.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fabricar un dispositivo de un sellado hermético y observar en este modelo in Vitro, el tiempo de filtración de un microorganismo en los periodos de 0 a 60 días en un diente humano obturado con la técnica de obturación convencional.
- Fabricar un dispositivo de un sellado hermético libre de contaminación, que permita hacer un patrón para su fabricación y uso en futuras investigaciones de filtración bacteriana.
- Comprobar y mostrar los resultados de su eficiencia en el objetivo trazado.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en el edificio de la Facultad de Odontología en la unidad de pos grado, Especialidad en Endodoncia en colaboración con la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, en el Laboratorio de Microbiología Molecular de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Estudio experimental in Vitro, en el cual se utilizaron piezas dentales humanas uniradiculares, las cuales fueron extraídas en la clínica de licenciatura de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Sinaloa y en diversas clínicas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de la ciudad de Culiacán Sinaloa.

Dichos órganos dentales uniradiculares humanos, con sus ápices totalmente desarrollados fueron utilizados. Los datos sobre edad, género o motivo de la extracción no están disponibles.

Los órganos dentales se almacenaron desde el momento de la extracción, hasta su preparación en agua de uso. Los cálculos o tejidos blandos en las raíces fueron removidos con hojas de bisturí, con cuidado de no dañar la superficie de la raíz.

Antes del experimento, se enjuagaron los dientes en agua de uso por un lapso de 2 hrs.

Las coronas de todos los especímenes se seccionaron a nivel cervical, retirando la parte coronal para facilitar su instrumentación con una sierra de diamante rotativa (Accutom Struer Copenhagen Dinamarca).

Los órganos dentales, se estandarizaron a una medida de 14 mm de la parte coronal al ápice de cada órgano dental, se instrumentaron con una técnica manual que fue realizada de manera inicial utilizando limas 15, 20 de acero inoxidable tipo K (Dentsply Maillefer, Ballaigues. Suiza), posteriormente se realizó la instrumentación con el sistema rotatorio Protaper SX S1 S2 F1 F2 F3 y como irritantes, se utilizó hipoclorito de sodio al 5.25%, para retirar desechos orgánicos e inorgánicos, incluyendo la capa de frotis seguido de agua bidestilada y posteriormente solución EDTA 17% (Smear Clear), durante 5 minutos para retirar los restos de dentina y dejar los túbulos dentinarios limpios, se lava con agua bidestilada durante tres minutos para retirar los restos de estas soluciones. Los conductos radiculares se secaron con puntas de papel estéril (Dentsply Maillefer esterilizadas en autoclave durante 20 minutos a 121° mas menos 2°C). Los órganos dentales se esterilizaron de igual manera y posteriormente se obturaron dichos conductos con la técnica antes descrita (técnica de obturación lateral convencional).

Los órganos dentales se seccionaron a 3 mm del foramen apical con un disco de diamante rotativo (Accutom; Strues. Copenhague, Dinamarca), bajo irrigación con agua quedando a 11mm, tratando de estandarizar la longitud de todas las piezas de éste estudio, el remanente se barnizó en la parte externa de cada porción del órgano dental, posteriormente fueron colocados en el modelo previamente diseñado.

Las piezas se colocaron en una gradilla de manera que se pudieran manipular y observar perfectamente.

Para la fabricación del dispositivo se requiere , un mechero de alcohol , soplete Micro-torch Fig. 1 , acrílico (monómero y polímetro) marca Nic-Tone, espátula para cera, godete de vidrio, porta cegueta y cegueta para recortar modelos. Fig 2

Tubo falcon 15 ml Fig.3

Se colocó un mechero de alcohol, para que la flama mantenga una área libre de gérmenes para la fabricación del dispositivo donde fue colocado el órgano dental, se utilizó un tubo falcon de 15 ml al cual se le recorta de 5 a 10 mm Fig.4 de su parte inferior, dependiendo el tamaño y grosor del diente a colocar en el tubo Fig.5 , en el cual fué colocado el órgano dental. Se esterilizaron las partes que componen el dispositivo a 121 °C por un tiempo de 20 min (tubo falcon, recipiente de vidrio) Fig10. Posteriormente, se procedió a la fabricación del dispositivo.

MATERIAL UTILIZADO PARA LA FABRICACIÓN DE DISPOSITIVO

Fig.1



Fig.2



Fig.3



FABRICACIÓN DE DISPOSITIVO

Fig.3



Tubo Falcón

Fig.4



Tubo
Falcón
recortado

Fig.5



Colocación de
diente en tubo
falcon recortado

Fig.6



Unión y sellado de diente con acrílico al tubo Falcon

Fig.7



Unión y sellado de diente con acrílico y cera al tubo Falcon

Fig.8



Recipiente de vidrio

Fig.9



Tubo Falcon con diente sellado con acrílico y cera y recipiente de vidrio

Fig.10



Colocación de recipiente de vidrio en el tubo Falcon con diente sellado con acrílico y cera

Fig.11



DISPOSITIVO TERMINADO

Se colocó el órgano dental previamente esterilizado y obturado con la técnica lateral convencional en la parte inferior del tubo Falcon, el cual fué sellado en todo su diámetro con acrílico rápido auto curable (monómero y polímetro) de la marca (Nic-Toné), mezclado con las recomendaciones que el fabricante indica, rodeando la parte inferior del tubo Falcon y la parte del órgano dental que corresponde Fig 6. Una vez que se ha llevado a cabo el autocurado, se reviste en toda su parte inferior con cera roja para rodillos de la marca (Filenes) Fig.7 la cual fue colocada con una espátula para cera previamente calentada con un soplete (Micro-torch). En la parte inferior del tubo Falcon, se colocó un recipiente de vidrio Fig.10 en el cual se depositó el caldo de cultivo de TSB previamente preparado; dicho recipiente, se coloca de manera que embone lo mas posible a la medida del diámetro del tubo Falcon, el cual se coloca y se rodea en todo su diámetro de cera roja previamente calentada.

Una vez fabricado el dispositivo Fig.11 se colocó agua estéril en su parte superior, para verificar durante 2 días si hubo filtración en la parte sellada por el acrílico y la cera roja, transcurrido ese tiempo se tomaron los dispositivos ya fabricados y probados, en uno de los dispositivos en su parte superior se le colocaron 2 ml del medio de cultivo (TBS) tripticasa de soya con un antibiótico (ampicilina) y una bacteria(*E. coli*) resistente a dicho antibiótico y en la parte inferior se colocan 2 ml. de caldo de cultivo (TSB) tripticasa de soya y posteriormente se sella el tubo Falcon al recipiente de vidrio con cera roja para rodillos de la marca (Filenes). Así mismo en los otros dispositivos, en su parte superior se colocan 2 ml. de caldo de cultivo (TSB) Tripticasa de soya mas antibiótico y en la parte inferior del recipiente de vidrio se coloca 2 ml. de caldo de cultivo (TSB) tripticasa de soya en el otro dispositivo se coloca 2 ml. de caldo de cultivo (TSB) Tripticasa de soya en la parte superior y en la parte inferior 2 ml. de caldo de cultivo (TSB) tripticasa de Soya se sellan con cera roja para rodillos de la marca (Filenes) como control.

Una vez terminados se colocaron en una incubadora a 37 °C +/- a los cuales, al dispositivo que se le colocó el medio de cultivo mas el antibiótico y la bacteria se le realiza cambio de éste caldo de cultivo cada tercer día, para mantener la viabilidad de los microorganismos, hasta que estos logren pasar a través del material de obturación y no a través del sellado del tubo Falcon con el acrílico y la cera roja.

Para la fabricación del medio de cultivo, el fabricante recomienda colocar 36 gramos de (TSB) tripticasa de soya por cada 1000 ml de agua destilada, por lo tanto, en esta investigación se estuvo realizando por 100 ml. de agua destilada a la cual se le colocan 3.6 gramos de (TSB) tripticasa de soya, éstos son colocados en un termoagitador hasta que se encuentran totalmente mezclados y diluidos, luego se esterilizan a 121°C x 20 min, ésta cantidad elegida nos permite tener siempre caldo de cultivo (TSB) tripticasa de soya nuevo.

Para la fabricación del medio de cultivo (TSB) Tripticasa de soya mas el antibiótico para los primeros dispositivos de control es necesario colocar 10 µl (microgramos) de antibiótico por cada 10 ml de (TSB) caldo de cultivo tripticasa de soya. C1 =50mgs.x ml. C2= 50 Microgramos x ml. V2 = 10ml. V1 ?

$$V1 = \frac{C2 \cdot V2}{C1}$$

$$C2 = \frac{50\mu X \text{ ml.} = (V2 \cdot 10\text{ml.})}{50000\mu X \text{ ml.}}$$

$$V1 = 0.01\text{ml.}$$

$$0.01\text{ml.} \times 1000 \mu\text{l} / \text{Cantidad de ml.} = 10\mu\text{l}$$

A 10 ml. de medio de cultivo TBS se le coloca 10µ de antibiótico.

Este procedimiento se lleva a cabo con el siguiente material y equipo:

Tubos de cristal de 9 ml, Puntillas, Pipetas de 20 ml, medio de cultivo (TSB), Bacteria , antibiótico, termo agitador, autoclave, guantes estériles, incubadora, mechero de gas .

Para la obtención de las bacterias, éstas se sembraron en dos cajas de petri .

Caja de petri # 1 se sembró bacteria en la cual crecieron 5 colonias.

Caja de petri # 2 se sembró bacteria y crecieron 32 colonias de bacterias.

La fórmula para calcular UFC.

Número de bacterias contadas x la dilución inoculada en la caja de petri entre la dilución de siembra.

$$100 \mu\text{l} = 0.1\text{ml} = 1-10$$

$$\text{UFC} = \frac{\# \text{ de bacterias contada} \times 10}{1 \times 10^6} = \frac{32 \times 10}{1 \times 10^6} = 0.0000.1$$
$$= 32,000,000$$

300.000.000 UFC X ml(32.000.000) se requiere del nefelómetro de Mac Farland, el cual consta de un numero de 10 tubos que contienen en su interior liquido que presenta cierta turbidez, de acuerdo al grado de esta, es el número de unidades formadoras de colonias que contiene dicho tubo, para lo cual se hizo la comparación introduciendo la bacteria al interior de 6 tubos vacíos, se le aplica solución salina a uno y se diluye, se compara con el primer tubo del nefelómetro de MacFarland, se colocan en una centrifuga a 5000 RPM y a 5 min. Se decanta y se le coloca solución salina a la bacteria que queda en el tubo decantado, se compara con el siguiente tubo y así sucesivamente hasta alcanzar el # de bacterias de 300.000.000 x ml que corresponde al tubo # 1 del nefelómetro de MacFarland.

El nefelómetro de MacFarland, es un sistema para ajustar las bacteria a un número determinado por mililitro, .para ésto es

necesario comparar la turbidez contra una solución de MacFarland, lo cual nos da un estimado de la cantidad de bacilos por mililitro. . Hay una serie de tubos ajustados en el nefelómetro de MacFarland, que se preparan combinando cloruro de bario con ácido sulfúrico ,ésta mezcla forma un precipitado blanquecino con cierta turbidez.

NEFELÓMETRO DE MCFARLAND

TUBO #	BACL2(1%)ML	H2SO4(1%)ML	NUM.BACT.X10⁶/ML
1	0.1	9.9	300
2	0.2	9.8	600
3	0.3	9.7	900
4	0.4	9.6	1200
5	0.5	9.5	1500
6	0.6	9.4	1800
7	0.7	9.3	2100
8	0.8	9.2	2400
9	0.9	9.1	2700
10	0.10	9.0	3000

Cada tubo equivale a 300 millones de bacterias por ml. Este tubo sirve para medir la turbidez a ojo. Se llega a una dilución de 10^6 (UFC) en una comparación al nefelómetro de Mac Farland (tubo1).

En un tubo Falcon de 15 ml, se colocan 3 ml de solución salina y 1 ml de las bacterias ya diluida a la comparación del tubo 1 nefelómetro de MacFarland que equivale a 300 millones de bacterias por ml. y se ponen en refrigeración a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.para prepararlo al siguiente día.

Día # 1. En un tubo, se colocan 10 ml de caldo (TSB) tripticasa de soya y 10 microlitros de antibiótico, se mezclan y una vez mezclados se toman 4 ml del caldo con el antibiótico y se colocan en otro tubo, a éste mismo tubo se añade 1 ml de bacteria que se encontraba en refrigeración a -40°C y se coloca en incubadora en agitación a 37°C por un periodo de 2 a 3 horas, una vez transcurrido ese tiempo se toman 2 alícuotas (tubos Ependorf 1.5 ml) en estos tubos se colocan en cada uno, 800 microlitros del caldo de cultivo nuevo que se incubó por 2 ó 3 horas y a cada tubo se le añaden 200 microlitros de glicerol estéril, se mezclan y se colocan en refrigeración a -40°C para el tercer día repetir el proceso de la incubación.

Una vez realizado el proceso de la inoculación:

Paso # 1, se hace el ajuste de las bacterias, se centrifuga el resto del inóculo a 5000 RPM por 5 min.

Paso # 2, se decanta

Paso # 3, se le coloca 1 ml de solución salina estéril, al tubo de las bacterias.

Paso # 4, en otro tubo se colocan 3 ml. de solución salina estéril y se ajusta agregando gotas del tubo antes decantado hasta que se iguale al tubo # 1 del nefelómetro de MacFarland, que contiene una concentración de 300,000,000 de bacterias aproximadamente x ml de concentrado

Paso # 5, una vez comparados e igualados se centrifuga de nuevo el tubo que se ajustó al tubo # 1 del (NMF) a 5000 RPM. por 5 min., se decanta de nuevo y se le agregan 3 ml. del caldo de cultivo que contiene el antibiótico.

Paso # 6, se reemplaza el contenido del dispositivo que se encuentra en incubación a 37°C, en su parte superior, se reemplaza por 2 ml del nuevo preparado y se coloca de nuevo en incubación a 37°C.

Cada tercer día, se retira una alícuota (tubo Ependorf de 1.5ml) de la refrigeración de -40°C. que contiene 800 µl de bacteria y 200 µl de glicerol.

Se retira el medio de cultivo TSB tripticasa se soya de refrigeración, se coloca en baño maría a 37°C para temperar el medio antes de inocularlo con el contenido de la alícuota (tubo Ependorf 1.5ml). Este proceso es repetido cada tercer día para mantener la viabilidad del microorganismo.

Se necesita cierto material como tubos estériles, solución salina, glicerol, pipeta de transferencia, medio de cultivo (TSB) mas antibiótico, Tubo # 1 de nefelómetro de Macfarland, y tubos Ependorf 1.5ml.

Una vez que los microorganismos logren su paso en el lapso de tiempo establecido, esto se determina por medio de la observación del dispositivo que presenta turbidez en el tubo de cristal hermético donde se encuentra el caldo de cultivo estéril los datos se analizan y presentan.

VII. RESULTADOS

VII. RESULTADOS:

Se realizó el trabajo de cambio del caldo de cultivo con el microorganismo mas el antibiótico del dispositivo cada tercer día por el tiempo establecido, arrojando resultados en un tiempo de 72 días. Fig.12 nos muestra el dispositivo el día de inicio Fig.13 del proceso, en el cual el caldo de cultivo estéril del dispositivo sellado localizado en su parte inferior se encuentra sin turbidez, al igual que la Fig. 13 registrada a los 15 días, la Fig.14 a 30 días, Fig. 15 a 45 días, Fig. 16 a los 60 días y la última a los 72 días, Fig. 17 que nos muestra un grado de turbidez lo cual nos indica que el contenido de la parte superior del dispositivo, logró pasar a lo largo del diente obturado y esto nos indica su filtración.

Fig.12

Día 1



Fig.13

Día 15



Fig.14

Día 30



Fig.15

Día 45



Fig.16

Día 60



Fig.17

Día 72



VIII. CONCLUSIONES

VIII. CONCLUSIONES

- Es de suma importancia la fabricación de un dispositivo de un sellado hermético y poder observar en este modelo in Vitro, el tiempo de filtración de un microorganismo en un periodo de 72 días en un diente humano obturado con la técnica de obturación convencional.
- Se fabricó un dispositivo con un sellado hermético libre de contaminación, que permitió hacer un patrón para su fabricación y uso en futuras investigaciones de filtración bacteriana.
- Se comprobó y se mostraron los resultados de su eficiencia en este documento del objetivo trazado.

IX. BIBLIOGRAFIA

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Holland R. Souza V, Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. J Endod 1985; 11:535-42.
2. <http://www-gacetadental.com/noticia.asp?ref=3853>
3. Estrela C. Ciencia Endodóntica, Sao Paulo Artes Medicas Edit. Latinoamerica, 2005 : 554-576.
4. Hovland E, Dumsha T. Leakage evaluation in vitro of the root canal sealer cement Sealapex. Int Endod J 1985; 18:179-182.
5. Ingle J. Bakland L. Endodoncia 5ta. Ed. México D.F. McGraw-HILL.INTERAMERICANA; 2004 : 1-670.
6. <http://www.endoroot.com/modules/news/article.php?storyid=76>
7. Abmet R. Ozok PhD. Lucas W. Van Der Sluis. Estudio sobre capacidad de sellado de un nuevo material de relleno del conducto radicular a base de polidimetilsiloxano J Endod 2008; 34:2.
8. Saleh I. Ruyter I, Haapasalo M. Orstavik D. Penetración de bacterias a lo largo de diferentes materiales de obturación del conducto radicular en la presencia o ausencia de la capa de frotis Diario internacional de endodoncia ,2008 41: 32-40.
9. Eldeniz A & Orstavik D. A laboratory assessment of coronal bacterial leakage in root canals filled with new and conventional sealers Int. Endod. J. 2009 ;42: 303 -312.
10. De Deus G, Brandao M, Fidel R y S. R. Estudio de capacidad del sellado de guttaflow en conductos radiculares en forma oval en estudio exvivo utilizando colonias polimicrobianas. Departamento de Endodoncia de Rio de Janeiro (Universidad del Edo. de Janeiro) Int. Endod. J. 2007; 40:794-799.
11. Tang H, DDS,MS, Torabinejad M , PhD, and James D Kettering, PhD Leakage Evaluation of Root End Filling Materials Using Endotoxin. J Endod. 2002 Vol; 28 No.1

12. Cohen S, Burns R Vías de la pulpa editorial An Elsevier Imprint. (cap- 9 :287)
13. Torabinejad M, Ung B, Kettering J En la penetración de bacterias in vitro de la coronal sellar los dientes tratados con endodoncia. J Endod. 1990; 16: 566-569.
14. Soares y Goldberg Endodoncia Técnicas y Fundamentos (Editorial medica panamericana).
15. Muñoz et. Al. Microbial Leakage of Enterococcus faecalis After Post Space Preparati3n in Teeth Filled in Vivo With Real Seal Versus Gutta Percha J Endod 2007 ; 33 Num. 6 :673-675.
16. Swanson K Madison S, Una evaluaci3n de la microfiltraci3n coronal en dientes tratados con endodoncia en diferentes periodos de tiempo J. Endod 1987;13:56-9.
17. Madison S, Wilcox L. An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part III. In vivo Study. J Endod 1988; 14:455-458.
18. Derkeson G Pashley D Derkeson M Un nuevo metodo de Vitro Medici3n de microfiltracion de determinados materiales de obturaci3n J Prosthet Dent 1986; 56:435-40.
19. Trope M. Chow E. Nissan R. in Vitro de endotoxin de penetraci3n en coronas con dientes endodonciados sin sellar. Endod Dent Traum 1995; 11:90-4.
20. Rocas, Siqueria J, Santos K Asociaci3n de enterococos Faecalis en dientes con diferentes formas de enfermedades periradiculares. J Endod 2004; 30:315-20.
21. Portenier I, Waltimo T Haapasola M. Enterococos faecalis el sobreviviente estrella del conducto radicular y enfermedad despu3s del tratamiento Endod Top 2003; 6:135 -59.
22. Pitout E. Oberhizer T. Blignaut E. Molepo J. Filtraci3n coronal radicular de los dientes obturados con gutapercha o resil3n como material de relleno J Endod 2006; 32:879-81

23. Yucel A. Guler E. Ertas E. Penetración bacteriana después de la obturación de los conductos radiculares con cuatro diferentes selladores de conductos J Endod 2006; 32: 890-3
24. Hovland E, Dumsha T. Fuga de evaluación in vitro de la canal de la raíz Sealapex sellador. Int Endod. 1985; 18 :179-182.
25. Shahravan A, et. al. Effect Of. Smear Layer on sealing ability o canal obturation a sistematic revew and metanálisis J Endod 2007;33:96-105