



Disponibile online all'indirizzo www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/gie



ARTICOLO ORIGINALE/ORIGINAL ARTICLE

32° CONGRESSO NAZIONALE VINCITORE PREMIO RICCARDO GARBEROGLIO

Valutazione dell'efficacia battericida e dell'incidenza di discromia di associazioni di antibiotici nella terapia di rivascularizzazione

Evaluation of bactericidal efficacy of antibiotic associations and incidence of root discoloration in revascularization therapy

Tatiana Denisova^{1,*}, Damiano Pasqualini¹, Narcisa Mandras¹, Janira Roana², Valeria Allizond², Paola Crosasso³, Mara Burlando³, Giuliana Banche², Anna Maria Cuffini², Elio Berutti¹

¹ Università di Torino, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Dental School, Endodonzia - Torino, Italia

² Università di Torino, Dipartimento di Salute pubblica e Pediatria, Torino, Italia

³ Dipartimento di Farmacologia, AOU Città della Salute e della Scienza, Torino, Italia

Ricevuto il 15 maggio 2013; accettato il 27 maggio 2013

Disponibile online il 19 giugno 2013

PAROLE CHIAVE

Terapia di rivascularizzazione;
Antibiotici;
Discromia;
Minociclina;
Radice immatura.

Riassunto

Obiettivi: Confrontare l'efficacia antibatterica di quattro diverse combinazioni antibiotiche su specie batteriche prelevate da canali radicolari infetti e l'incidenza di discromia radicolare.

Materiali e metodi: Il prelievo microbiologico è stato eseguito da 29 elementi con diagnosi di necrosi pulpare utilizzando coni di carta sterili conservati in provette contenenti 2 ml di tioglicolato. I campioni sono stati piastrati su agar ed esposti ai 4 diversi gruppi di antibiotici ($p < 0,05$). Inoltre 65 elementi monocalari sono stati testati con le 4 formulazioni per 3 settimane per valutare l'incidenza di discromia.

* Autore di riferimento: Tatiana Denisova, Via Silvio Pellico 44, Bra (CN) 12042. Cel.: +39 3207455831/Tel.: +39 0172423203.

E-mail: de.tania@hotmail.com (T. Denisova).

Peer review under responsibility of Società Italiana di Endodonzia.



Production and hosting by Elsevier

1121-4171/\$ – see front matter © 2013 Società Italiana di Endodonzia. Production and hosting by Elsevier B.V. Tutti i diritti riservati.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.gien.2013.05.011>

KEYWORDS

Rivascolarization therapy;
Antibiotics;
Discoloration;
Minociclin;
Immature roots.

Risultati: La mediana dell'indice di sopravvivenza: TRIMIX (1,029); TRIFOSFO (1,006); TRICLARITRO (1); BIMIX (1,115). La differenza tra i gruppi è significativa ($p < 0,0001$). Solo nel gruppo TRIMIX è stata osservata discromia delle radici.

Conclusioni: La claritromicina è una valida alternativa alla minociclina nella formulazione antibiotica.

© 2013 Società Italiana di Endodonzia. Production and hosting by Elsevier B.V. Tutti i diritti riservati.

Summary

Objectives: Compared the antibacterial efficacy of four mixture antibiotics on bacteria from infected root canal and the incidence of root discoloration.

Methods: Bacterial sample was taken from 29 teeth with a diagnosis of pulpal necrosis with acute or chronic apical periodontitis. In the microbiology laboratory bacterial sampling was placed in contact with 4 groups of antibiotics and compared in both group. ($p < 0.05$). Furthermore, 65 root canals of extracted human single-root teeth, after preparation (cleaning, shaping) were divided into 5 groups and brought into contact with 4 groups of antibiotics for 3 weeks.

Results: Median survival index: TRIMIX (1,029); TRIFOSFO (1,006); TRICLARITRO (1); BIMIX(1,115). Difference between groups is statistically significant ($P < 0,0001$). Only TRIMIX caused a discoloration of the roots. In the other 3 groups and the control group the color of the roots remained unchanged.

Conclusion: Clarithromycin may be used in place of minocycline in the triple antibiotic pasta, as the dressing in the therapy of revascularizzati.

© 2013 Società Italiana di Endodonzia. Production and hosting by Elsevier B.V. All rights reserved.

Introduzione

Negli ultimi 20 anni sono stati eseguiti vari studi al fine di proporre un protocollo rigenerativo della polpa che permettesse di completare la formazione della radice anche in condizione di necrosi pulpare¹. Sono stati pubblicati numerosi casi clinici in cui la terapia di rivascolarizzazione è stata utilizzata con successo.²⁻⁷ La terapia si basa sulla sopravvivenza di cellule staminali localizzate nello spazio periapicale, che dovrebbero differenziarsi in odontoblast like cells i quali a loro volta favoriscono la deposizione della dentina.⁸

Il controllo dell'infezione è la chiave del successo in terapia rigenerativa.⁸ La gravità dell'infezione è correlata all'entità del tessuto infiammatorio e alla distruzione dei tessuti, quindi ostacola la capacità rigenerativa dei tessuti da parte delle cellule staminali.⁹

Hoshino e Sato hanno proposto il "Trimix", medicamento intracanalare (Ciprofloxacina, Metronidazolo, Minociclina), efficace nell'eliminare i patogeni endodontici^{10,11}. Solo la combinazione di questi tre antibiotici ha una maggiore efficacia, perchè nessuno di questi farmaci da solo è in grado di portare alla completa eliminazione dei batteri patogeni responsabili dell'infezione. Successivamente, è stato dimostrato che la minociclina può causare discromia a contatto con la dentina¹². Ai fini di prevenire, la discromia della radice e la parte cervicale della corona a causa di applicazione di minociclina è stata proposta anche la tecnica dello sigillo dei tubuli dentinali 3 mm al di sotto della CEJ⁷.

Alcuni autori hanno proposto l'eliminazione della minociclina dal TRIMIX di Hoshino e Sato ed utilizzare il BIMIX (metronidazolo, ciprofloxacina) per eliminare l'effetto indesiderato della discromia¹³.

L'Obiettivo di questo studio:

- confrontare l'efficacia battericida di quattro miscele di antibiotici sulla carica batterica prelevata.

- la capacità di queste micelle di antibiotici di causare la discromia del dente.

Materiali e metodi**Prelievo dei campioni**

Sono stati reclutati 29 soggetti sani presso Dental School di Torino con diagnosi di necrosi pulpare, con o senza periodontite apicale e in assenza di lesione cariosa.

Sono stati raccolti i dati sullo stato di salute generale e sullo stato pulpare e parodontale tramite test termico ed elettrico, palpazione e percussione e una radiografia periapicale. Dopo anestesia locale e isolamento del dente con la diga, è stata eseguita la cavità di accesso.

Il prelievo microbiologico dal canale radicolare è stato eseguito con i coni di carta sterili e trasportati dentro una provetta con 2 ml di tioglicolato con vitamina K1 ed emina. I campioni sono stati inviati immediatamente al laboratorio di microbiologia ed analizzati entro un'ora dal prelievo.

Analisi microbiologica

Al fine di valutare la carica batterica presente nel prelievo, per ogni campione sono state allestite delle diluizioni scalari 1:10 in acqua distillata sterile, poi seminate su terreni di Thyoglycollate medium agar (TGA) arricchito con vitamina K1 ed emina.

Aliquote di 100 µl provenienti da ogni campione sono state seminate su TGA contenenti:

- ciprofloxacina (2 µg/ml), metronidazolo (8 µg/ml) e minociclina (4 µg/ml): TRIMIX;
- ciprofloxacina (2 µg/ml), metronidazolo (8 µg/ml) e fosfomicina (64 µg/ml): TRIFOSFO;

- ciprofloxacina (2 µg/ml), metronidazolo (8 µg/ml) e claritromicina (2 µg/ml): TRICLARITRO;

- ciprofloxacina (2 µg/ml) e metronidazolo (8 µg/ml): BIMIX;

Le concentrazioni utilizzate per la claritromicina, la fosfomicina, la minociclina e la ciprofloxacina sono state ottenute da MIC realizzate su *E. faecalis* ATCC 29212; per quanto riguarda il metronidazolo, si è fatto riferimento ai valori di MIC del CLSI per *Enterococcus* spp.

Contemporaneamente, aliquote di 100 µl sono state seminate su TGA privi di farmaco (controlli positivi). Tutte le piastre sono state incubate a 37 °C con TGA in sacchetti contenenti generatori di atmosfera anaerobica. Tutte le colture sono state incubate per almeno 2 settimane e controllate ogni 3 giorni. Le conte microbiche sono state espresse come carica microbica e riportate sotto forma di unità formanti colonia/ml (UFC/ml) (Fig. 4).

L'efficacia battericida nei diversi gruppi è stata valutata attraverso indice di sopravvivenza. Per analisi dei dati è stata utilizzata una analisi statistica discreta e inferenziale: Kruskal-Wallis Test e Dunn's test per le comparazioni multiple ($p < 0.05$) con Software SPSS per Windows 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

Test di Discromia

Sono stati utilizzati 65 radici di elementi dentali umani estratti, monocalari non trattati endodonticamente. Le radici sono stati sagomati fino a F5 ProTaper (Dentsply Maillefer) con irrigazione alternata (l'ipoclorito di sodio al 5% e EDTA 10%). La superficie esterna è stata isolata con il bonding. Le radici sono stati sagomati, divisi in 5 gruppi e all'interno dei canali è stato messo rispettivamente 4 gruppi di antibiotici per 3 settimane. (Fig. 1)

Risultati

Analisi microbiologica

I risultati della analisi dei 29 prelievi effettuati, considerando la mediana del indice di sopravvivenza, in cui più il valore si avvicina a 1, maggiore è l'efficacia antibatterica.: TRIMIX (1,029); TRIFOSFO (1,006); TRICLARITRO (1); BIMIX (1,115). Differenza tra i gruppi è statisticamente significativa ($P < 0,05$). (Fig. 2)

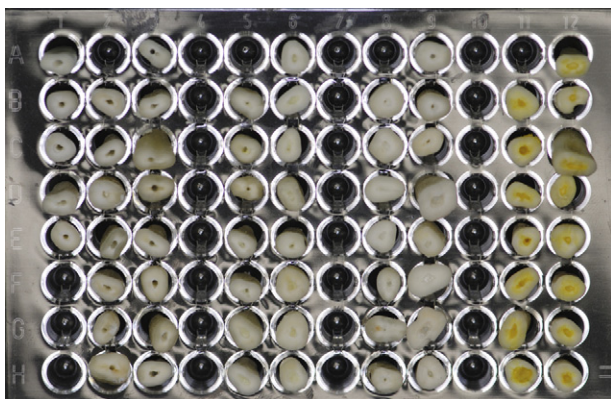


Figura 1 Test di discromia. Foto iniziale.

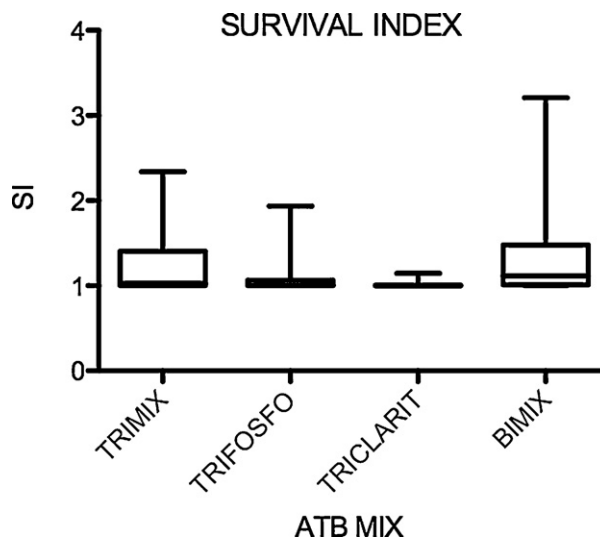


Figura 2 L'indice di sopravvivenza nei gruppi testati: statistica descrittiva.

In un caso del gruppo TRIMIX e tre di BIMIX è stata osservata la ri-crescita e non la riduzione dei batteri a contatto con gli antibiotici. La differenza tra i gruppi è statisticamente significativa ($P < 0,0001$).

Test di discromia

Solo il gruppo TRIMIX (minociclina, ciprofloxacina, metronidazolo) hanno causato una discromia delle radici. Negli altri 3 gruppi e il gruppo di controllo il colore delle radici rimasti invariati. (Fig. 3)

Discussione

La chiave del successo della terapia endodontica rigenerativa dei denti permanenti con polpa necrotica è l'eliminazione di infezione dal sistema dei canali radicolari⁸ (Fig. 4).

Il TRIMIX introdotto da Sato e Hoshino contenente la minociclina e provoca la discromia a contatto con la dentina radicolare, legandosi agli ioni calcio attraverso la chelazione per formare un complesso insolubile, l'esatto meccanismo non è ancora chiaro¹⁴.

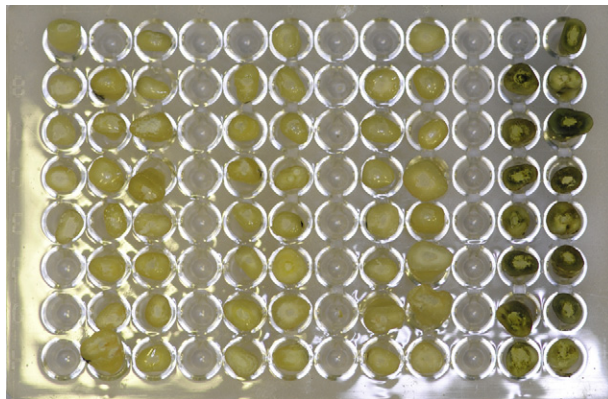


Figura 3 Test di discromia. Dopo 3 settimane di incubazione.

sample	control	TRIMIX	TRIFOSFO	TRICLARITRO	BIMIX
1	188	15	5	26	40
2	11	1	0	0	2
3	562	297	92	0	95
4	660	0	0	0	20
5	1390	0	0	0	19
6	26	0	1	0	3
7	456000	1440	1000	173	1000
8	1440	618	0	24	464
9	34000	0	2	0	1000
10	1284	1120	941	1	912
11	928	732	868	5	704
12	5	0	0	0	1
13	198	0	0	0	3
14	139	17	3	3	29
15	86000	676	3	20	240
16	3000	83	1	1	10
17	2608	928	95	0	428
18	9500	57	67	0	26
19	483	281	0	0	507
20	51400	1000	2240	300	1000
21	33	0	0	0	1
22	794	56	66	1	32
23	2168	1564	105	46	1388
24	370000	1000	2162	2352	1000
25	396	130	240	57	251
26	1596	2136	1448	29	1880
27	728	275	132	1	1608
28	530000	8392	44	10	2580
29	34000	1000	0	5	222

Figura 4 Analisi microbiologica. Le conte microbiche sono state espresse come carica microbica e riportate sotto forma di unità formanti colonia/ml (UFC/ml).

Nel gruppo TRICLARITRO la minociclina è stata sostituita con la claritromicina, la quale ha una buona distribuzione tessutale¹⁵.

L'attività antimicrobica di TRIFOSFO e di TRICLARITRO è risultata più efficace di quella di TRIMIX e BIMIX. Il mix TRICLARITRO induce una riduzione della carica batterica maggiore rispetto al gruppo TRIFOSFO. Inoltre, considerando la valutazione complessiva su tutti i campioni, l'attività battericida di TRICLARITRO è di circa tre - quattro volte superiore a quella osservata in TRIMIX e in BIMIX e di due volte superiore a quella della TRIFOSFO.

Il cambiamento di colore della superficie radicolare è stato osservato solo nel gruppo TRIMIX e rimasto invariato in altri 4 gruppi. Questo conferma che la minociclina è la responsabile dell'scolorimento coronale.

Conclusioni

In conclusione possiamo affermare che:

- l'efficacia battericida di TRICLARITRO e TRIFOSFO è significativamente superiore ai TRIMIX e BIMIX, contro i batteri prelevati;
- TRICLARITRO ha mostrato la maggiore capacità di eliminare batteri in vitro in comparazione con TRIFOSFO;

- entrambi i gruppi sia TRICLARITRO che TRIFOSFO non causano la discromia della radice e della corona dentale.

Rilevanza clinica

Sulla base dei risultati di questo lavoro possiamo affermare che la combinazione antibiotica (claritromicina, metronidazolo, ciprofloxacina) è efficace nella riduzione dell'infezione intracanalare in vitro e potrebbe essere utilizzato come il medicamento intracanalare, nella terapia rigenerativa.

Conflitto di interessi

L'autore dichiara l'assenza di conflitto di interesse.

Bibliografia

1. Thibodeau B, Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent* 2007;29:47-50.
2. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 2004;30:196-200.

3. Petrino JA. Revascularization of necrotic pulp of immature teeth with apical periodontitis. *Northwest Dent* 2007;**86**:33–5.
4. Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *J Endod* 2008;**34**:876–87.
5. Cotti E, Mereu M, Lusso D. Regenerative treatment of an immature, traumatized tooth with apical periodontitis: report of a case. *J Endod* 2008;**34**:611–6.
6. Shin SY, Albert JS, Mortman RE. One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. *Int Endod J* 2009;**42**:1118–26.
7. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discoloration: a case report. *Int Endod J* 2009;**42**:84–92.
8. Murray P, Garcia-Godoy F, Hargreaves K. Regenerative endodontics: A review of current status and a call for action. *J Endod* 2007;**33**(4):377–90.
9. Huang GTJ, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod* 2008;**34**: 645–51.
10. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J* 1996;**29**:118–24.
11. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Kota K, Iwaku M. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *International Endodontic Journal* 1996;**29**:125–30.
12. Kim J, Kim Y, Shin S, Park J, Jung I. Tooth Discoloration of Immature Permanent Incisor Associated with Triple Antibiotic Therapy: A Case Report. *J Endod* 2010;**36**:1086–91.
13. Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent Traumatol* 2001;**17**:185–7.
14. Kumar A, Kumar V, Singh J, Hooda A, Dutta S. Drug-induced discoloration of teeth: an updated review. *Clin Pediatr* 2012;**51**:181–5.
15. Agarwal E, Pradeep AR, Pavan B, Savitha BN. Efficacy of local drug delivery of 0.5% clarithromycin gel as an adjunct to non surgical periodontal therapy in the treatment of chronic periodontitis subjects among smokers – a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 2012;**9**:1155–63.