

Efecto de la anfotericina B en cultivo de células madre mesenquimales de pulpa dental.

DARRIGRAN, L; DE VITA, L; MAYOCCHI, R M; SERAFINO, B; MAYOCCHI, K; BLASETTI, N; ARCURI, M.
Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología (LBMB) Facultad de Odontología UNLP.

El éxito del aislamiento de células madre pulpaes (CMP) exige protocolos estrictos para su obtención, teniendo en cuenta los cuidados necesarios durante todo el procedimiento, debido a la presencia de numerosas especies microbianas en boca. Para evitar la contaminación del cultivo, se añaden fármacos, antibióticos y antifúngicos al medio de cultivo. Estudios previos usaron sólo antibióticos como penicilina, estreptomicina, gentamicina y otros agregaron antifúngicos como anfotericina B. **El objetivo** de este trabajo fue evaluar si existe efectos citotóxicos para las células madre pulpaes (CMP) en cultivo. **Material y métodos:** Se realizó un diseño experimental analítico, cuali-cuantitativo y transversal. Se conformaron dos tipos de cultivo en placas de Petri: G1: DMEM-F12 adicionado con SFB 10% +penicilina + estreptomicina + CMP; G2: DMEM-F12 adicionado con SFB +penicilina + estreptomicina + anfotericina B + CMP, ambos a 48 hs a 37 °C y 5% de CO₂ con 9 x 10⁶ CMP iniciales. **Tratamiento de datos** Para la determinación de la proliferación y adhesividad se utilizaron dos métodos: el conteo de las células en cámaras de Neubauer utilizando el colorante de exclusión Azul Tripiano, y la observación por Microscopía de contraste de fases. **Resultados:** En la caracterización morfológica se observaron: G1: células vivas, fusiformes, con emisión de prolongaciones, bien adheridas a la superficie del plástico, con 7 x 10⁶ células. Las células muertas estaban teñidas de azul y en cultivo redondeadas y refringentes. En G2 se observó una notable disminución de células adheridas, encontrándose flotantes células redondeadas refringentes, y células muertas teñidas de azul. El conteo arrojó un número $\leq 6 \times 10^6$ células y las células adheridas de aspecto fusiforme. **Conclusiones:** Los resultados de este estudio demostraron que al utilizar anfotericina B en el medio de cultivo disminuyó la cantidad de células viables de la pulpa dental, en contraposición con otros estudios realizados.

Effect of Amphotericin B on Pulp Mesenchymal Stem Cell Culture

DARRIGRAN, L; DE VITA, L; MAYOCCHI, R M; SERAFINO, B; MAYOCCHI, K; BLASETTI, N; ARCURI, M.
Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología (LBMB) Facultad de Odontología UNLP.

The successful isolation of pulp stem cells (PSC) requires strict protocols to obtain them, taking into account the necessary care throughout the procedure, due to the presence of numerous microbial species in the mouth. To avoid contamination of the culture, drugs, antibiotics, and antifungals are added to the culture medium. Previous studies used only antibiotics such as penicillin, streptomycin, gentamicin and others added antifungals such as Amphotericin B. The objective of this work was to evaluate whether there are cytotoxic effects for pulp stem cells (PSC) in culture. **Material and methods:** An analytical, qualitative-quantitative and cross-sectional experimental design was carried out. Two types of culture were formed in Petri dishes: G1: DMEM-F12 added with 10% FBS + penicillin + streptomycin + PSC; G2: DMEM-F12 added with FBS + penicillin + streptomycin + amphotericin B + PSC, both at 48 h at 37 °C and 5% CO₂ with 9 x 10⁶ initial PSC. **Data treatment** Two methods were used to determine proliferation and adhesiveness: counting cells in Neubauer chambers using the Trypan Blue exclusion dye, and observation by phase contrast microscopy. **Results:** In the morphological characterization, the following were observed: G1: live cells, spindle-shaped, with emission of prolongations, well adhered to the surface of the plastic, with 7 x 10⁶ cells. Dead cells were stained blue and in culture rounded and refringent. In G2, a notable decrease in adhered cells was observed, with refractive rounded cells floating, and dead cells stained blue. The count yielded a number $\leq 6 \times 10^6$ cells and adhered cells with a spindle-shaped appearance. **Conclusions:** The results of this study showed that using Amphotericin B in the culture medium decreased the number of viable cells in the dental pulp, in contrast to other studies carried out.