

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Posgrados**

**Comparación *in vitro* de la microfiltración corono-apical del  
*Enterococcus faecalis* con tres diferentes técnicas de obturación:  
lateral, vertical y de vástago, en premolares unirradiculares**

**Od. Dora Luz Arellano Colorado**

**Dr. Nicolás Castrillón Sarria**

**Director de Trabajo de Titulación**

**Trabajo de titulación de posgrado presentado como requisito  
parar la obtención del título en la especialidad de Endodoncia**

Quito, 1 de diciembre de 2017

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**COLEGIO DE POSGRADOS**

**HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Comparación *in vitro* de la microfiltración corono-apical del  
*Enterococcus faecalis* con tres diferentes técnicas de obturación:  
lateral, vertical y de vástago, en premolares unirradiculares**

**Dora Luz Arellano Colorado**

Dr. Nicolás Castrillón Sarria  
Especialista en Endodoncista  
Director del Trabajo de Titulación

---

Nicolás Castrillón Sarria  
Especialista en Endodoncista  
Director del Programa de Endodoncia

---

Dra. Paulina Aliaga Sancho  
Cirujana Oral y Maxilofacial  
Decana de la Escuela de Odontología

---

Hugo Burgos, PHD  
Decano del Colegio de Posgrados

---

Quito, 1 de diciembre de 2017

### © Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

---

Nombre:

Dora Luz Arellano Colorado

Código de estudiante:

00115860

C.I:

040113919-1

Quito, 1 de diciembre de 2017

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a mi madre, quien siempre supo ayudarme moral y económicamente para lograr ser mejor como persona, mujer, madre y profesional.

A Oscar Andrade, mi compañero y complemento; por la paciencia y comprensión frente a las duras situaciones que pasamos y por estar siempre al tanto de nuestros hijos.

A mis tres hijos: Camilo, Nicolás y José Manuel, siendo mi motivación constante para superarme cada día y así poder darles un mejor futuro y el mejor de los ejemplos.

## **AGRADECIMIENTO**

A todos mis profesores del Posgrado de Endodoncia de la Universidad San Francisco de Quito, quienes supieron impartir sus conocimientos y experiencias para poderlas implementarlas en mi diario profesional.

A mi director de trabajo de titulación, Dr. Nicolás Castrillón Sarria que supo guiarme en la selección de mi tema y estar al tanto de mi trabajo hasta poder finalizarlo.

Al Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito, por el uso de sus instalaciones, equipos, materiales y reactivos; y la colaboración del Ingeniero Juan Mosquera que contribuyó al desarrollo de este trabajo de titulación.

## RESUMEN

El propósito de este estudio *in vitro* fue comparar el tiempo de microfiltración coronal apical usando *Enterococcus faecalis* entre tres diferentes técnicas de obturación: condensación lateral, condensación vertical y obturación con vástago de gutapercha durante 22 días. Cuarenta premolares unirradiculares extraídos fueron decoronados y las raíces instrumentadas a longitud de trabajo de 15,5mm hasta la lima Reciproc R50. Se dividieron de manera aleatoria en 3 grupos de estudio de 10 raíces cada uno con diferentes técnicas de obturación usando como cemento obturador Top Seal y 2 grupos control de 5 raíces cada una que no fueron obturados.

La observación de la microfiltración bacteriana se realizó con la técnica modificada de Torabinejad y col de 1990, que consistía en colocar el diente obturado en un tubo plástico Falcon dividido en cámaras que evidencien el paso del *E. faecalis* desde la cámara superior hasta la cámara inferior donde se encontraba el reactivo identificador de la bacteria Chromocult de la bacteria.

El análisis estadístico usando la prueba de Kruskal-Wallis reveló como resultado que el grupo de obturación con vástago y obturación vertical fueron estadísticamente superiores al grupo de obturación lateral. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre la obturación lateral y el control positivo, ni tampoco entre la obturación con vástago y la obturación vertical ( $p > 0.05$ ).

En conclusión, la obturación con vástago de gutapercha mostró mayor resistencia a la filtración del *E. Faecalis*, pero no fue estadísticamente superior a la obturación vertical de onda continua.

### **Palabras claves (de 5 a 10)**

Endodoncia, obturación endodóncica, técnicas de obturación, filtración bacteriana, *Enterococcus faecalis*, gutapercha, GuttaCore, Chromocult

## ABSTRACT

The purpose of this *in vitro* study was to compare microleakage time using *Enterococcus faecalis* between three different filling techniques: lateral condensation, vertical condensation and gutta-percha carrier-based obturation for 22 days. Forty single-root premolars extracted were decoronated and the roots were prepared at working length of 15,5mm until Reciproc R50. They were randomly divided into 3 study groups of 10 roots each with different obturation techniques using Top Seal as sealer and 2 control groups of 5 roots each that were not sealed.

The observation of bacterial microfiltration was carried out with the modified technique of Torabinejad et al. 1990, which consisted of placing the filled tooth in a split Falcon plastic tube into chambers evidencing that *E. faecalis* over from the upper chamber to the lower chamber where was the bacteria identification reagent Chromocult.

The statistical analysis using the Kruskal-Wallis test revealed as a result that core-carrier gutta-percha obturation and vertical obturation groups were statistically superior to lateral obturation group. No statistically significant difference was found between the lateral obturation and positive control, nor between core-carrier technique and vertical obturation ( $p > 0.05$ ).

In conclusion, core-carrier gutta-percha obturation group showed greater resistance to filtration of *E. faecalis* but it was not statistically superior to vertical condensation group.

**Key words:**

Endodontic, endodontic filling, Obturation Technique, bacteria leakage, *Enterococcus faecalis*, gutta-percha, GuttaCore, Chromocult

## TABLA DE CONTENIDO

Resumen.....	6
Abstract.....	7
Tabla de contenido.....	8
Índice de figuras.....	11
Índice de tablas.....	14
CAPÍTULO 1.....	15
1. El problema.....	15
1.1 Planteamiento del problema .....	17
1.2 Justificación.....	18
1.3 Objetivos.....	18
1.3.1 Objetivo general.....	18
1.3.2 Objetivos específicos.....	18
1.4 Hipótesis.....	19
1.4.1 Hipótesis de investigación.....	19
1.4.2 Hipótesis nula.....	19
CAPÍTULO II.....	20
2. Marco teórico.....	20
2.1 Materiales de obturación.....	20
2.1.1 Materiales de obturación sólidos.....	21
2.1.1.1 Gutapercha.....	22
2.1.1.1.1 Presentaciones de la gutapercha.....	23
2.1.1.1.1.1 Obturadores en vástago.....	23

2.1.1.1.1.1.1 GuttaCore.....	25
2.1.2 Materiales de obturación plásticos.....	27
2.1.2.1 Cementos selladores.....	27
2.1.2.1.1 Cementos resinosos.....	28
2.1.2.1.1.1 Top Seal.....	30
2.2 Técnicas de Obturación.....	31
2.2.1 Condensación lateral en frío.....	31
2.2.2 Condensación vertical de onda continua de calor.....	32
2.2.3 Obturación con vástago de gutapercha termoestable .....	36
2.3 Filtración bacteriana radicular.....	37
2.3.1 Pruebas de filtración.....	39
2.3.2 <i>Enterococcus faecalis</i> .....	40
2.3.3 Infusión cerebro corazón (BHI).....	41
2.3.4 Caldo de Enterococcus Chromocult.....	43
2.3.5 Cabina de bioseguridad biológica.....	43
CAPÍTULO III.....	45
3 Metodología.....	45
3.1 Tipo y diseño del estudio.....	45
3.2 Población y muestra del estudio.....	45
3.3 Criterios de inclusión.....	45
3.4 Criterios de exclusión.....	46
3.5 Variables.....	46
3.5.1 Conceptualización y operacionalización de las variables.....	46
3.6 Materiales.....	46
3.7 Procedimiento.....	50

	10
3.7.1 Recolección de muestras.....	50
3.7.2 Preparación e instrumentación de las raíces.....	50
3.7.3 Fabricación de la cámaras.....	55
3.7.4 Obturación de las raíces.....	58
3.7.5 Preparación de la infusión cerebro corazón (BHI).....	62
3.7.6 Cultivo de <i>Enterococcus faecalis</i> y contaminación del BHI.....	63
3.7.7 Contaje directo de bacterias viables al microscopio.....	64
3.7.8 Preparación del caldo Chromocult.....	66
3.7.9 Montaje de cámaras.....	66
3.8 Aspectos bioéticos.....	71
CAPÍTULO IV.....	72
4 Resultados.....	72
4.1 Análisis descriptivo.....	74
4.2 Análisis estadístico.....	76
4.2.1 Pruebas de distribución normal.....	76
4.2.2 Pruebas no paramétricas: Kruskal-Wallis.....	79
4.3 Discusión.....	82
CAPÍTULO V.....	87
5 Conclusiones y recomendaciones.....	87
5.1 Conclusiones.....	87
5.2 Recomendaciones.....	88
BIBLIOGRAFÍA.....	89

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	
Medición estándar de dientes.....	50
<b>Figura 2</b>	
Corte estandarizado de dientes.....	51
<b>Figura 3</b>	
Radiografías periapicales iniciales.....	51
<b>Figura 4</b>	
Patentización.....	52
<b>Figura 5</b>	
Material de instrumentación recíprocante .....	52
<b>Figura 6</b>	
Activación ultrasónica.....	53
<b>Figura 7</b>	
Distribución aleatoria de raíces en grupos .....	54
<b>Figura 8</b>	
Conometrías radiográficas .....	55
<b>Figura 9</b>	
Corte de tubos Falcon.....	56
<b>Figura 10</b>	
Corte de tubos y ensamblaje de raíz.....	56
<b>Figura 11</b>	
Selle de interfase con calor entre raíz y tubo.....	57
<b>Figura 12</b>	
Rotulación de tubos.....	57
<b>Figura 13</b>	
Preparación para esterilización de muestras.....	58
<b>Figura 14</b>	
Estandarización de cantidad de cemento.....	58

<b>Figura 15</b>	
Desinfección de conos de gutapercha.....	59
<b>Figura 16</b>	
Esterilización con UV en cámara de flujo.....	59
<b>Figura 17</b>	
Obturación radicular con técnica de condensación lateral.....	60
<b>Figura 18</b>	
Obturación radicular con técnica de condensación vertical.....	61
<b>Figura 19</b>	
Obturación radicular con vástago de gutapercha.....	62
<b>Figura 20</b>	
Medición y preparación de BHI.....	62
<b>Figura 21</b>	
Cultivo de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	63
<b>Figura 22</b>	
Toma de colonias e inoculación en BHI.....	64
<b>Figura 23</b>	
Toma de muestra y depósito en cámara Pretoff Hausser.....	64
<b>Figura 24</b>	
Observación y contaje de bacterias al microscopio.....	65
<b>Figura 25</b>	
Medición y preparación de Chromocult.....	66
<b>Figura 26</b>	
Selle de interfase con resina epóxica entre raíz y tubo.....	67
<b>Figura 27</b>	
Almacenamiento de muestras para fraguado de resina epóxica.....	67
<b>Figura 28</b>	
Instalación de teflón en rosca de tubo.....	68
<b>Figura 29</b>	
Estandarización de cantidad de Chromocult.....	68

<b>Figura 30</b>	
Contacto de ápice con Chromocult.....	69
<b>Figura 31</b>	
Selle de unión de cámaras con Parafilm.....	69
<b>Figura 32</b>	
Muestras armadas en gradillas.....	70
<b>Figura 33</b>	
Reemplazo de BHI contaminado.....	70
<b>Figura 34</b>	
Evidencia de filtración bacteriana.....	72
<b>Figura 35</b>	
Filtración de acuerdo al día.....	75
<b>Figura 35</b>	
Distribución anormal en grupo de obturación lateral.....	77
<b>Figura 37</b>	
Distribución anormal en grupo de obturación vertical.....	78
<b>Figura 38</b>	
Distribución anormal en grupo de obturación con vástago.....	78

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	
Conceptualización y operacionalización de las variables.....	46
<b>Tabla 2</b>	
Grupos de estudio.....	54
<b>Tabla 3</b>	
Grupos control.....	54
<b>Tabla 4</b>	
Resultados obtenidos.....	73
<b>Tabla 5</b>	
Estadística descriptiva general.....	74
<b>Tabla 6</b>	
Estadística descriptiva específica de cada tipo de obturación.....	75
<b>Tabla 7</b>	
Prueba de distribución normal.....	77
<b>Tabla 8</b>	
Prueba de Kruskal-Wallis .....	79
<b>Tabla 9</b>	
Prueba de comparación de pareja.....	80
<b>Tabla 10</b>	
Valor de significancia por grupos de obturación.....	82

# CAPÍTULO I

## 1.EL PROBLEMA

### 1.1 Planteamiento del problema

El objetivo del tratamiento de endodoncia consisten en limpiar, preparar y rellenar el sistema de conductos radiculares con materiales obturadores de manera apropiada. Es decir que el éxito del tratamiento dependerá de un sellado uniforme y tridimensional usando materiales biocompatibles y de características especiales. (Goldberg y col. 2001; Hammad y col., 2009; Prado y col., 2014; 2001, Schäfer y Olthoff, 2002).

Según Schilder, el objetivo de la obturación es lograr un relleno homogéneo y tridimensional del conducto radicular y de todos sus conductos accesorios, ya que pequeños espacios permiten el paso de bacterias y de productos de degradación tisular entre el conducto radicular y el tejido periodontal (Goldberg y col., 2001; Perry y col., 2013; Schäfer y col., 2013).

Existe una gran cantidad de evidencia científica que indica que los microorganismos son los principales causantes del fracaso debido a su persistencia en los conductos radiculares o por la aparición de una reinfección después del tratamiento de endodoncia por microfiltración (Hedge y Arora, 2015; Zoletti y col., 2006).

Técnicas de cultivos microbiológicos han sido utilizadas para investigar la microbiota asociada a infecciones endodóncicas, y han revelado que el *Enterococcus faecalis* es la especie que más se encuentra en infecciones persistentes o aquellas asociadas al fracaso del tratamiento endodóncico (Zoletti y col., 2006).

Los métodos usados para eliminar estos microorganismos son la instrumentación complementada con irrigantes y su posterior activación sónica o ultrasónica, una adecuada obturación y finalmente una restauración coronal (Prado y col., 2014).

El material usado para la obturación radicular es uno de los determinantes críticos para el éxito o el fracaso del tratamiento endodóncico, para lo cual debe cumplir ciertas características idóneas. Además, las técnicas de obturación pueden influir de manera directa en el correcto sellado (Hammad y col, 2009). Entre ellas encontramos la tradicional técnica de obturación lateral que es el método de obturación más común y aceptado (Schäfer, 2013) y las técnicas actuales que mejoran la adaptación de los materiales de obturación usando la gutapercha reblandecida para mejorar el relleno del complejo del sistema radicular (Schäfer y Olthoff, 2002), como por ejemplo la compactación vertical de onda continua, el vástago de gutapercha termoestable y el uso del cono único de gutapercha con cementos biocerámicos (Schäfer, 2013).

Brothman, demostró que la compactación vertical con gutapercha caliente duplicó la obturación del número de conductos laterales, en relación con la técnica de compactación lateral (Perry y col., 2013).

Existen en el mercado productos de obturación en vástagos termoplásticos como son: Thermafil Plus (Dentsply), RealSeal 1 (SybronEndo), GuttaMaster (VDW), y actualmente GuttaCore (Dentsply) y GuttaFusion (VDW) que son sistema de vástago que posee un núcleo de gutapercha rígida entrecruzada, que sirve como transportador del recubrimiento de gutapercha en fase  $\alpha$  (Whitten y Leviton, 2015).

Muchos de estos nuevos materiales y técnicas de obturación que encontramos en la actualidad han demostrado mejorar el sellado tridimensional del conducto radicular reduciendo la posibilidad de microfiltración bacteriana y de posteriores fracasos endodóncicos, principalmente por *Enterococcus faecalis*.

## **1.2 Justificación**

Uno de los requisitos primordiales para alcanzar el éxito en la terapia endodóncica es la obturación tridimensional del sistema de conductos radiculares. Desde el punto de vista histórico, a esta última etapa se le considera generalmente, como el paso más crítico y causante de muchos fracasos terapéuticos (Colán y García, 2008).

La mayor parte de las patologías endodóncicas se vinculan con la presencia de bacterias, especialmente en tejido pulpar necrótico. Los túbulos dentinarios sirven como ruta para la penetración de bacterias y toxinas en el interior de los conductos radiculares. Durante su crecimiento y avance, los microorganismos propician la inflamación de los tejidos periodontales a través del orificio apical y los conductos laterales (Rodríguez, 2009).

Aunque el desbridamiento quimiomecánico elimina una cantidad importante de bacterias, algunos microorganismos se mantienen en los túbulos dentinarios, surcos y otras irregularidades del sistema de conductos, causando la reinfección del conducto radicular. En consecuencia, al finalizar el tratamiento de conductos radiculares, se debe colocar un material de relleno u obturación que esté en contacto directo con las paredes del conducto radicular, para minimizar el riesgo de reinfección bacteriana (Rodríguez, 2009).

La obturación inadecuada causa vacíos que pueden abarcar bacterias capaces de multiplicarse y provocar finalmente el fracaso endodóncico (Sánchez, 2011).

Siendo el objetivo de este estudio evaluar la microfiltración corono-apical del *Enterococcus faecalis* con tres diferentes sistemas de obturación, se podrá determinar así cuál de éstos es más eficaz, buscando obtener un tratamiento endodóncico de éxito sin posibles complicaciones.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo general.**

Comparar *in vitro* el grado de microfiltración corono apical del *Enterococcus faecalis* en dientes premolares humanos unirradiculares entre diferentes técnicas de obturación: lateral en frío, vertical de onda continúa de calor y gutapercha termoplastificada y vástago de gutapercha termoestable mediante análisis de cultivos microbiológicos.

#### **1.3.2 Objetivos específicos.**

- Determinar qué técnica de obturación ofrece una mayor resistencia a la microfiltración de *Enterococcus faecalis*.
- Establecer el periodo de tiempo que necesita el *Enterococcus faecalis* para producir la microfiltración bacteriana en cada una de las diferentes de técnicas de obturación.

## **1.4 Hipótesis**

### **1.4.1 Hipótesis de investigación (Hi).**

El tiempo de microfiltración corono apical del *Enterococcus faecalis* con el sistema de obturación de vástago de gutapercha es inferior a la de los sistemas de obturación lateral en frío y condensación vertical con onda continua de calor.

### **1.4.2 Hipótesis nula (Ho).**

El tiempo de microfiltración corono apical del *Enterococcus faecalis* con el sistema de obturación de vástago de gutapercha es superior a la de los sistemas de obturación lateral en frío y condensación vertical con onda continua de calor.

## CAPÍTULO II

### 2.MARCO TEÓRICO

Los objetivos generales del tratamiento de endodoncia son realizar la instrumentación biomecánica del conducto radicular, lograr una correcta desinfección y dilución del material orgánico pulpar y finalmente obtener una obturación tridimensional del mismo con materiales de característica idóneas (Von Fraunhofer y col., 2000).

La obturación radicular es llegar a lograr un relleno completo, homogéneo y tridimensional, logrando que se extienda el material de obturación hasta la longitud de trabajo predeterminada, y que ese material se mantenga dentro del espacio del conducto radicular (Whitten y Leviton, 2015).

La etapa de obturación es considerada una fase crítica del éxito del tratamiento endodóncico ya que un sellado adecuado evita el ingreso de bacterias y fluidos desde la cavidad oral y de los tejidos periapicales (Rodríguez, 2009).

Para lograr una obturación hermética que evite la microfiltración bacteriana deben conjugarse los mejores materiales disponibles actualmente y la aplicación de técnicas adecuadas para usar dichos materiales.

#### 2.1 Materiales de obturación

Los requisitos idóneos de un material de obturación según Grossman son:

- El material debe ingresar fácilmente al conducto radicular.
- Debe sellar al conducto tanto lateral como apicalmente.
- No debe contraerse.

- Debe ser resistente a la humedad.
- Debe ser bactericida o que no favorezca el crecimiento bacteriano.
- Debe ser radiopaco.
- No debe pigmentar el diente.
- Debe ser biocompatible, no debe irritar los tejidos periapicales ni afectar la estructura dental.
- Debe ser estéril o de fácil desinfección.
- Debe ser de fácil remoción en caso de retratamientos (Grossman, 1988).

El material que reúne estas características y ha sido utilizado tradicionalmente es la gutapercha sin embargo con el avance de la tecnología se han desarrollado materiales obturadores de tipo resinoso que reducirían el riesgo de microfiltración.

La técnica de obturación radicular consta de la colocación de un material sólido o semisólido como núcleo y materiales de relleno plásticos como pastas o cementos que se adhieren a las paredes del conducto con ayuda de la compactación. Tomando como principio esta técnica tradicional se han desarrollado nuevos métodos alternativos para mejorar el sellado en la que se emplean equipos, instrumentos y materiales con mayor desarrollo tecnológico.

### **2.1.1 Materiales de obturación sólido.**

Se consideran como materiales sólidos de la obturación a la gutapercha, la plata y la resina, los cuales se los encuentra en presentación de conos intrarradiculares para su fácil colocación (Goldberg, 1982).

### **2.1.1.1 Gutapercha.**

Para algunos autores la gutapercha es considerado como un material de obturación semisólido por su consistencia plástica, para otros es un material sólido como los conos de plata.

La gutapercha se deriva de jugos secos de árboles de la familia Sapotaceae, que es un isómero del caucho. Es más duro, quebradizo y menos elástico. La gutapercha químicamente cristalina puede presentarse en dos formas:  $\alpha$  y  $\beta$ . No tienen diferencias físicas, solo se diferencian a nivel cristalino en relación a sus temperaturas de fusión y enfriamiento. La fase  $\alpha$  se presenta de forma natural, es más fluida y se ablanda a temperaturas más bajas (42-49°C) contrario a la fase  $\beta$  que es refinada y su uso es más comercial en endodoncia. Los conos de gutapercha están compuestos de un 20% de gutapercha y un 80% de óxido de zinc (Ørstavik, 2005).

La gutapercha ha sido ampliamente usada desde hace más de cien años como material sólido en las obturaciones radiculares aplicadas con diferentes tipos de selladores. Pero se conoce que no proporciona enlaces químicos a la pared del conducto radicular. El material de obturación debe estar bien adaptado a las paredes del conducto y sus irregularidades, ocupando toda la longitud del mismo, hasta lograr obtener una masa compacta, homogénea y densa de gutapercha (Hammad y col., 2009).

Una de las técnicas que usa gutapercha termoplastificada, se basa en núcleos plásticos o de gutapercha termoestable, la cual está recubierta con gutapercha en fase alfa. Este estereotipo de gutapercha presenta mejores características de fluidez

al fundirse, en comparación con la gutapercha en fase beta, que es el material del que están hechos los conos de gutapercha convencionales, de igual manera sufren menos contracción (Schäfer y Olthoff, 2002).

#### ***2.1.1.1.1 Presentaciones de la gutapercha.***

Existen algunas presentaciones de la gutapercha como material de obturación. Comúnmente se la encuentra en el mercado en forma de conos principales con tamaños estandarizados siguiendo las normas ISO, y también en tamaños no estandarizados donde sus nombres varían según la casa comercial, por ejemplo, conos extra-fino, fino-fino, medio-fino, fino-medio, medio, medio-grande, grande y extra grande; o conos A, B, C y D. Estos últimos se utilizan como conos auxiliares y son usados en algunas técnicas de obturación, en especial la técnica de compactación lateral. (Giudice y Torres, 2011)

Otro tipo de conos de gutapercha principales son los fabricados de acuerdo a la forma y conicidad de los instrumentos rotatorios, tomando el nombre del sistema empleado, por ejemplo, Protaper, WaveOne, Reciproc; encontrándolos con los mismos nombres comerciales de las limas rotatorias.

También existen otras presentaciones en forma de bolitas o de cánulas usadas para la técnica termoplastificada, otras en forma de jeringas que se pueden calentar usadas en las técnicas termomecánicas y las más actuales la gutapercha termoplastificada en transportadores tipo vástago.

#### ***2.1.1.1.1 Obturadores en vástago.***

El objetivo principal de uso de vástagos termoplastificados es superar el desafío de la obturación tridimensional mediante la introducción del material reblandecido que generalmente es gutapercha en las irregularidades del conducto incluso de ser posible en el interior de los túbulos dentinarios, para lo cual la técnica consiste en usar portadores o vástagos termoplásticos recubiertos de gutapercha que será reblandecida en hornos de calentamiento específico. Los vástagos termoplastificados se constituyen de 2 partes:

- Un núcleo, transportador o vástago central que puede ser fabricado de metal, plástico o gutapercha entrecruzada, y
- Un material de obturación que rodea el transportador, que puede ser gutapercha o material sintético (Whitten y Leviton, 2015).

Los sistemas de vástago son buscados por garantizar un alto volumen de gutapercha en el conducto rellenándolo en su capacidad máxima sin que queden espacios o se retraiga el material (gutapercha) puesto que es dimensionalmente estable; reduciendo de esta manera la cantidad de cemento sellador al mínimo (Schäfer y col., 2016).

Esto es posible ya que este tipo de obturadores en vástago crean presión hidráulica, provocando que la gutapercha se dirija en dirección tanto apical como lateral y fluya tridimensionalmente. (Dentsply, 2014)

Adicionalmente presentan la ventaja de uso utilización clínica muy práctica ya que se lleva fácilmente el transportador digitalmente impregnado de la gutapercha reblandecida directamente en el interior del conducto radicular.

Entre los principales productos de vástago están: Thermafil Plus (Dentsply), RealSeal (SybronEndo) y 2 nuevos materiales que son el GuttaCore (Dentsply) y el GuttaFusion (VDW) (Whitten y Leviton, 2015; Schäfer y col., 2016). El núcleo del GuttaCore y del GuttaFusion consisten en gutapercha termoestable entrecruzada que no se funde a temperaturas generadas al ser colocadas en el horno especial. Se afirma que comparado con los sistemas tradicionales de vástago de plástico o metálicos el retratamiento de conductos radiculares realizados con núcleos de gutapercha entrecruzados es más fácil y requiere menos tiempo (Schäfer y col., 2016).

Una desventaja de esta técnica que no se ha logrado superar es la gran destreza que debe tener el profesional para usar este tipo de obturadores puesto que esta técnica independiente del tipo de vástago que se use hay riesgo de sobreextensión del cemento y/o gutapercha, que es una observación bastante común e indeseable (Whitten y Leviton, 2015).

Otra desventaja que exige mucha experiencia del operador es el fácil desprendimiento de la gutapercha de su núcleo, lo cual puede pasar durante la inserción del vástago dentro del conducto, en especial si son estrechos o curvos. Esto puede causar vacíos y un inadecuado relleno del espacio del conducto (Alhashimi y col., 2014).

#### ***2.1.1.1.2GuttaCore.***

El GuttaCore es un tipo de sistema de obturación de vástago termoestable de la casa comercial Dentsply que tiene un núcleo de gutapercha rígida entrecruzada y

reticulada, que sirve como transportador para el recubrimiento de la gutapercha en fase  $\alpha$  (Whitten y Leviton, 2015).

Esta gutapercha reticulada ayuda a la unión del vástago con el recubrimiento de gutapercha. La reticulación es un proceso químico de unión de cadenas de polímeros entre sí, y es importante recalcar que este tipo de gutapercha reticulada no es pegajosa, no se derrite y no se disuelve con solventes dentales (Dentsply, 2014).

Vienen en presentaciones de distintos calibres en ISO del 20 al 90 con una conicidad .04 y longitud de 25 mm; y también en presentaciones dependiendo del sistema rotatorio como por ejemplo Wave One, Protaper Universal entre otros. El calibre del obturador se selecciona con la ayuda de un instrumento llamado verificador que suele incluirse en el mismo blíster.

Para el calentamiento de los vástagos de GuttaCore es necesario el uso de un horno ThermaPrep 2 de la misma casa comercial Dentsply, el cual no afecta el núcleo del obturador por ser gutapercha reticulada (Whitten y Leviton, 2015).

Sus principales ventajas son:

- Produce una obturación tridimensional.
- Tiene buena radiopacidad
- Fácil retiro para colocación de pernos o en caso de retratamiento.
- Técnica sencilla y rápida.
- Fácil ajuste a la preparación del conducto.
- Compatible con tejidos perirradiiculares.

- Fácil eliminación del obturador que queda fuera del conducto (Dentsply, 2014).

### **2.1.2 Materiales de obturación plásticos.**

La función principal de los selladores es ocupar los espacios que quedan entre la gutapercha y las paredes del conducto, para lo cual debe fluir por sitios donde el material sólido o semisólido no pudieron llegar y de esta manera cumplir con el objetivo de lograr un sellado hermético, además de tener la capacidad de adherirse a la dentina (Rodríguez, 2009). Entre los materiales de obturación plástica tenemos a los cementos y a las pastas selladoras (Giudice y Torres, 2011).

#### **2.1.2.1 Cementos selladores.**

Según Grossman las características que debe tener un cemento sellador son:

- Tener la capacidad de introducirse con facilidad en el conducto radicular.
- Sellar el conducto tanto lateral y apicalmente.
- No debe cambiar dimensionalmente.
- Debe ser impermeable.
- Debe ser bacteriostático o bactericida.
- Ser radiopaco.
- No manchar la estructura dentaria .
- No irritar a los tejidos periapicales.
- Ser estéril o tener la capacidad de poder esterilizarse con rapidez y facilidad antes de usarse.
- Facilidad de retirar en caso de que ser necesario (retratamiento).

Hoy en día aún no existe un cemento sellador que cumpla con todas las características antes mencionadas, razón por la cual nuevas fórmulas se han fabricado para tratar de cumplir la mayor cantidad de características requeridas. Es necesario que el endodoncista tenga conocimiento de estos nuevos productos y sus características para que pueda escoger con cual trabajar en cada caso. Sin embargo, hay que siempre tomar en cuenta que éstos deben presentar idealmente una buena capacidad de sellado y alta biocompatibilidad. La biocompatibilidad es de vital importancia en estos materiales, ya que muchos de sus componentes al entrar en contacto directo con los tejidos pueden llegar a irritarlos o incluso hasta causar una degeneración tisular a nivel periodontal cuando son extruidos al mismo (Rodríguez, 2009).

Existen diferentes tipos de cementos selladores clasificados básicamente por su composición química:

- Cementos a base de óxido de zinc y eugenol
- Cementos a base de hidróxido de calcio
- Cementos a base de ionómero de vidrio
- Cementos a base de resinas
- Cementos a base de silicona (Rodríguez, 2009).

#### **2.1.2.1.1 Cementos resinosos.**

Son cementos a base de resina utilizados en el tratamiento endodóncico por tener favorables características como la adhesión químico mecánica a la estructura

dentaria, amplio tiempo de trabajo, fácil manipulación y buen sellado (Rodríguez, 2009).

Consiste en un sistema pasta-pasta (base-catalizador) que al mezclarse produce un fraguado lento y brinda así un mayor tiempo de trabajo. Una importante ventaja de este tipo de cemento es que no tiene en su composición eugenol, evitando los problemas de adhesión de composites que se usan en la restauración posterior de la pieza dentaria en tratamiento (Dummer, 2004).

En la actualidad, en el mercado se pueden encontrar algunos cementos resinosos tales como: Topseal® (Dentsply/Maillefer), AH-Plus® (DeTrey/Dentsply), Diaket® (ESPE/Premier), AH-26® (DeTrey/Dentsply) y el 2Seal® (VDW) (Rodríguez, 2009).

Los cementos resinosos son muy usados a nivel mundial debido a sus propiedades físicas y químicas. Inicialmente los endodoncistas utilizaban mucho la pasta AH26 de la casa comercial Dentsply, pero presentaba problemas debido al tiempo de fraguado prolongado de 24 a 48 horas, lo que causaba irritación a los tejidos periapicales cuando entraban en contacto con el mismo, de igual manera otra desventaja es el cambio de color en la estructura dental, además, después de realizar la obturación liberaba formaldehído que es carcinogénico y mutagénico. Por estas razones este cemento fue sacado del mercado (Rodríguez, 2009).

En el perfeccionamiento de este tipo de cementos, sale al mercado una formula mejorada del AH26 conocido como AH Plus de la misma casa comercial Dentsply que es una resina epóxica más biocompatible, igual en presentación

pasta- pasta, con tiempo de trabajo de 4 horas y de fraguado de 8 horas (Rodríguez, 2009).

Otro representante de los cementos resinosos muy comercializado es el Top Seal con varias ventajas.

#### **2.1.2.1.1.1 *Top Seal.***

Consiste en un cemento sellador a base de resina epóxica de fraguado lento y mayor tiempo de trabajo. Tiene la misma composición que el AH-Plus, pero fabricado por otra casa comercial: Dentsply/Maillefer – Suiza. Estos tipos de cementos se caracterizan por reaccionar con los grupos aminos expuestos en el colágeno de la dentina formando enlaces covalentes entre ambas. Según Timpawat y col en el 2001 afirmaron que los cementos con base en resina epóxica como el Top Seal® muestran excelentes propiedades de sellado, incluso a largo plazo y en condiciones de humedad; atribuyendo en gran parte a su propiedad de tener baja solubilidad (Gallegos, 2014).

Las principales propiedades del cemento resino Top Seal® son:

- Alta biocompatibilidad
- Menor riesgo de complicaciones post-operatorias debido a reacción inflamatoria o inflamación crónica periapical
- Fácil aplicación en el conducto por su viscosidad ideal
- Alta adhesión químico mecánica a las paredes dentinarias (Gallegos, 2014).

Su composición es:

- a. *Pasta A.*

- Resina epóxica
- Tungstato de Calcio
- Óxido de Zirconio
- Aerosil
- Óxido de Hierro

*b. Pasta B.*

- Pasta Adamantina
- Tungstato de Calcio
- Óxido de Zirconio
- N,N'-Dibenzil-5-oxanonano-diamina-1,9-TCD-diamina
- Aerosil
- Aceite de silicona (Huang y col., 2001)

## **2.2 Técnicas de obturación**

Las actuales técnicas de obturación radicular se clasifican de acuerdo a:

- La dirección de compactación de la gutapercha: lateral o vertical
- La temperatura que se aplica: fría o caliente, conocida también como termoplastificada (Giudice y Torres, 2011).

### **2.2.1 Condensación lateral en frío.**

Es la técnica más usada por todos los endodoncistas e incluso odontólogos generales.

Es usada en las investigaciones como patrón de referencia para realizar comparaciones con otras técnicas de obturación. Se considera una técnica eficaz, sencilla, permite el control del límite apical y utiliza instrumental simple y

económico (Rodríguez, 2009).

Esta técnica se usó desde los años 70, usando un cono maestro estandarizado de gutapercha a temperatura ambiente aplicado junto con un cemento sellador dentro del conducto, y condensándolos lateralmente usando un espaciador a menos 1 mm de la longitud de trabajo, previamente confirmado por medio radiográfico, táctil, visual o con localizador apical. Al usar el espaciador se da cabida a los conos auxiliares, según el tamaño del espaciador usado. Se introducen cuantos conos accesorios sea posible dentro del conducto radicular. Se comprueba con una radiografía la adecuada obturación y se procede a cortar los conos con un instrumento caliente, condensando verticalmente para ajustar la gutapercha. Por último, se toma una radiografía idealmente periapical para verificar la compactación final del material en el conducto y que se haya retirado la gutapercha por dos milímetros de bajo del cuello dentario para evitar futuras pigmentaciones (Rodríguez, 2009; Schäfer y Olthoff, 2002; Schäfer y col., 2013).

### **2.2.2 Condensación vertical de onda continua de calor.**

La técnica de condensación vertical caliente fue introducida por primera vez por Herbert Schilder en 1967, con el objetivo de obtener un sellado hermético de los conductos (Perry y col., 2013; Rodríguez, 2009). Según Schilder la técnica de compactación vertical de gutapercha caliente produce una obturación tridimensional del canal radicular y con frecuencia, también resulta en la obturación de conductos laterales (Goldberg y col., 2001).

La técnica de compactación vertical mostró mejores resultados debido a que fluía mucho mejor por las irregularidades del conducto que la técnica de condensación lateral en frío (Perry y col., 2013).

Esta técnica consiste en un condensador eléctrico con conicidad única y caliente que produce una onda de presión de compactación en el conducto y se introduce en un solo movimiento sobre la gutapercha sin llegar hasta la medida apical. Se considera que esta técnica permite una obturación tridimensional en menor tiempo que las técnicas de obturación tradicionales, asegurando un alto volumen de gutapercha en el conducto. Éste último aspecto es de gran relevancia clínica porque la gutapercha es dimensionalmente estable, y por lo tanto debe aplicarse una cantidad máxima de relleno de gutapercha y una mínima cantidad de sellador (Schäfer y col., 2013).

Con el paso del tiempo algunos autores realizaron positivas modificaciones a esta técnica como por ejemplo Buchanan en los años 90 introdujo el System B para facilitar la compactación vertical de la gutapercha. A diferencia de la técnica tradicional, el System B actúa tanto como transportador de calor y condensador (Giudice y Torres, 2011). Buchanan, recomienda que el condensador caliente del System B se debe insertar a profundidad de 5-7 mm menor a la longitud de trabajo, aunque varios autores refieren que se obtiene mejores resultados al llegar hasta 3-5 mm de la longitud de trabajo (Perry y col., 2013). Otros autores como Venturi y Breschi reportaron que la variación de la técnica de compactación vertical al incluir la obturación con retroceso apical reveló mucho mejor sellado en el tercio apical (Perry y col., 2013).

Esta técnica vertical requiere un protocolo que requiere ciertos pasos previo a la selección del condensador adecuado que se detallan a continuación:

*a. Acoplar conos y seleccionar condensador.*

- Preparar el conducto de forma óptima, ya que un contorno con la forma correcta facilita la limpieza y el rellenado tridimensional. Tomar conductometría con una radiografía para comprobar que la longitud de trabajo está tomada correctamente.
- Seleccionar un condensador manual grande, con el cual se pueda trabajar de forma pasiva y eficaz en una zona de algunos milímetros en el tercio coronal del conducto.
- Seleccionar un condensador manual mediano, con el cual se pueda trabajar de forma pasiva y eficaz en una zona de algunos milímetros en el tercio medio del conducto.
- Seleccionar un condensador manual pequeño, con el cual se pueda trabajar de forma pasiva, eficaz y en mayor profundidad en la zona recta del conducto, así como también a unos 4-5 mm antes de su extremo.
- Seleccionar un condensador con calentamiento eléctrico, que pueda pasar pasivamente a través de la sección recta del conducto, y en caso óptimo, llegar hasta 5 mm antes de la longitud total de trabajo. Situar el tapón de silicona en esta longitud para conseguir más seguridad y precisión.
- Introducir un cono maestro de gutapercha estandarizado o gutapercha en el conducto radicular a longitud de trabajo, hasta que muestre una resistencia apical (Turbaco) y confirmar radiológicamente (Conometría)
- Secar el conducto radicular con puntas de papel de tamaño adecuado.
- Humedecer el cono maestro con cemento sellador e introducirlo cuidadosamente hasta la longitud de trabajo (VDW, 2014).

*b. Downpack: Obturación vertical corono apical - técnica de onda continua.*

- Activar el condensador con calentamiento eléctrico y cortar el cono maestro a la altura de la entrada del conducto radicular.
- Seleccionar el condensador manual de mayor diámetro y mediante movimientos cortos y firmes por toda la circunferencia del conducto presionar la gutapercha en dirección apical, limpiar las paredes del conducto y aplanar el material.
- Aplicar presión durante cinco segundos con este mismo condensador manual para comprimir la gutapercha caliente en dirección vertical y lateral en toda el área del conducto radicular (primera “onda” del proceso de condensación).
- Activar nuevamente el condensador con calentamiento eléctrico y presionar con un movimiento firme y continuo sobre la gutapercha reblandecida por el calor, hasta que el tapón de silicona se encuentre a 2 mm del punto de referencia. Este paso no debe durar más que de 2 a 4 segundos con el fin de evitar daños por sobrecalentamiento.
- Desconectar el condensador, pero mantener una presión fuerte en dirección apical sobre el instrumento que se va enfriando, hasta que el tapón de silicona alcance el punto de referencia.
- Mantener por 10 segundos con presión fuerte en dirección apical para compactar la masa de gutapercha en el tercio apical del conducto radicular y poder compensar su encogimiento durante la etapa de enfriamiento.
- Conectar de nuevo el condensador por 1 segundo y a continuación desactivarlo y retirarlo del conducto radicular con movimientos alternos de inserción y extracción. Este procedimiento despega y elimina la

gutapercha de los dos tercios coronales del conducto sin alterar la gutapercha fijada en el tercio apical.

- Utilizar el condensador manual más pequeño y presionar con su extremo mediante movimientos circulares breves y firmes por todo el conducto a fin de limpiar sus paredes y condensar otra vez la porción coronal de la gutapercha dentro del tercio apical (VDW, 2014).

*c. Backfill: Paso de obturación del tercio coronal*

- Mantener la punta de la cánula caliente durante 5 segundos sobre el material de obturación que se comprimió anteriormente.
- Activar el anillo sensor de la pieza de mano del equipo de gutapercha termoplastificada inyectable para rellenar y comprimir una pequeña porción (algunos milímetros) de gutapercha caliente en el resto de conducto. Sujetar la pieza de mano con suavidad para que pueda deslizarse hacia atrás mientras se realiza este proceso.
- Seleccionar el condensador manual pequeño y presionar con su extremo mediante movimientos circulares breves y firmes por todo el conducto a fin de limpiar sus paredes y aplanar la gutapercha caliente.
- Utilizar el mismo condensador manual pequeño y oprimir sobre la gutapercha caliente durante 5 segundos para lograr una compactación tridimensional de la masa caliente en esta zona del conducto y además compensar su encogimiento durante la etapa de enfriamiento.
- Continuar la ejecución de la técnica de obturación del tercio coronal (backfill) en la forma descrita, hasta que el conducto radicular se haya obliterado totalmente o simplemente detener la acción en un punto

cualquiera, dado el caso que se tenga previsto insertar un perno intrarradicular para una restauración posterior (VDW, 2014).

### **2.2.3 Obturación con vástago de gutapercha termoestable**

Antes de realizar la obturación, se debe realizar la instrumentación adecuada del conducto con la finalidad de brindar suficiente espacio para el ingreso del vástago. Luego de la instrumentación se debe usar un verificador estriado de níquel titanio propio del sistema y del tamaño de la preparación girándolo 180° y observando que ingrese de manera pasiva. Luego se procede a tomar la radiografía para confirmar que llegó a la longitud de trabajo. Muchos de estos vástagos vienen en blíster estériles, por lo que no hace falta desinfectarlos. En caso de que no vengan estériles pueden desinfectarse en hipoclorito de sodio al 5,25% por un minuto y luego lavarse con alcohol al 70% dejándolo secarse en una superficie limpia hasta que la totalidad del alcohol se evapore (Dentsply, 2014).

Se dispensa una fina capa de cemento sellador dentro del conducto con el verificador o con un cono de gutapercha, y se coloca el vástago dentro del horno a la temperatura que corresponda según el grosor del mismo que va entre 5 y 40°C

El horno presenta un software del calentamiento que permite indicar por un sonido emitido por el horno GuttaCore para que se retire el vástago del horno con precaución. Este calentamiento va a permitir la facilidad del flujo y su posterior adaptación del material al conducto. Es recomendable colocar el vástago con una ligera presión hasta llegar a la longitud de trabajo, esperar un tiempo de 3 a 4 segundos para vástagos ISO con conicidad de .04 y de 6 a 8 segundos para vástagos

de sistemas rotatorio que tiene una conicidad mayor. Luego se dobla el mango excedente hacia un lado con el fin de que este se fracture para ser retirado; en caso de no separarse se puede usar una fresa redonda para eliminarlo (Dentsply, 2014).

### **2.3 Filtración bacteriana radicular**

La filtración bacteriana es el paso de bacterias y/o sus subproductos, fluidos y sustancias químicas a través del sistema de conductos radiculares desde la cavidad oral hasta el tejido periapical. Toma también el nombre de microfiltración bacteriana debido al tamaño microscópico de las bacterias independiente de la vía de entrada hacia el conducto. Una vez que ingresan y colonizan provocan un estado inflamatorio que puede evolucionar a patologías en el tejido pulpar y posteriormente a los tejidos periapicales (Rodríguez, 2009).

Generalmente la vía directa de la microfiltración bacteriana es por los túbulos dentinarios, permitiendo la invasión y multiplicación bacteriana dentro de sus estructuras. Cabe recalcar que los túbulos dentinarios tienen aproximadamente 2.5 micrones cerca de la pulpa y 1 micrón a nivel de las uniones amelodentinaria y cementodentinaria, permitiendo que estas bacterias pasen con bastante facilidad, en especial si se encuentran permeables como es en el caso de una necrosis pulpar o una fractura dentaria (Rodríguez, 2009).

La filtración bacteriana también se puede presentar en dientes que ya han sido sometidos a tratamientos de endodoncia, existiendo dos posibilidades de filtración en el tratamiento endodóncico concluido:

- En la interfase o unión entre el material núcleo de obturación y el sellador.

- Entre el cemento sellador y las paredes del conducto (Prado y col., 2014).

El paso de las bacterias, fluidos y sustancias químicas a través de los espacios o vacíos que se encuentran en las interfaces pueden llegar a infectar el tejido periodontal. Los espacios en la obturación pueden producirse debido a la deficiencia en la adaptación del material de obturación a la raíz, o por la solubilidad del sellador, o también por la expansión o contracción del sellador (Prado y col., 2014).

La alta fuerza de adhesión de un cemento sellador a la dentina intrarradicular a través de la retención micromecánica puede ser ventajosa en la conservación de la integridad de la interfaz del sellador y la dentina (Hedge y Arora, 2015).

La zona crítica en la que hay más fallas de adaptación en la obturación es el tercio apical y la presencia de microbiota en esta área puede provocar el fracaso del tratamiento endodóncico. Esta área presenta características ideales para el crecimiento bacteriano como es la baja tensión de oxígeno que permite el establecimiento de bacterias anaerobias estrictas, además de la presencia de fluidos tisulares y exudado inflamatorio que sirve de nutrientes esenciales (Rodríguez, 2009).

Las bacterias en dientes desvitalizados y los restos necróticos en conductos laterales y accesorios son difíciles de eliminar con la instrumentación y la irrigación. Por lo tanto, en este caso la obturación tridimensional del canal radicular llega a ser extremadamente importante (Goldberg y col., 2001).

### **2.3.1 Pruebas de filtración.**

Una prueba clásica de filtración fue los radioisótopos unidos a marcadores solubles, es decir átomos que emitían energía en forma de radiación; pero luego fueron sustituidos por tintas, partículas de tinta de la India, bacterias, iones y aire, presión aplicada, cámara de vacío, entre otras (Ørstavik, 2005).

La observación de la microfiltración bacteriana se realizó con la técnica modificada de Torabinejad y col de 1990, que consistía en colocar el diente obturado en un tubo plástico Falcon dividido en cámaras que evidencien el paso del *E. faecalis* desde la cámara superior hasta la cámara inferior donde se encontraba el reactivo identificador de la bacteria Chromocult de la bacteria. Este método no permite evaluar cuantitativamente los vacíos de la obturación (Ørstavik, 2005).

### **2.3.2 Enterococcus faecalis.**

Los Enterococcus representa la mayor parte de los estreptococos fecales y es indicador de contaminación fecal, sea humana o animal (Amoros, 1995). El *Enterococcus faecalis* es coco Gram positivo, facultativo anaerobio, de forma no esporulada y fermentativa. Aparece solo, en pares o en cadenas cortas. Es capaz de sobrevivir en ambientes hostiles. Es la especie más comúnmente aislada o detectada en infecciones orales, incluyendo la periodontitis marginal, las infecciones endodóncicas y los abscesos perirradiculares (Rôcas y col.; 2004; Kishen y col., 2004).

El *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de invadir los túbulos dentinarios, llegando algunas veces hasta planos más profundos, y de esta manera evita que el procedimiento endodóncico y sus efectos antimicrobianos los alcancen y tengan efecto (Zoletti y col., 2006). Además, estudios han demostrado que es capaz de formar biofilm en los conductos radiculares, siendo de gran importancia clínica para la resistencia y persistencia bacteriana después de haber realizado el tratamiento endodóncico (Zoletti y col., 2006).

Por otra parte, el *Enterococcus faecalis* tiene una resistencia innata a una gran variedad de antibióticos como los betalactámicos, aminoglucósidos, vancomicina y trimetoprim sulfametoxazol. Asimismo, presenta resistencia al hidróxido de calcio, que se usa comúnmente como medicamento intraconducto, ya que estas bacterias son capaces de resistir altos valores del pH, y tienen la capacidad de adaptarse y soportar diversas condiciones ambientales e incluso sobrevivir en lugares con escasez de nutrientes (Kishen y col., 2004; Zoletti y col., 2006). Se lo ha aislado tanto en infecciones endodóncicas primarias como en tratamientos endodóncicos fracasados (Rôcas y col.; 2004; Kishen y col., 2004).

Diversos cultivos microbiológicos y métodos más modernos con ADN como el PCR se han utilizado popularmente para detectar bacterias en endodoncia. Las técnicas de identificación bacteriana se basan en el crecimiento y la morfología distintiva de las diferentes colonias colocándolas en medios de cultivos como agar selectivos y no selectivos, tinción de Gram, la forma celular distintiva bajo el microscopio de luz y las características específicas de crecimiento. La principal desventaja de estas técnicas es que necesitan mucho tiempo (más de 48 horas) además de apoyo técnico y de laboratorio. Los cultivos bacterianos tradicionales utilizan una técnica de múltiples etapas para determinar la presencia de *E. Faecalis* (Kishen y col., 2004).

El *Caldo de Enterococcus Chromocult* (Merck, Darmstadt, Alemania) es un nuevo medio selectivo basado en la reacción enzima-sustrato de manera específica para enterococos. Esta reacción enzimática resulta en un cambio de color del caldo de amarillo a un azul verdoso intenso, confirmando específicamente la presencia de enterococos sin necesidad de realizar aislamiento de cultivos puros o pruebas confirmatorias. Este medio de aislamiento primario permite la detección en aproximadamente 24 horas, con una precisión mejorada (Kishen y col., 2004).

### **2.3.3 Infusión cerebro corazón (BHI).**

La infusión cerebro corazón, conocido por sus siglas en inglés BHI (brain heart infusion) es un medio de uso general ideal para el cultivo de una amplia gama de tipos de microorganismos obtenidos para muestras clínicas, incluyendo bacterias, levaduras y hongos filamentosos, además de muchos tipos de microorganismos patógenos (Nash y Krenz, 1991).

Este cultivo ha servido como medio base para nuevas formulaciones de medios de cultivo cuando se suplementan con sangre o con agentes selectivos. El agar BHI con sangre es usado para cultivar de manera selectiva algunos hongos, ya que ésta provee factores de crecimiento esenciales, y en caso de tener muestras de hongos contaminados con bacterias, se mezcla el agar BHI con sangre, gentamicina y cloranfenicol, inhibiendo así el crecimiento de bacterias gram negativas y positivas (Nash y Krenz, 1991).

Este agar tiene un pH de  $7 \pm 2$  y está compuesto de infusión cerebro - corazón, componentes peptónicos y glucosídicos. Las peptonas y la infusión son fuentes de

nitrógeno orgánico, carbono, azufre, vitaminas y sustancias trazas. Los microorganismos usan la glucosa como fuente de carbohidratos por acción fermentativa y el fosfato disódico sirve para dar un pH óptimo (Nash y Krenz, 1991).

Su composición es la siguiente:

• Infusión sólida de cerebro y corazón	8,0 g
• Digesto péptico de tejido animal	5,0 g
• Digesto pancreático de caseína	16,0 g
• Cloruro de sodio	5,0 g
• Glucosa	2,0 g
• Fosfato de hidrógeno disódico	2,5 g
• Agar	13,5 g

#### **2.3.4 Caldo de Enterococcus Chromocult.**

Está compuesta por:

Peptonas	8,6 g
Cloruro de sodio	6,4 g
Azida sódica	0,6 g
5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucosidasa (X-GLU)	0,04 g
Tween®80	2,2 g

El sustrato X-GLU es fragmentado por peptonas en la enzima  $\beta$ -D-glucosidasa que es característica para los enterococos, dando como resultado un caldo de color azul-verde intenso. La concentración de azida sódica inhibe en gran medida el crecimiento de la flora microbiana acompañante, en especial de la Gram-negativa sin afectar a los enterococos, y previene un resultado falso positivo para la mayoría de

las otras bacterias positivas a  $\beta$ -D-glucosidasa. Por lo tanto, el cambio de color del caldo confirma en gran medida la presencia de enterococos y D-estreptococos en agua. Para su preparación se disuelve 18g en un litro de agua destilada en recipientes estériles, obteniendo un pH de  $7.5 \pm 2$  a  $25^{\circ}\text{C}$  (Amoros, 1995).

### **2.3.5 Cabina de bioseguridad biológica.**

Conocida también como cabina o campana de flujo laminar. Es un recinto en el que se deben preparar las muestras y manipular las bacterias. Emplea un ventilador para forzar el paso de aire a través de un filtro de alta eficiencia conocidos como HEPA o ULPA y así proporcionar aire limpio a la zona de trabajo, libre de partículas de hasta 0.1 micras y evitar la suspensión de partículas y la posible contaminación de las muestras.

Fabricados por lo general en de acero inoxidable. Poseen un acceso frontal único que permite al ingreso al interior de la cabina donde se ubica la superficie de trabajo, la cual debe permanecer limpia y desinfectada. También puede tener una lámpara de rayos ultravioleta-C, con acción germicida para poder esterilizar la cabina y su contenido previo al uso.

# CAPÍTULO III

## 3 METODOLOGÍA

### 3.1 Tipo y diseño del estudio

El presente investigación es un estudio de tipo *in vitro*, comparativo y experimental, que analizó la microfiltración corono-apical en dientes unirradiculares humanos obturados con tres tipos diferentes de técnicas de obturación.

- *In vitro*: Por que se realizó en piezas dentales extrañidas
- Comparativo: Ya que se obturaron 3 grupos de piezas dentales con diferentes técnicas de obturación para luego compararlas entre ellas y los grupos control y determinar cual presenta menor microfiltración bacteriana.
- Experimental: Debido a que se evaluó la microfiltración bacteriana con *E. faecalis* utilizando un sistema de cámaras y un reactivo identificador de la bacteria.

### 3.2 Población y muestra del estudio

De una población de piezas dentarias extraídas por diferentes razones terapéuticas en la clínica odontológica de la Universidad San Francisco de Quito entre el periodo de Octubre a Diciembre de 2016 se tomó una muestra por conveniencia de 40 dientes premolares unirradiculares en base a criterios de una investigación previa.

### 3.3 Criterios de inclusión.

Dientes premolares unirradiculares humanos extraídos, sin tratamiento endodóncico previo, que radiográficamente se observe el conducto permeable, con ápice maduro y

grado de curvatura moderada de Schneider máximo de 20 grados, sin fracturas ni reabsorciones radiculares.

### 3.4 Criterios de exclusión.

Dientes multiradiculares o unirradiculares con caries radicular, con reabsorción radicular, ápices abiertos, con ángulo de curvaturas severas de Schneider mayores a 20 grados, presencia de fractura radicular, calcificaciones o que presenten anomalías del desarrollo.

### 3.5 Variables

#### 3.5.1 Conceptualización y operacionalización de las variables.

VARIABLE	CONCEPTO	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	CLASIFIC.	INDICADOR CATEGÓRICO	ESCALAS DE MEDICIÓN
Micro-filtración apical	Paso de fluidos, bacterias y/o sustancias a través de la obturación del conducto radicular	La microfiltración se detectó con el cambio de color del caldo de Enterococcus Chromocult	Dependiente	Cuantitativa discreta	Días	1 - 22 días
Técnicas de obturación	Métodos de relleno del conducto radicular	Se realizaron las diferentes técnicas de obturación: Lateral, vertical y de vástago	Independiente	Cualitativa nominal	A. Obturación lateral B. Obturación vertical C. Obturación con vástago D. Control positivo E. Control negativo	# 10 muestras # 10 muestras # 10 muestras # 5 muestras # 5 muestras

**Tabla 1.** Conceptualización y operacionalización de las variables

### 3.6 Materiales.

- Guantes de látex talla SX Super Max
- Radiovisiógrafo RVG 5100 – Carestream
- Envases recolector de muestras Industrias Plásticas Josa

- Suero fisiológico Mediquin
- Regla milimetrada metálica Rite-Dent
- Marcador permanente punta delgada Edding
- Cortadora de precisión Isomet 1000 – Buehler
- Godiva de baja fusión Kerr
- Lima K No.10 de 25mm de longitud Dentsply – Maillefer
- Lima K-Flexofile No. 15, 20, 30 de 25mm de longitud Dentsply – Maillefer
- Limas Reciproc R40 y R50 VDW
- Regla milimetrada Denstply – Maillefer
- Vaso desechable de plástico 180cc
- Hipoclorito de sodio al 5,25% El Macho
- Jeringa de plástico desechable 3mL Nipro
- Agujas de irrigación con salida lateral de 27 ga
- Motor Silver Reciproc VDW
- Limas U N0. 40 de Ni Ti Woodpecker
- Motor de ultrasonido DUS-1A – Denjoy
- EDTA 17% Eufar
- Autoclave Sterilmatic - Market Forge
- Cinta masking Tape – 3M
- Pinza algodонера metálica
- Regla milimétrica VDW
- Conos de Gutapercha No.50.02 Dentsply – Maillefer
- Conos de gutapercha Reciproc R50 - VDW
- Vástagos de Gutapercha No.50 GuttaCore - Dentsply-Tulsa Dental Specialties

- Verificador No. 50 para Guttacore Dentsply-Tulsa Dental Specialties
- Escáner digital Pspix - Acteon
- Placa de fósforo talla 2 Pspix
- Marcador permanente resistente al agua Pilot
- Tubos de centrifuga Falcon 15 mL
- Plancha de espuma flex
- Tubo estriado para cortina
- Mechero
- Alcohol Industrial
- Estilete
- Papel aluminio La Original
- Cinta testigo
- Balanza de Precisión Scout Pro – Ohaus
- Papel de mezcla Dentsply - Maillefer
- Cemento resinoso Topseal Dentsply – Maillefer
- Cabina de bioseguridad biológica A2 Biobase BSC-1300II A2-X
- Guantes Quirúrgicos estériles talla 6.5 Nipro
- Espaciador A y B Dentsply – Maillefer
- Conos accesorios A y B Dentsply – Maillefer
- Condensador eléctrico Easy GP G – Kansmile
- Condensador de calor 40.03 VDW
- Sistema de inyección termoplastificada Beta Mini – ByL Biotech
- Aguja de obturación 23 ga Superendo-B – ByL Biotech
- Gutapercha en barra Denjoy
- Condensadores de gutapercha Dentsply 1-2 y 3-4

- Topes de Caucho
- Horno GuttaFusion – VDW
- Agar nutritivo Difco – BD - Becton-Dickinson and Company
- Agua destilada
- Probeta plástica de 100 mL
- Asa bacteriológica
- Caja Petri de vidrio
- Hisopos de madera con punta de algodón de 20 cm
- Cepa ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis*
- Caldo de Enterococcus Chromocult -Merck
- Frasco de vidrio con tapa de 500 mL
- Infusión cerebro corazón BBL – BD - Becton-Dickinson and Company
- Incubadora #4 de Laboratorio de Microbiología de la USFQ
- Refrigeradora Whirlpool WRB101
- Mechero Bunsen
- Micropipeta Finnpipette - Microlat
- Punta para micropipeta de 0,1- 20 uL
- Cámara Petroff Hausser
- Cubreobjetos
- Microscopio de campo oscuro Olympus
- Masilla epóxica Rally
- Gutaperchero American Eagle
- Cinta de plástico biodegradable Parafilm M
- Cinta Teflón ½” P.T.F.E

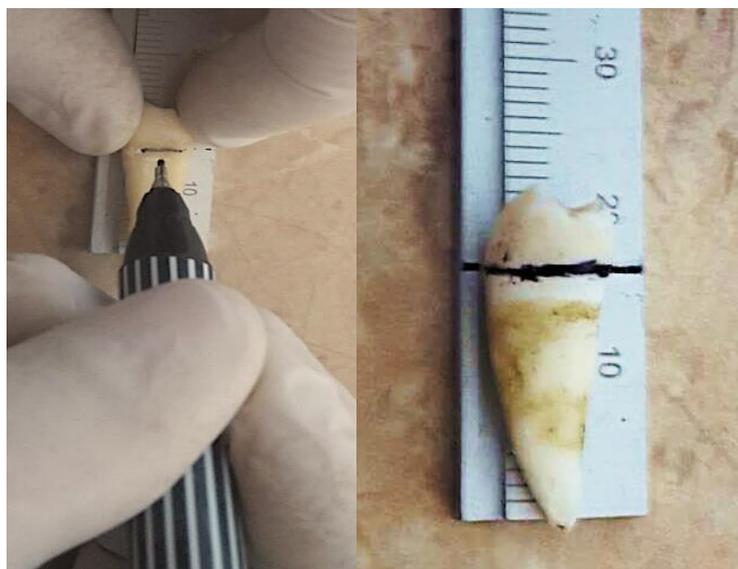
### 3.7 Procedimiento

#### 3.7.1 Recolección de muestras

Una vez extraídas las piezas dentarias por diferentes razones terapéuticas, se les pidió a los pacientes que firmaran un consentimiento informado para la donación de sus órganos dentales y se almacenaron en frascos en solución salina al 0,9% a temperatura ambiente para evitar su deshidratación hasta iniciar el estudio (Monardes y col., 2014).

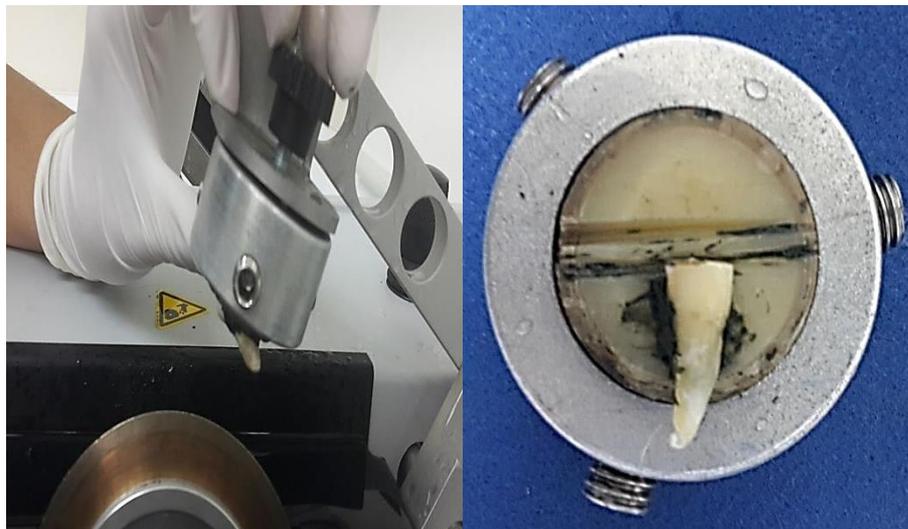
#### 3.7.2 Preparación e instrumentación de raíces.

- a. Se sumergió las raíces en hipoclorito de sodio al 5,25% por aproximadamente 15 min para remover el material orgánico de las superficies radiculares y luego se usó una cureta para remover el tejido remanente teniendo precaución de no dañar la superficie radicular. Posteriormente se almacenó en suero fisiológico a temperatura ambiente por tres meses hasta iniciar el estudio.
- b. Se estandarizó las raíces de 40 dientes a una longitud de 16 mm, utilizando una regla milimetrada y un marcador negro permanente (Fig. 1).



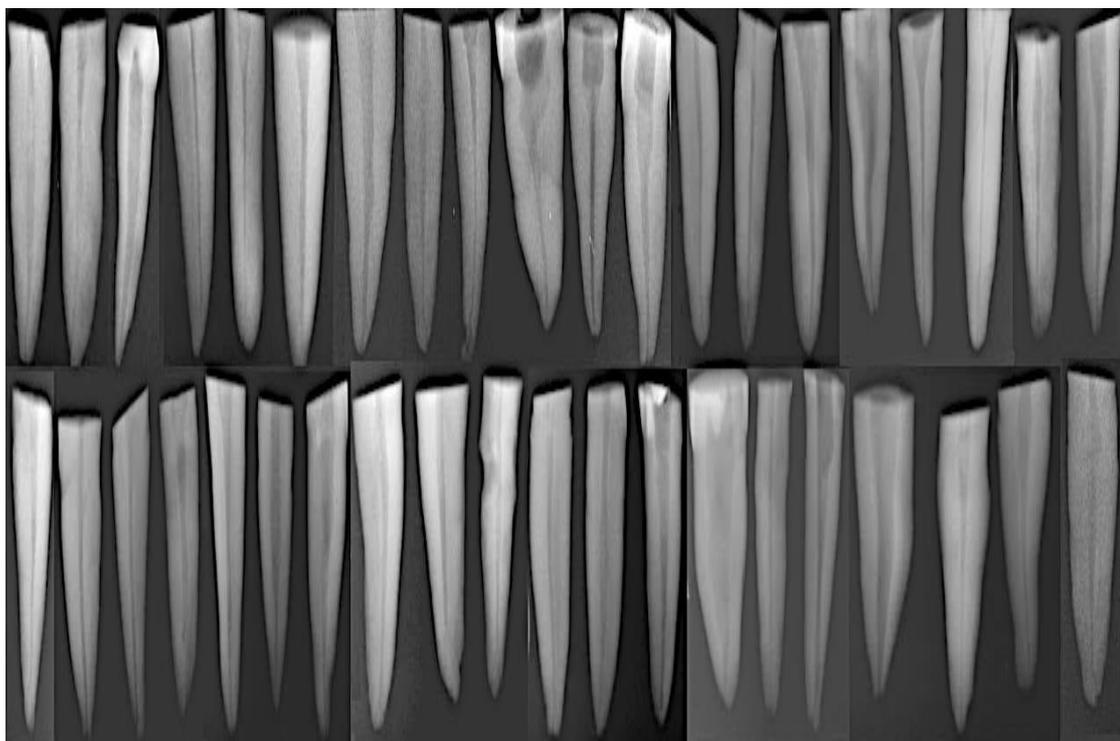
**Figura 1.** Medición estándar de dientes

- c. Se usó godiva de baja fusión para unir el diente al núcleo de la cortadora de precisión, facilitando el corte de todas las raíces a medida estándar (Fig. 2).



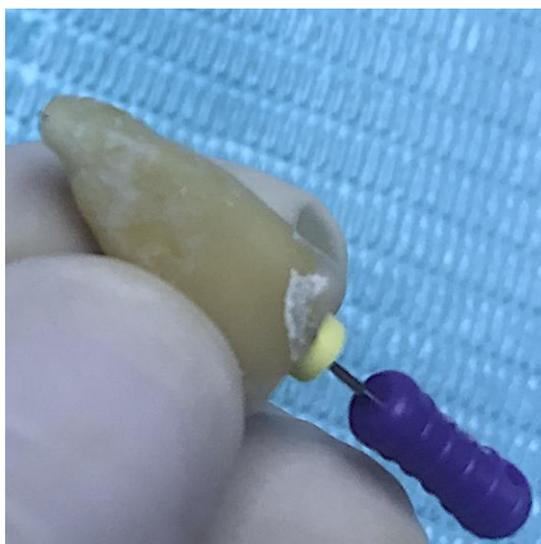
**Figura 2.** Corte estandarizado de dientes

- d. Se confirmó mediante radiografía digital que las raíces seleccionadas cumplieran los criterios de inclusión. (Fig. 3).



**Figura 3.** Radiografías periapicales iniciales

- e. Se realizó patencia con una lima K No.10 a más 1 mm (17mm) y se irrigó con 1 mL de hipoclorito de sodio al 5,25% con el objetivo confirmar la permeabilidad del conducto (Fig. 4).



**Figura 4.** Patentización

- f. Se estableció la longitud de trabajo a 15,5 mm con una lima Flexofile No.15, es decir a menos 0,5 mm de los 16 mm previamente determinados.
- g. Se siguió las recomendaciones de la casa comercial VDW para la técnica de instrumentación Crown down y la selección de las limas Reciproc de acuerdo a la amplitud de los conductos. Si la lima Flexo-file 30 ingresaba de manera pasiva a la longitud de trabajo se continuó con la lima Reciproc R50, pero si la lima Flexo-file 20 ingresaba de manera pasiva se continuó con la lima R40 y finalmente se continuaba con la lima Reciproc R50 hasta lograr estandarizar la instrumentación a la lima final R50 (Fig. 5) (VDW, 2014).



**Figura 5.** Material de instrumentación recíproca

- h. La mecánica de instrumentación es reciprocante y siguiendo las indicaciones del fabricante para las limas Reciproc se realizaron movimientos de picoteo lento hacia adentro y hacia fuera aplicando una ligera presión, hasta lograr hacer 3 picoteos totales. Se retiró el instrumento y se irrigó con 2mL de hipoclorito de sodio al 5,25% y nuevamente se permeabilizó el conducto con una lima Flexofile No.10. Finalmente, se continuó con los mismos movimientos hasta alcanzar la longitud de trabajo (VDW, 2015).
- i. Después de la instrumentación, se realizó el protocolo de irrigación final acompañado de activación con ultrasonido y limas de Ni Ti U # 40 por 1 minuto en cada conducto, usando 5 mL de hipoclorito de sodio al 5,25%, 5 mL de suero fisiológico y finalmente 5 mL de EDTA al 17% (Fig. 7).



**Figura 6.** Activación ultrasónica

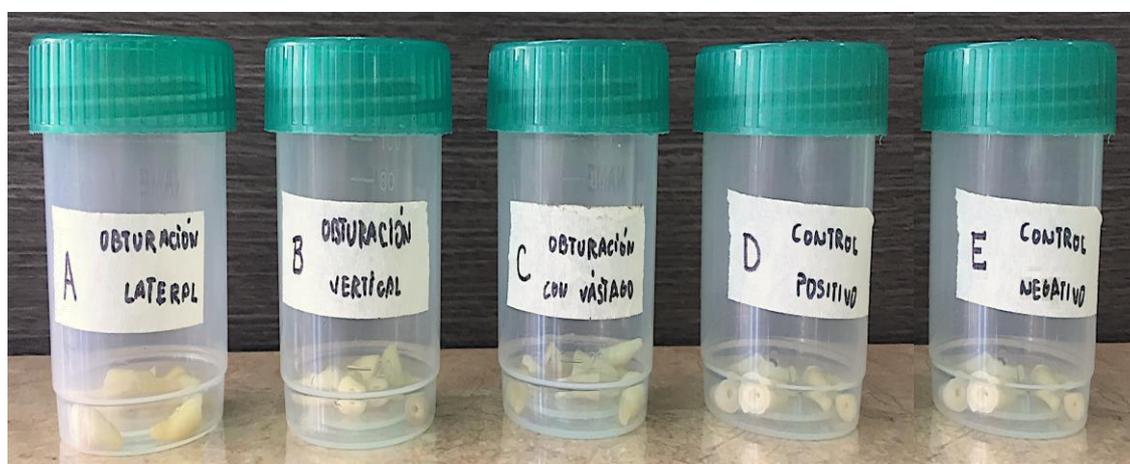
- j. Ya instrumentados y desinfectados los conductos, se dividieron los dientes de manera aleatoria en cinco grupos, tres grupos de estudio de 10 raíces cada uno y dos grupos control de 5 raíces cada uno los cuales se colocaron en frascos recolectores plásticos como se observa en la fig. 7 y se designó los grupos de estudio y control como se observa en la Tabla 1 y 2.

GRUPO	TÉCNICA DE OBTURACIÓN	DESCRIPCIÓN	MUESTRAS
A	Obturación lateral en frío	Cono de gutapercha 50.02 Conos Auxiliares A y B Cemento Top Seal	10
B	Obturación vertical de onda continua de calor y gutapercha termoplastificada	Cono de gutapercha R50 Gutapercha en barra Cemento Top Seal	10
C	Obturación con vástago de gutapercha termoestable	Vástago de gutapercha GuttaCore 50 Cemento Top Seal	10

**Tabla 2.** Grupos de estudio

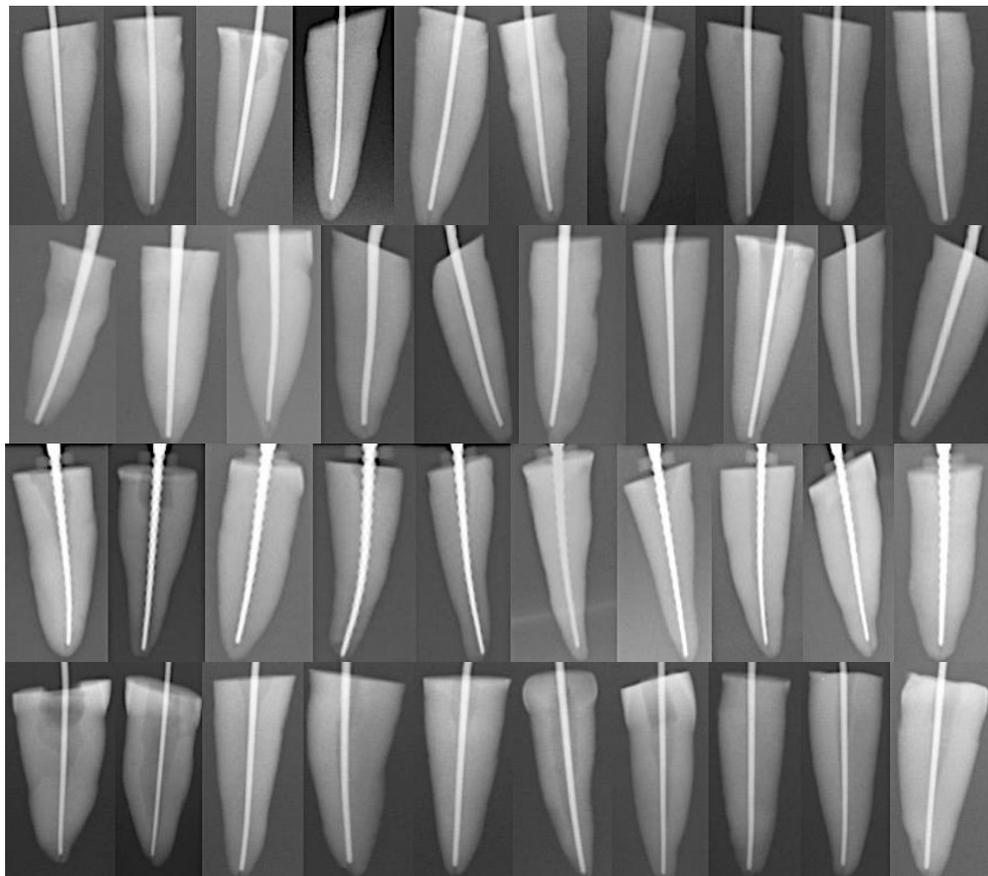
GRUPO	CONTROL	DESCRIPCIÓN	MUESTRAS
D	Control positivo	Sin obturación Sin cemento BHI contaminado con <i>Enterococcus faecalis</i>	10
E	Control negativo	Sin obturación Sin cemento BHI no contaminado	10

**Tabla 2.** Grupos control



**Figura 7.** Distribución aleatoria de raíces en grupos

- k. Para proceder con la obturación en los grupos de estudio se realizó primero la toma de radiografía de conometrías usando el cono maestro o el verificador para el grupo de obturación con vástago (Fig. 6).



**Figura 8.** Conometrías radiográficas

### **3.7.2 Fabricación de cámaras**

Para el ensamblaje de cada raíz se utilizó un tubo de centrifuga Falcon de plástico de 15 mL dividido en dos partes, las cuales posteriormente se los llamó cámaras.

- a. Se calentó un estilete usando el mechero con alcohol industrial, y se cortó el tubo en las marcas de 4 y 15 mL, descartando la parte central (Fig. 9).



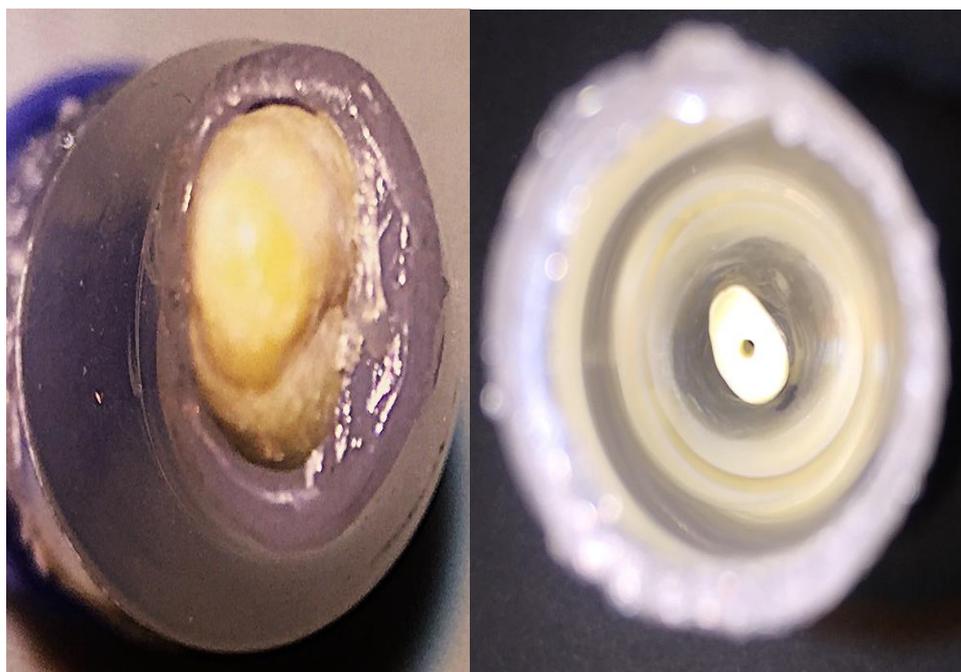
**Figura 9.** Corte de tubos Falcon

- b. Se cortó la punta de una de las cámaras para dar espacio al ingreso de la raíz, la cual se empujó suavemente a través de la abertura ubicándola a 8 mm fuera del tubo; medida que fue previamente marcada en las raíces (Fig. 10).



**Figura 10.** Corte de tubo y ensamblaje de raíz

- c. Se flameó el extremo de la cámara inferior para adaptar el orificio a la forma de cada una de las raíces como se observa en la Fig. 11, con el objetivo de crear menos espacios y un mejor selle.



**Figura 11.** Selle con calor de interfase entre raíz y tubo

- d. Se rotuló cada una de las cámaras y las raíces para luego poder armarlas nuevamente como se observa en la Fig.12.



**Figura 12.** Rotulación de tubos

- e. Se envolvió en papel aluminio cada muestra para evitar el paso del vapor a los tubos y hacerlos impermeables durante la esterilización; luego se marcó con cinta testigo y se rotularon como se ve en la Fig. 13. Posteriormente se esterilizaron en autoclave por 20 min a  $121^{\circ}\text{C} \pm 2$  con el objetivo de eliminar todo microorganismo tanto los tubos como de las raíces.



**Figura 13.** Preparación para esterilización de muestras

### 3.7.3 Obturación de las raíces

Todo el proceso posterior fue realizado en el Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco. La obturación radicular fue realizada por un solo operador y se llevó a cabo dentro de la cámara de flujo laminar y bajo el uso de guantes quirúrgicos estériles para evitar la contaminación externa.

- a. Previo al inicio de la obturación, se procedió a estandarizar la cantidad de cemento Top Seal para las muestras pesando en una balanza de precisión una cantidad estándar de 0,2 g (Fig. 14).



**Figura 14.** Estandarización de cantidad de cemento

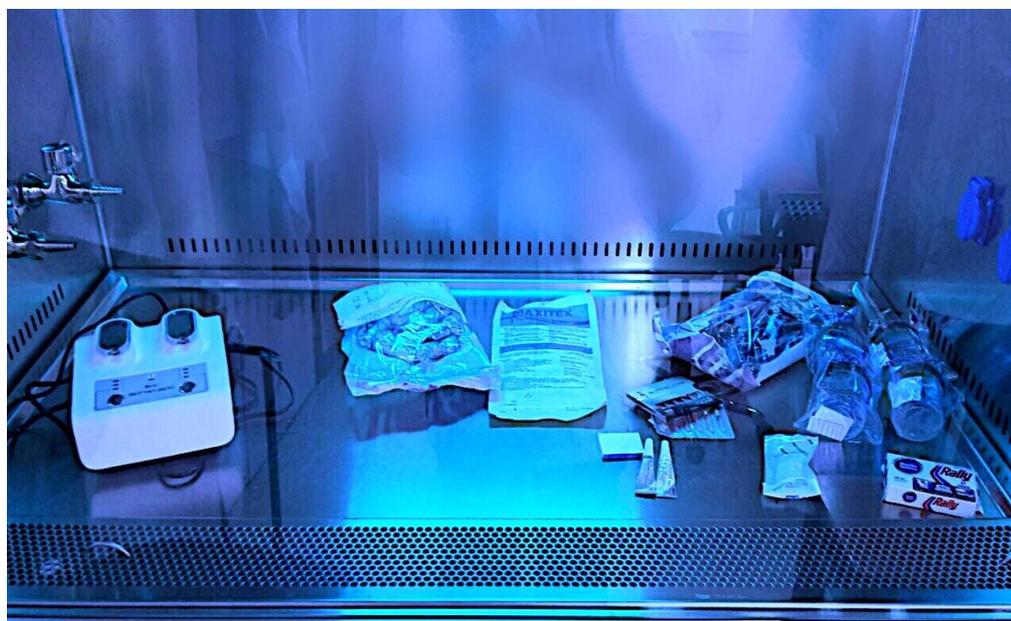
- b. Los conos principales y accesorios se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 5,25% por 5 minutos previos a usarse (Fig. 15). Los vástagos de gutapercha no

pasaron por este proceso, debido a que vinieron estériles en el blíster original.



**Figura 15.** Desinfección de conos de gutapercha

- c. En el Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito se procedió a ingresar al interior de la cámara de flujo laminar todo el material a utilizarse. Posteriormente se activó la luz UV por 15 min para su esterilización como se observa en la Figura 16.

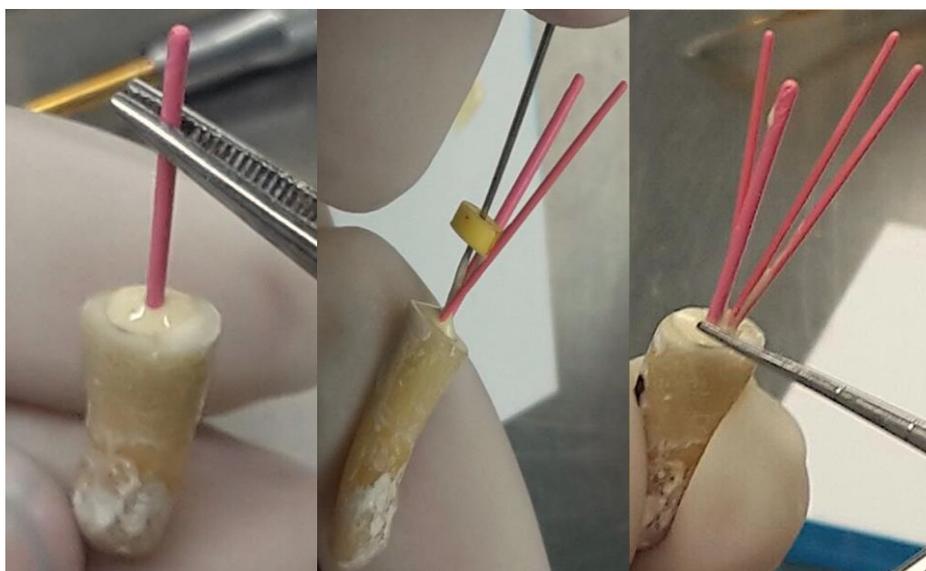


**Figura 16.** Esterilización con UV en cámara de flujo

- d. Se realizó la obturación de las raíces de los grupos de estudio A, B y C siguiendo las indicaciones de cada técnica. Los grupos control D y E no fueron

obturados.

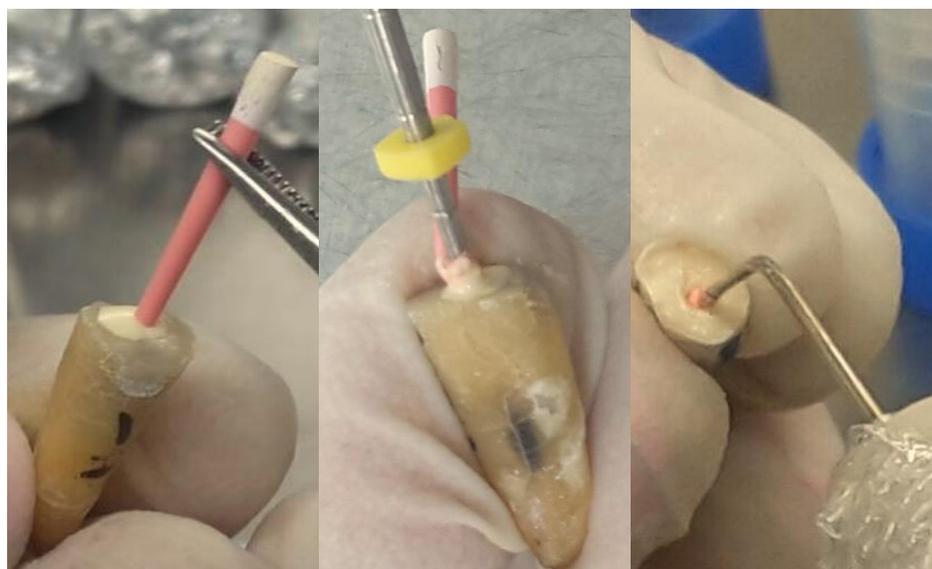
- e. Para la técnica de condensación lateral, se utilizó un cono 50.02 previamente medido con la regla de endodoncia a 15,5mm. Con el mismo cono principal se aplicó el cemento sellador Top Seal dentro del conducto y se introdujo posteriormente en el mismo hasta la longitud de trabajo. Se usó espaciadores A o B dependiendo del ancho del conducto medidos a menos 1 mm de la longitud de trabajo y se condensó lateralmente el cono principal hasta dar espacio a los conos accesorios A y B dependiendo del espaciador que se haya usado (Fig. 17). Se ingresó tantos conos accesorios como fue permitido y usando un condensador eléctrico con punta de calor 40.03 a 180°C se cortó los conos de la parte coronal. Finalmente se condensó en frío verticalmente usando un condensador de gutapercha Dentsply #4 (Rodríguez, 2009; Schäfer y Olthoff, 2002; Schäfer y col., 2013).



**Figura 17.** Obturación radicular con técnica de condensación lateral

- f. Para la técnica de condensación vertical se utilizó un cono R50 previamente medido con una regla de endodoncia a 15.5 mm. Se impregnó el cono con cemento sellador Top Seal y se introdujo en el conducto. Se usó el condensador eléctrico con la punta de calor 40.03 a 180°C para cortar el cono principal,

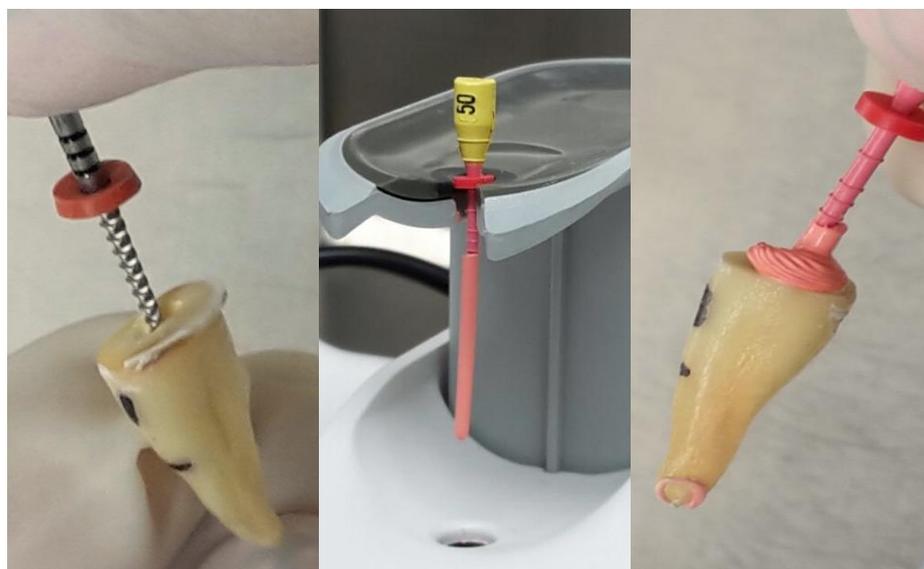
ingresando con ligera presión a menos 5 mm de la longitud de trabajo (10.5 mm) donde permaneció activado por 3 a 4 segundos y luego se desactivó; se esperó 10 segundos y nuevamente se le activó por 1 segundo y se retiró del conducto. Luego con un condensador de gutapercha Dentsply #1-2 se realizó la compactación apical. Finalmente se usó el equipo de gutapercha termoplastificada inyectable a una temperatura de 200°C dispensando la gutapercha dentro del conducto hasta llenarlo completamente; y usando un condensador de gutapercha Dentsply # 3-4 se condensó verticalmente. (Fig. 18) (VDW, 2014).



**Figura 18.** Obturación radicular con técnica de condensación vertical

- g. Para la técnica de obturación con vástago de gutapercha se usó un obturador GuttaCore 50 medido previamente con el tope de caucho a 15.5mm. y el horno GuttaFusion. Usando el verificador del mismo sistema se dispensó el cemento sellador Top Seal dentro del conducto. Se procedió a encender el horno y se seleccionó el modo de calentamiento indicado para el vástago. Se colocó el vástago en el soporte y se lo presionó para que empiece a calentar. Se esperó hasta que el horno alcance la temperatura correcta indicándolo con la emisión de un sonido y luego se presionó de nuevo el soporte para retirar con cuidado el

obturador del horno. Se introdujo el vástago precalentado con ligera presión dentro del conducto hasta llegar a la longitud de trabajo. Se esperó 5 segundos y se dobló el mango hacia un lado hasta poder retirarlo (Dentsply, 2014).



**Figura 19.** Obturación radicular con técnica de vástago de gutapercha

#### 3.7.4 Preparación de infusión cerebro corazón (BHI).

- a. Dentro de un frasco de vidrio de 500 mL se disolvió 9,25g de polvo de infusión cerebro corazón en 250 mL de agua destilada y se agitó suavemente hasta diluirla completamente (Fig. 20).

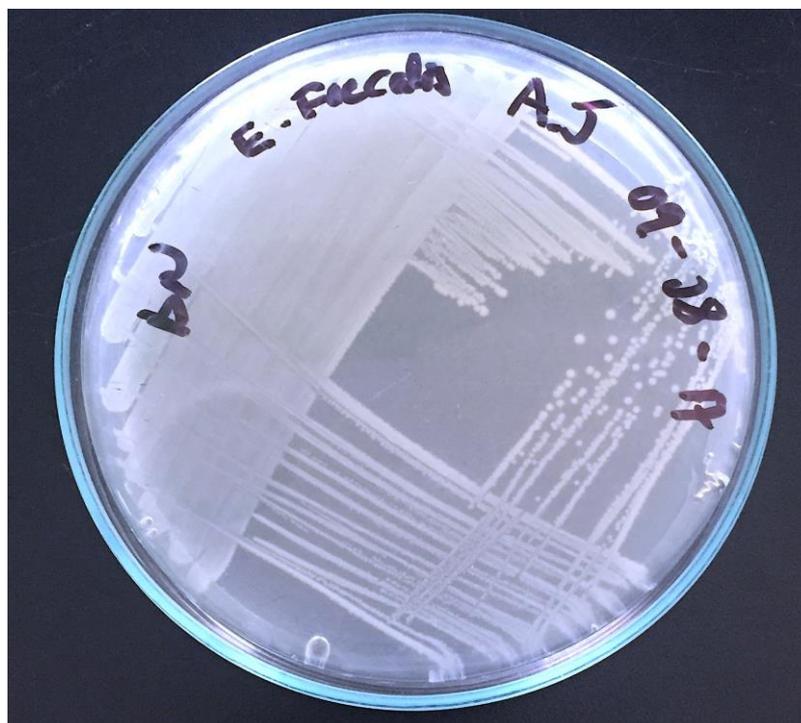


**Figura 20.** Medición y preparación de BHI

- b. Se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. Y luego se guardó en la refrigeradora a  $3^{\circ}\text{C} \pm 1,5$  hasta el montaje de las cámaras.

### 3.7.5 Cultivo de *Enterococcus faecalis* y contaminación del BHI.

- a. La cepa ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis* fue entregado por el Ingeniero Juan Daniel Mosquera quien guío todo el procedimiento realizado dentro del Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito. Se cultivó el *Enterococcus faecalis* en una caja Petri usando un medio agar nutritivo como se observa en la Fig. 21 y se dejó en la incubadora a  $36,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5$  hasta el momento de la inoculación.



**Figura 21.** Cultivo de *Enterococcus faecalis*

- b. Previo al montaje de las cámaras, se realizó la inoculación del caldo cerebro corazón. Este procedimiento se realizó al lado de una llama para evitar contaminación externa. Con un hisopo estéril y largo se tomó 5 colonias de *Enterococcus faecalis* y se inoculó los 250 mL de infusión cerebro corazón, siempre usando la misma cantidad para estandarizar el número de bacterias presentes en el caldo (Fig. 22).



**Figura 22.** Toma de colonias e inoculación en BHI

- c. Para estandarizar el número promedio de bacterias de cada muestra, se realizó la técnica de conteo directo de bacterias viables al microscopio.

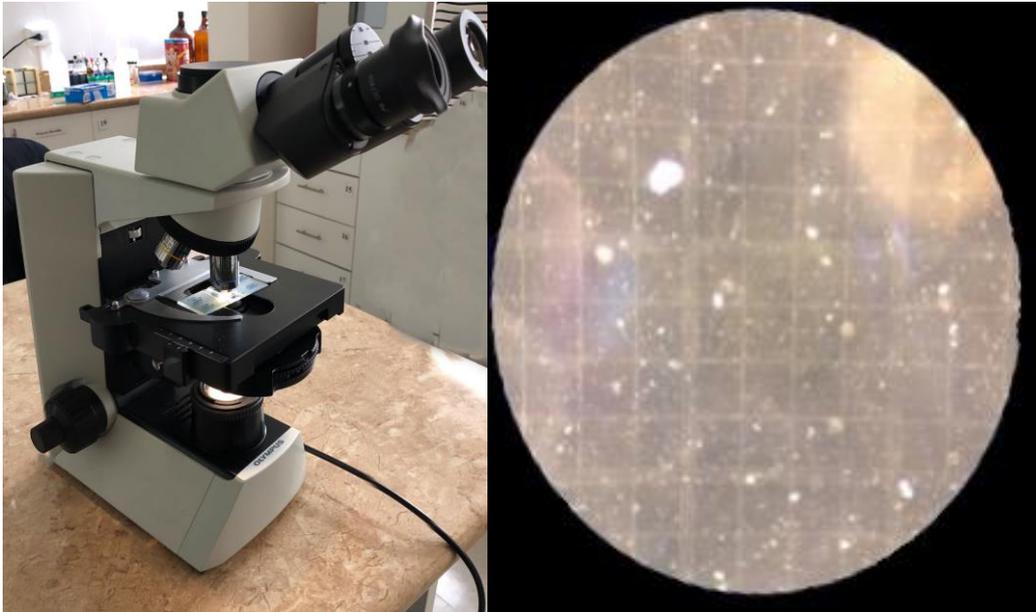
### 3.7.6 Contaje directo de bacterias viables al microscopio

Se tomó 10  $\mu$ L de la dilución de los 250 mL del BHI previamente contaminado con 5 colonias de *Enterococcus faecalis*, y se depositó sobre la cámara Petroff Hausser cubriéndola posteriormente con un cubreobjetos como se observa en la Fig. 23. Esta cámara es un portaobjetos modificado con una superficie marcada de rejillas con pequeños cuadros de áreas conocidas.



**Figura 23.** Toma de muestra y depósito en cámara Petroff Hausser

Se usó el microscopio electrónico de campo oscuro a un aumento de 40X y se procedió a enfocar, observar y contar la cantidad de bacterias presentes en una cuadrícula Z (Fig. 24) hasta obtener un conteo total de 14 cuadrículas al azar. Se registró los datos y se sacó una media.



**Figura 24.** Observación y contaje de bacterias al microscopio

Los valores observados fueron de 7,11,12,8,9,10,8,12,15,13,15,13,9,14; teniendo como media 11.14 bacterias, y finalmente se aplicó la siguiente fórmula para conseguir el número de bacterias por cada mL.

$$Z = \text{Valor promedio} \times 400 \times 50 \times 1000$$

$$Z = 11,14 \times 400 \times 50 \times 1000$$

$$Z = 2,228 \times 10^8$$

Debido a que el valor que se depositó en cada cámara superior fue de 2 mL entonces se multiplica este valor por 2.

$$\begin{aligned} \text{Número de bacterias en 2 mL} &= 2,228 \times 10^8 \times 2 \\ &= 4,456 \times 10^8 \end{aligned}$$

### 3.7.7 Preparación del caldo Chromocult

- a. Dentro de un frasco de vidrio se disolvió 4,5 g en 250 mL de agua destilada y se agitó suavemente hasta diluirla completamente. El caldo obtenido fue de color amarillo claro como se observa en la Fig. 25, color característico de que no hay contaminación de *Enterococcus*.



**Figura 25.** Medición y preparación de Chromocult

- b. Posteriormente fueron esterilizados en autoclave por 15 min a 121°C y almacenado en la refrigeradora a 3°C  $\pm$  1,5 hasta el montaje de las cámaras.

### 3.7.8 Montaje de cámaras

Todo el proceso de montaje se realizó dentro de la cámara de flujo laminar, previo uso de del UV para que no haya contaminación. De igual manera se usó guantes quirúrgicos estériles para evitar la contaminación externa.

- a. Para sellar el espacio entre el diente y el orificio de la cámara inferior se utilizó resina epóxica, la cual fue moldeada y comprimida con un gutaperchero como se

observa en la Fig. 26.



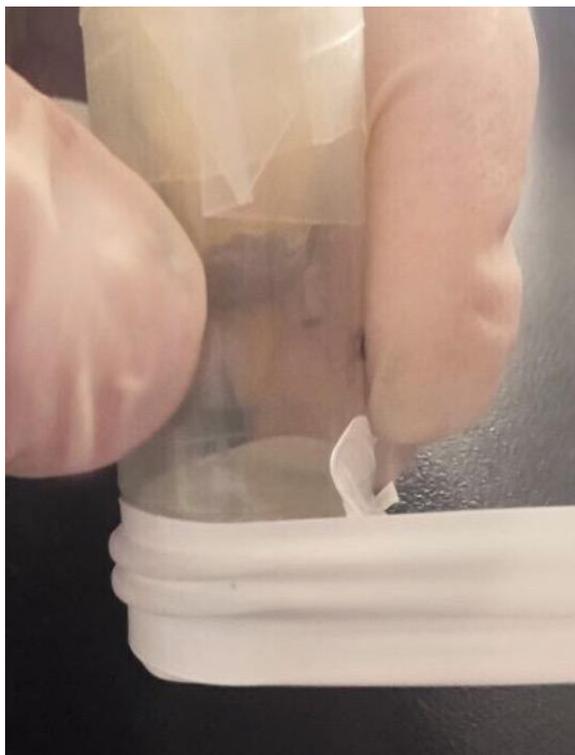
**Figura 26.** Sella de interfase con resina epóxica entre raíz y tubo

- b. Por indicaciones del fabricante se dejó secar por 24 horas la resina epóxica y se guardó las cámaras en frascos recolectores estériles durante este tiempo (Fig. 27).



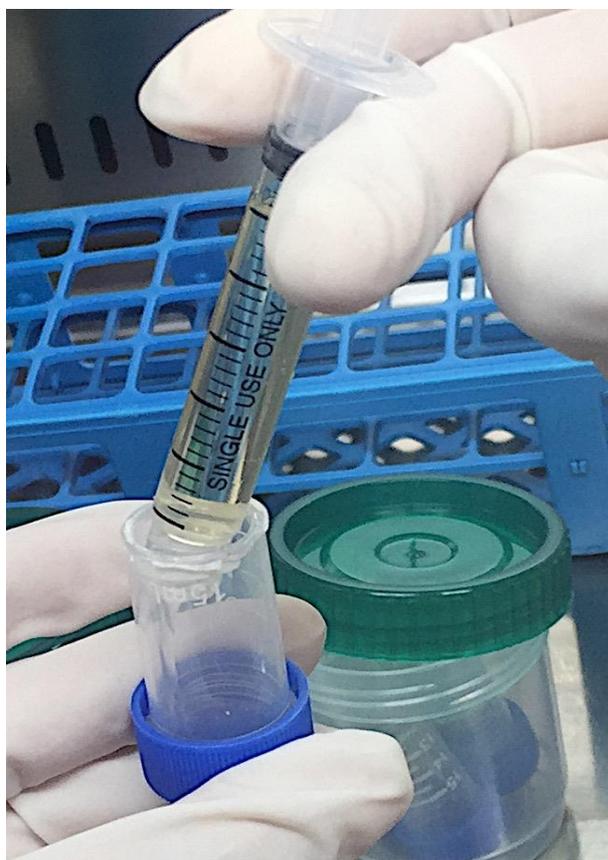
**Figura 27.** Almacenamiento de muestras para fraguado de resina epóxica

- c. Pasadas las 24 horas, se procedió a sellar la unión de la rosca y la tapa de la cámara inferior con cinta teflón, para evitar la salida del caldo Chromocult como lo indica la Fig. 28.



**Figura 28.** Instalación de teflón en rosca del tubo

- d. Utilizando una jeringuilla estéril se procedió a colocar 2,5 mL de caldo de Chromocult en la cámara inferior (Fig. 29).



**Figura 29.** Estandarización de cantidad de Chromocult

- e. Luego se unió la cámara inferior con la superior junto a la raíz ya ensamblada previamente, y se controló que entre en contacto solo el ápice de la raíz con el caldo Chromocult (Fig. 30). Sellamos la unión de ambas cámaras con Parafilm como se ve en la Fig. 31.

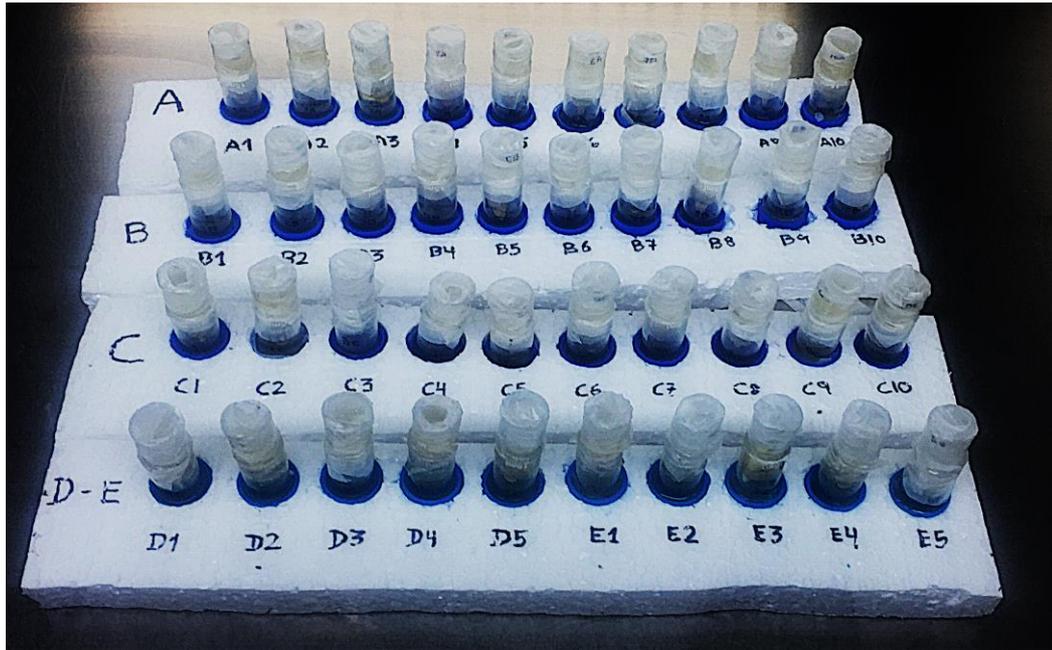


**Figura 30.** Contacto de ápice con Chromocult



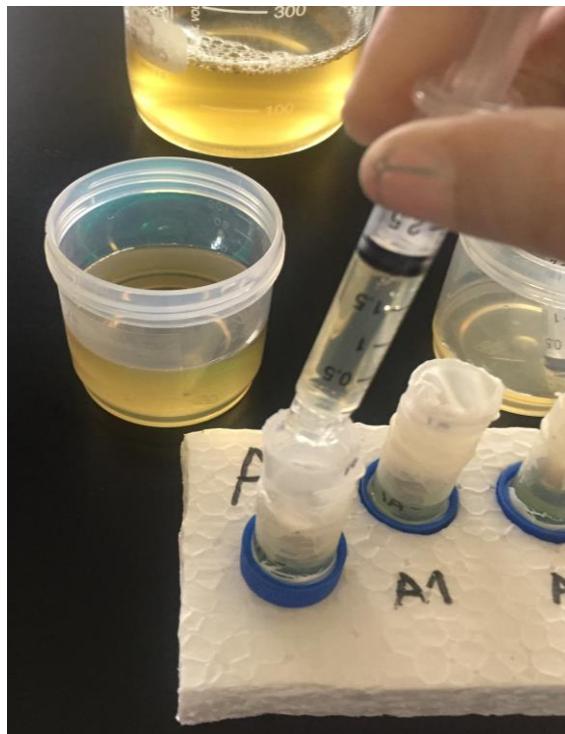
**Figura 31.** Selle de unión de cámaras con Parafilm

- f. Utilizando una nueva jeringuilla estéril se colocó 2mL de infusión cerebro corazón previamente contaminado con *Enterococcus faecalis* en la cámara superior, y se selló con cinta Parafilm.
- g. Una vez armadas todas las muestras, se las colocó en gradillas fabricadas en espuma flex y previamente rotuladas (Fig. 32). Finalmente, se las ubicó en la incubadora a una temperatura de  $36,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5$  durante todo el tiempo de observación.



**Figura 32.** Muestras armadas en gradillas

- h. El caldo cerebro corazón contaminado con *Enterococcus faecalis* de la cámara superior fue reemplazado cada 4 días por un nuevo caldo contaminado con el objetivo de mantener a las bacterias viables (Fig. 33).



**Figura 33.** Reemplazo de BHI contaminado

### **3.8 Aspectos bioéticos**

Esta investigación no representó ningún riesgo biológico ni para el investigador ni para sus beneficiarios, y fue puesto a consideración por parte del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad San Francisco de Quito.

Se declara de igual manera que no existe ningún conflicto de interés por parte del director e investigador.

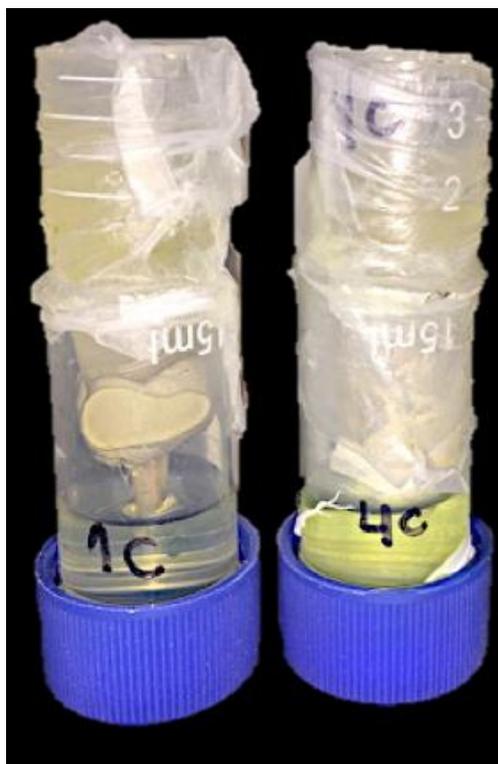
Los estudios de microfiltración bacteriana aplicados en diferentes técnicas de obturación endodóncica favorecerá la elección de un método de obturación innovador y seguro para mejorar los pronósticos de los tratamientos de endodoncia y finalmente brindar integridad a la salud oral y mejorar la calidad de vida a la población.

Los beneficiarios de esta investigación serán la comunidad odontológica, por una parte, ya que al contar con este sustento científico tendrán la opción de seleccionar o cambiar sus métodos de obturación y avalar su trabajo. Y por otro lado la comunidad en general ya que podrán tener la seguridad de que el profesional odontológico está usando las mejores elecciones para su tratamiento para tener éxito del mismo.

## CAPÍTULO IV

### 4 RESULTADOS

Todas las cámaras inferiores fueron observadas a diario por 22 días para ver en qué momento se produce el cambio de color del caldo Chromocult de amarillo a verde, como evidencia de la filtración bacteriana a través de la obturación de las raíces (Fig. 34).



**Figura 34.** Evidencia de filtración bacteriana

Los datos recopilados fueron escritos en una hoja de cálculo como se observa en la Tabla 2. Los datos se analizaron estadísticamente mediante el programa IBM SPSS Statistics 22 comparando los valores promedio de todas las muestras y de cada grupo de obturación. Debido a que los datos no se distribuyeron normalmente (pruebas de Kolmogorov - Smirnov y Shapiro-Wilk) se sometieron a la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis y la prueba de dos a dos para demostrar si existía diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. El nivel de significancia se estableció

en  $p < 0,05$ .

GRUPO DE OBTURACIÓN	DÍA QUE FILTRÓ
1	4
1	4
1	7
1	7
1	4
1	7
1	4
1	4
1	6
1	4
2	16
2	9
2	16
2	15
2	16
2	9
2	16
2	9
2	10
2	16
3	22
3	22
3	21
3	12
3	18
3	21
3	12
3	12
3	15
3	12
4	1
4	1
4	1
4	1
4	1
5	0
5	0
5	0
5	0
5	0

**Tabla 4.** Resultados obtenidos: Grupo 1: Obturación lateral, Grupo 2: Obturación vertical,

Grupo 3: Obturación con vástago, Grupo 4: Control positivo y Grupo 5: Control Negativo.

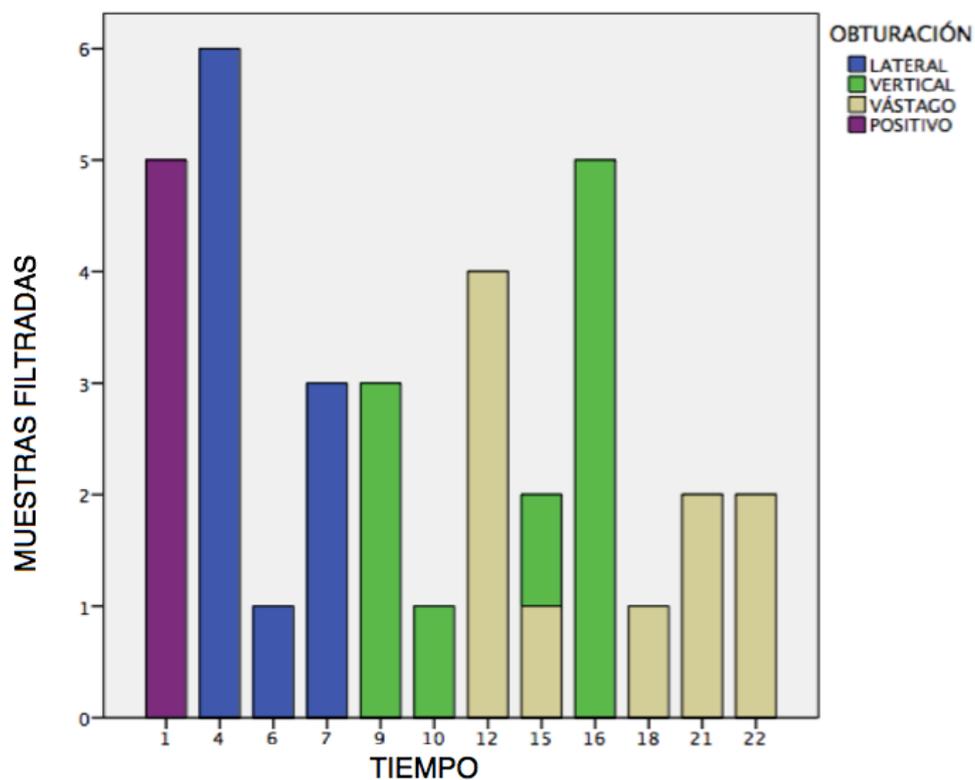
#### 4.1 Análisis descriptivo

Con los datos recolectados se procedió a utilizar el programa IBM SPSS Statistics 22 para realizar la estadística descriptiva tanto general como específica de cada grupo de obturación, como se observa en la tabla 3 y 4; en donde solo fueron válidos 35 de los 40 datos, ya que no se tomó en cuenta los 5 valores del control negativo por no presentar filtración. Entre los datos importantes tenemos la media que es el promedio de filtración de todas las muestras teniendo como resultado 10,14 días y el valor de la asimetría que por ser un valor positivo nos indica anticipadamente que no vamos a tener una normalidad en los resultados.

En la figura 35 podemos observar la filtración de acuerdo al tiempo y a la técnica de obturación, indicando de manera inicial que las muestras de obturación por condensación lateral se asemejan al control positivo y que son las primeras en filtrar.

<b>Descriptivos generales</b>	Valor
N Válidos	40
N Perdidos	5
Media	10,14
Mediana	9,00
Moda	4
Asimetría	,239
Curtosis	-1,098

**Tabla 5.** Estadística descriptiva general de todos los grupos de obturación



**Figura 35.** Filtración de acuerdo al tiempo: Se observa el número de muestras filtradas según el día de observación y el grupo de obturación

### Descriptivos Específicos

Tipo de Obturación	N	Media	Desviación estándar	Máx.	Min
Lateral	10	5,10	1,449	4	7
Vertical	10	13,20	3,425	9	16
Vástago	10	16,70	4,547	12	22
Positivo	5	1,00	,000	1	1
Total	35	10,14	6,656	1	22

**Tabla 6.** Estadística descriptiva específica de cada tipo de obturación

## 4.2 Análisis estadístico

Se verificó si las muestras tomadas provenían de una población con distribución normal, para lo cual se realizó el planteamiento de las hipótesis y se aplicó las pruebas respectivas.

### 4.2.1 Pruebas de distribución normal.

Se realizó el planteamiento de hipótesis para la prueba de normalidad:

- $H_0$  (hipótesis nula): Las muestras provienen de poblaciones con distribución Normal
- $H_a$  (hipótesis alterna): Las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal

Luego se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk prueba que es la prueba indicada para cuando hay menos de 50 datos. Para los grupos control no se realizó la prueba por ser un grupo menor a 10 datos. El nivel de significación es 0,05 (95% de confiabilidad), por lo tanto, si el nivel de significación es superior a 0,05 se acepta  $H_0$  (hipótesis nula), si es inferior a 0,05 se acepta  $H_a$  (hipótesis alterna).

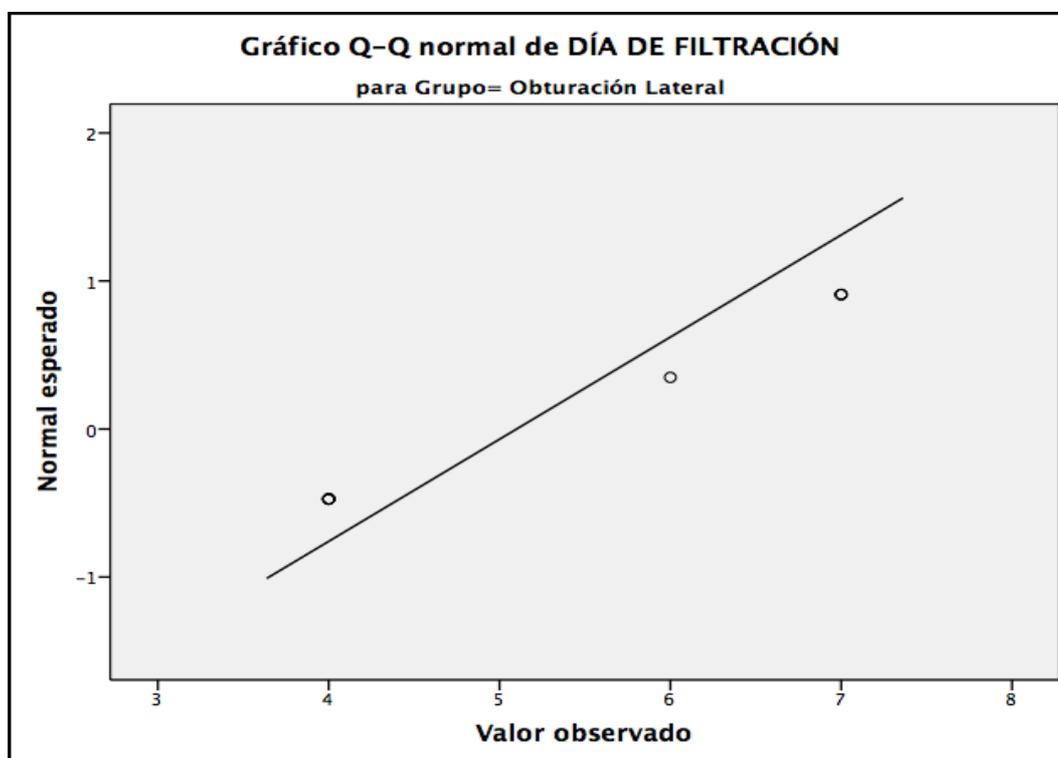
Si los resultados indican una distribución normal se realizan pruebas paramétricas como: T student y ANOVA que usan la media y la desviación estándar. Pero si las muestras no provienen de poblaciones con distribución normal, entonces se realizan pruebas no paramétricas como: Mann Whitney, Kruskal Wallis o Wilcoxon que usan el orden y los signos.

Pero como se puede observar en la tabla 5, los resultados de la prueba de normalidad tuvieron una significancia menor a 0,05 por lo que se acepta la hipótesis alterna ( $H_a$ ), donde las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal.

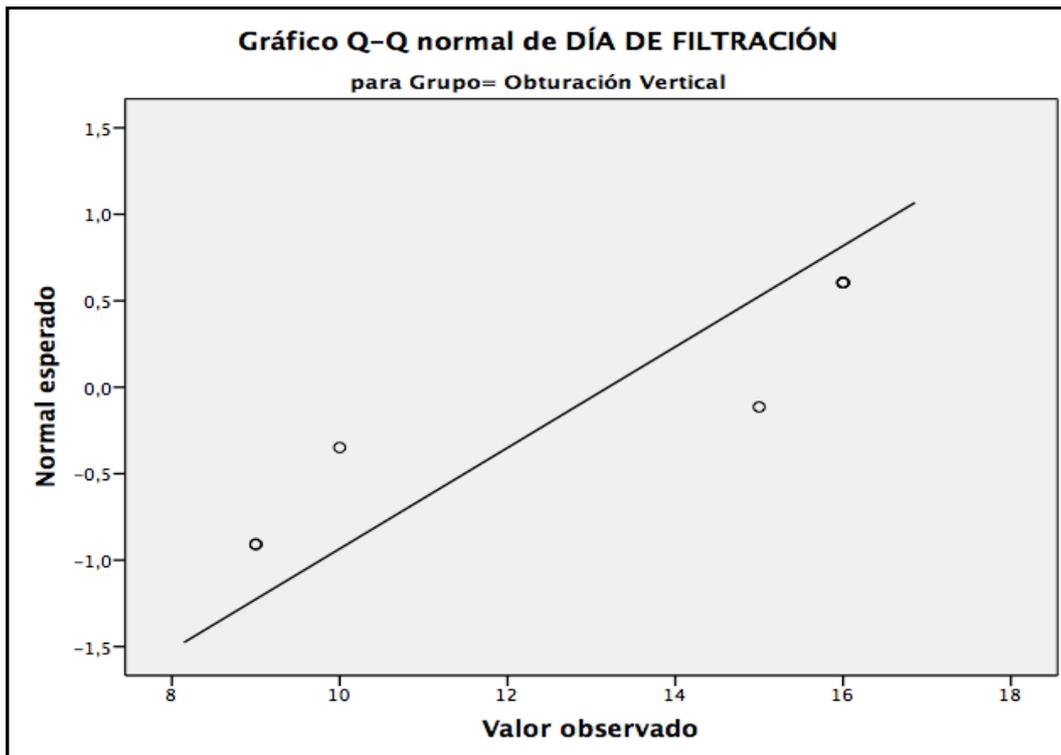
GRUPOS	Shapiro- Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
OBTURACIÓN LATERAL	0,684	10	0,001
OBTURACIÓN VERTICAL	0,700	10	0,001
OBTURACIÓN CON VÁSTAGO	0,797	10	0,013

**Tabla 7:** Prueba de distribución normal

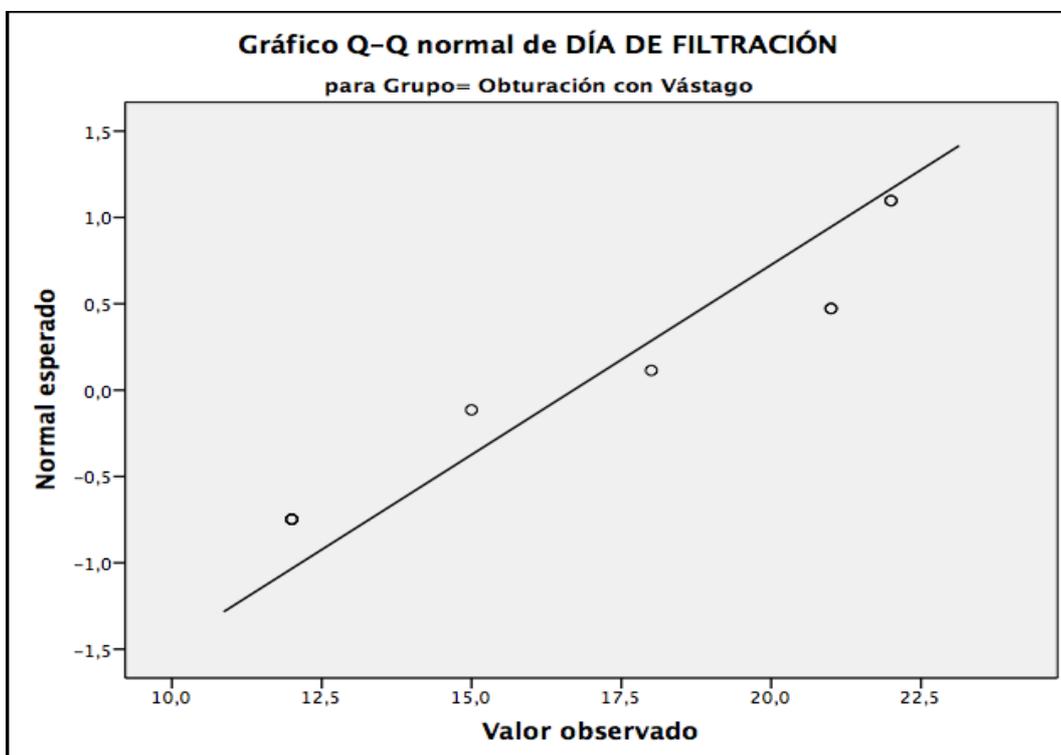
En las figuras 36, 37 y 38 se observa los gráficos Q-Q normal en la que se puede observar la distribución anormal en los grupos de obturación lateral, vertical y de vástago respectivamente. Como se observa los puntos no siguen la línea de normalidad.



**Figura 36.** Distribución anormal en grupo de obturación lateral



**Figura 37.** Distribución anormal en grupo de obturación vertical



**Figura 38.** Distribución anormal en grupo de obturación en vástago

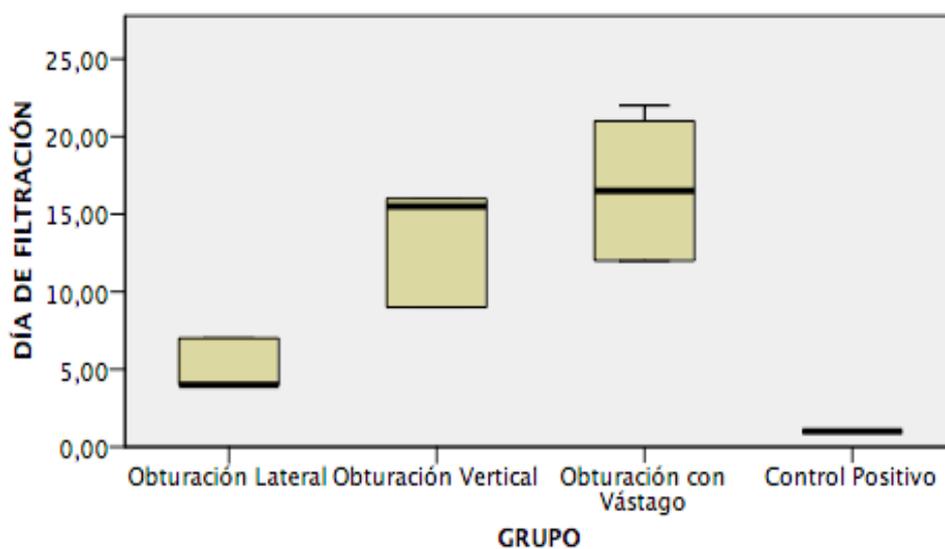
#### 4.2.2 Pruebas no paramétricas: Kruskal Wallis.

Para comparación de tres o más grupos en pruebas no paramétricas se usa idealmente la prueba de Kruskal Wallis.

Primero se realizó el planteamiento de hipótesis:

- Ho: (hipótesis nula) No existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de obturación ( $p > 0,05$ )
- Ha: (hipótesis alternativa) Existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de obturación. ( $p < 0,05$ )

#### Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

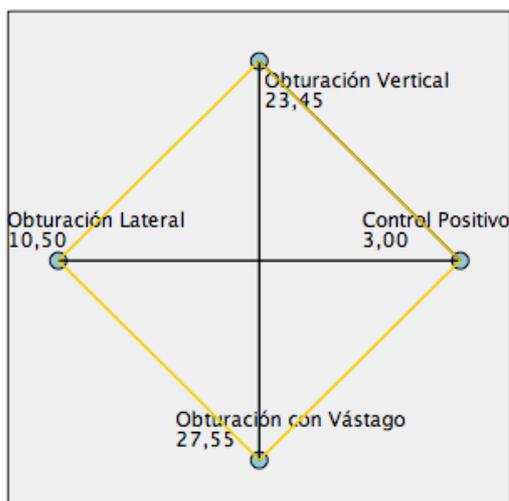


<b>N total</b>	35
<b>Estadístico de contraste</b>	27,962
<b>Grados de libertad</b>	3
<b>Significación asintótica (prueba bilateral)</b>	,000

**Tabla 8:** Pruebas de Kruskal-Wallis

La prueba de Kruskal-Wallis tiene un nivel de significación de 0,05; como se observa en la tabla 8 se obtuvo una significación de 0,000 que es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad) por lo que se acepta la  $H_a$  (hipótesis alterna), es decir que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de obturación. Para verificar cuales son o no similares se realiza la prueba de comparación de parejas que tiene el nivel de significancia de 0,05.

### Comparaciones por parejas de GRUPO



Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de prueba	Estándar Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajust.
Control Positivo-Obturación Lateral	7,500	5,575	1,345	,179	1,000
Control Positivo-Obturación Vertical	20,450	5,575	3,668	,000	,002
Control Positivo-Obturación con Vástago	24,550	5,575	4,404	,000	,000
Obturación Lateral-Obturación Vertical	-12,950	4,552	-2,845	,004	,044
Obturación Lateral-Obturación con Vástago	-17,050	4,552	-3,746	,000	,002
Obturación Vertical-Obturación con Vástago	-4,100	4,552	-,901	,368	1,000

**Tabla 9:** Pruebas de comparación de parejas

En esta prueba se obtiene que son similares los grupos de obturación en donde el valor de significación ( $p$ ) es superior a 0,05 ( $p > 0,05$ ) y aceptamos la hipótesis nula de que no existe diferencias estadísticamente significativas entre:

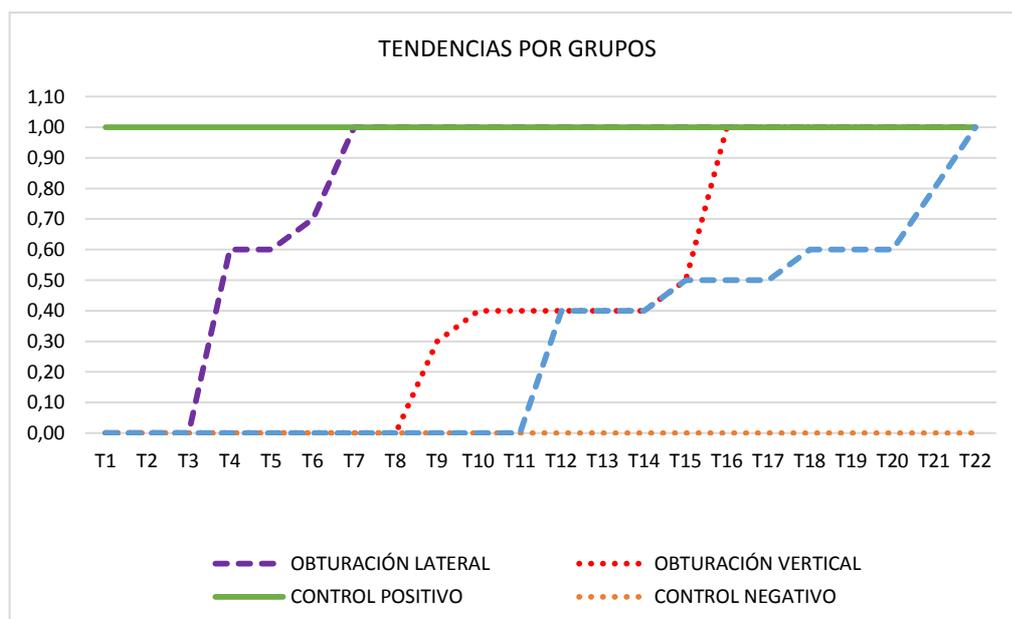
- Control positivo y obturación lateral ( $p=1$ )
- Obturación lateral y obturación con vástago ( $p=1$ )

En cambio, cuando el valor de significación es menor a 0,05 ( $p < 0,05$ ) aceptamos la hipótesis alterna de que existe diferencias estadísticamente significativas entre:

- Control positivo y obturación vertical ( $p=0,002$ )
- Control positivo y obturación con vástago ( $p= 0,000$ )
- Obturación lateral y obturación vertical ( $p=0,044$ )
- Obturación lateral y obturación con vástago ( $p=0,002$ )

En la Tabla 10 se puede observar que:

- Obturación lateral: T4 empieza filtración, en T7 iguala a control positivo
- Obturación vertical: T9 empieza filtración, en T16 iguala a control positivo
- Obturación con vástago: T12 empieza filtración, en T21 iguala a control positivo
- Control positivo: Filtra siempre
- Control negativo: No filtra



**Tabla 10.** Valores de significancia por grupos de obturación

### 4.3 Discusión

Las técnicas de obturación endodóncica han ido mejorando con el transcurso del tiempo gracias a la fabricación de nuevas tecnologías que permiten mejorar el sellado del conducto radicular.

En este estudio *in vitro* se comparó la microfiltración entre tres técnicas de obturación que actualmente son las más empleadas, en especial la obturación por condensación lateral que es una técnica antigua, sencilla y económica en comparación con las técnicas de condensación vertical y de obturación con GuttaCore que son más actuales que requieren del uso de ciertos equipos y por lo tanto son más costosas, pero que han revelado en varios estudios mejores resultados de sellado para que sean tomados como una alternativa eficaz.

Según Martínez y col. en el 2017 indicaron que existen muchos factores que pueden influir en la microfiltración, tales como la técnica de obturación, propiedades físicas y químicas del cemento sellador, la anatomía radicular, la habilidad del operador, entre

otras. Para este estudio se usó un modelo modificado de cámaras divididas de Torabinejad y col. de 1990 que consistía en colocar el diente obturado en un tubo plástico Falcon dividido en cámaras que evidencien el paso del *E. faecalis* desde la cámara superior hasta la cámara inferior donde se encontraba el reactivo identificador de la bacteria Chromocult de la bacteria. Posteriormente también fue usado por Shipper y col. en el 2004. Castañeda y col. en el 2010 indicaron que existen muchas maneras de estudiar la filtración endodóncica, tales como: penetración de isótopos, colorantes como azul de metileno, tinta china, por medio de la diafanización, productos metabólicos de bacterias, métodos electroquímicos, bombas de vacío, entre otras. Para este estudio se usó el *Enterococcus faecalis*; que es una bacteria clínicamente relevante, pues es predominante en fracasos endodóncicos y es común encontrarla en el conducto radicular junto a otras bacterias anaerobias facultativas (Shipper y col., 2004).

Para el reconocimiento del *Enterococcus faecalis* se usó el caldo de Enterococcus Chromocult debido a su alta especificidad frente a esta bacteria (casi 98%), y por la presencia de azida sódica que inhibe el crecimiento de otros tipos de bacterias, evitando falsos resultados. Además, por su fácil detección cromogénica de amarillo a verde (Miranda y col., 2005).

Se usó un cemento sellador con base en resina epóxica como el Top Seal. Según el estudio de Colán y García del 2008 indicaron que este tipo de cementos presentan menor grado de filtración y que su sellado apical es superior que otros tipos de cementos. De Sousa y col. en el 2010 refirieron que se forman enlaces covalentes entre el colágeno de la dentina y el cemento, produciendo una buena adhesión, siendo un cemento ideal en este estudio.

Castañeda y col. en el 2010 compararon el grado de filtración apical usando azul de metileno entre la técnica de obturación lateral en frío y la técnica vertical, encontrando diferencias estadísticamente significativas y concluyendo que la técnica de obturación vertical produce un mejor sellado apical. Resultados similares se encontró en el estudio de Ponce y col. del 2005 que compararon la filtración apical entre las técnicas de condensación lateral y vertical con System B por medio de la diafanización, donde la condensación lateral en frío filtró en mayor cantidad que la técnica de condensación vertical, posiblemente debido al exceso de cemento que posteriormente se contrae y se diluye dejando espacios que pueden favorecer la filtración, por lo que los estudios de microfiltración deben ser realizados y evaluados idealmente en un lapso de al menos 15 días o más.

Gençoğlu y col. en el 2007 investigaron la filtración apical con 6 diferentes técnicas de obturación radicular utilizando un medidor de fluido computarizado, y el resultado que obtuvo fue muy similar al de este estudio, ya que el análisis estadístico indicó que las técnicas con Thermafil, Soft Core, Quick-Fill y System B mostraron menor filtración en comparación con el Microseal y la técnica de condensación lateral; al igual que no habían diferencias significativas entre las técnicas de vástago y System B, ni tampoco entre la técnica de condensación lateral y el Microseal. Planteándose que la proporción reducida del cemento sellador en comparación con la gutapercha puede mejorar el sellado, debido a que los cementos son materiales solubles que se contraen en mayor o menor grado dependiendo de su tipo, produciendo vías que permiten la filtración. Por lo anterior se puede concluir que las técnicas de vástago al usar muy poco cemento sellador y una mayor cantidad de gutapercha se distribuye de manera homogénea creando una obturación lo más tridimensional posible del sistema de conductos

radiculares.

Similares resultados obtuvieron Tomer y col. en el 2016 observando la penetración del azul de metileno para determinar la microfiltración apical entre las técnicas de obturación: lateral, cono único, Obtura, Calamus y Thermafil con diferentes limas de instrumentación. Donde el Calamus y el Thermafil mostraron una diferencia significativa en comparación a los otros grupos y por lo tanto presentaron menor filtración que las otras técnicas de obturación.

A pesar de que en este estudio no existió diferencia significativa entre la técnica de obturación con vástago y la de condensación vertical de onda continua se puede observar que la técnica de obturación con vástago produjo una microfiltración más lenta comparado con las otras técnicas, posiblemente porque la técnica de condensación lateral es en frío y la obturación vertical y de vástago de gutapercha son en calor, ya que la distribución del calor en la gutapercha como lo indicó Briseño y col. en el 2015 en su estudio mostraron que la gutapercha es un pobre conductor del calor y la distribución de la misma es inconsistente y no depende ni de su conicidad ni del tamaño; siendo así que una temperatura de 65°C o mayor no se pudo medir más allá de 2,1 mm del cono de gutapercha en el “punto de unión” con el portador de calor, por lo tanto al no deformarse plásticamente de manera completa compromete la adaptación apical y la calidad de sellado de la gutapercha. Contrario a lo que pasa con los sistemas de vástago dentro del horno, donde el calor se distribuye uniformemente por todo el vástago y no sólo en la parte de contacto con el portador como pasa en la técnica de condensación vertical.

Cabe recalcar que un aumento mayor de 10°C en la superficie radicular puede provocar daño periodontal y posterior reabsorción y anquilosis de la misma. Las técnicas de obturación que presentan calor tales como la obturación vertical y de vástago no producen daño, ya que la gutapercha usada en el sistema inyectable alcanza una temperatura de 160 a 200°C, pero al ser extruida llega entre los 62-65°C, de igual manera los condensadores eléctricos con portadores de calor llegan alcanzar una temperatura de 200°C pero al entrar en contacto con la gutapercha y el cemento sellador solo consiguen incrementos en la temperatura del ligamento de 7,5°C (Giudice y Torres, 2011). De acuerdo también con resultados de investigaciones sobre el aumento de temperatura en la superficie externa de la raíz durante el uso de obturadores éste llega sólo a un aumento promedio de 3,87 °C, debido a que su gutapercha de tipo  $\alpha$  no requiere mayor cantidad de temperatura para reblandecerse (Dentsply, 2014).

Se demostró en este estudio que el sistema de vástago produjo una menor microfiltración debido al adecuado sellado radicular que produce, pero lamentablemente existió una tendencia de extrusión del material a través del ápice en la mayoría de las muestras, siendo una gran desventaja de este método de obturación, misma observación que tuvo Giudice en su estudio del 2011 al compararlo con los sistemas de condensación lateral y otros sistemas de gutapercha caliente, posiblemente debido a la rápida inserción del vástago en el conducto.

Finalmente, aunque se encuentre un método y materiales de obturación confiables e ideales, es importante garantizar el mismo complementándolo con el sellado coronal por medio de la rehabilitación (Prado y col., 2014).

## CAPÍTULO V

### 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- Se acepta la hipótesis de investigación de que la técnica de obturación con vástago de gutapercha presentó menor tiempo de microfiltración del *E. faecalis* en comparación con los sistemas de obturación lateral en frío y de condensación vertical con onda continua de calor. Pero estadísticamente la técnica de obturación con GuttaCore no fue significativamente superior a la técnica de condensación vertical de onda continua.
- La técnica de obturación lateral en frío fue la primera en presentar microfiltración y rápidamente igualó al grupo control positivo, no encontrándose una diferencia estadísticamente significativa entre ellos.
- Los tiempos promedio de filtración de cada grupo de obturación fueron los siguientes: El grupo de condensación lateral: 5,1 días, el grupo de condensación vertical: 13,2 días y el grupo de obturación de vástago de gutapercha: 16,7 días.
- Los cementos de tipo resinoso siguen siendo muy eficaces por sus propiedades físicas y químicas, su relativo bajo costo y fácil accesibilidad.

## 5.2 Recomendaciones

- Para tener éxito en un tratamiento endodóncico no solo hay que tener en cuenta el material y la técnica de obturación, sino complementarlo con un correcto acceso, instrumentación, irrigación y posterior rehabilitación que garantice el sellado coronal.
- Muchos estudios están de acuerdo en que la técnica de obturación lateral presenta mayor microfiltración bacteriana, por lo que es recomendable dejar de usar esta técnica y empezar a utilizar aquellas más actuales y accesibles.
- Es importante continuar haciendo investigaciones con nuevos materiales de obturación, tanto del material núcleo como de los cementos selladores para seguir evitando la microfiltración bacteriana y el futuro fracaso del tratamiento endodóncico.
- Se recomienda realizar más estudios comparativos realizados con GuttaCore, ya que la mayoría son con otros sistemas de vástagos, y se desconoce si tendrán similares resultados.
- Es necesario realizar un trabajo de investigación con microscopía electrónica de barrido por tercios utilizando las mismas técnicas para observar espacios o Gaps entre el material de obturación y las paredes internas del conducto para complementar los resultados de la actual investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alhashimi, R; Foxton, R; Romeed, S y Deb, S. (2014). An In Vitro Assessment of Gutta-Percha Coating of New Carrier-Based Root Canal Fillings. *The Scientific World Journal*. 1-6. Doi: 10.1155-2014-239754
- Amoros, I. (1995). Evaluation of Chromocult Enterococci Broth (with Agar). *Congress of Spanish Society of Microbiology*. Madrid.
- Briseño, B; Gerhard, T; Schürger, D. y Willershausen, B. (2015). Thermoplastic properties of Endodontic gutta-percha: A thermographic In Vitro Study. *Journal of Endodontics*. 41(1), 79-82.
- Castañeda, A; Hernández, S; Robles, J; Velázquez, J; Benitez, C y Barajas, L. (2010). Estudio comparativo de filtración apical entre las técnicas de obturación lateral y vertical en endodoncia. *Revista Oral*, 11(33), 573-576.
- Colán, P. y García, C. (2008). Microfiltración apical in vitro de tres cementos utilizados en la obturación de conductos radiculares. *Rev. Estoma tol Herediana*, 18(1), 9-15.
- De Sousa, B; Koury, J; García, E; Méndez, C y Antúnez, M. (2010). Interfase TopSeal-dentina en relación con dos técnicas de obturación: Condensación lateral y técnica termoplastificada/ termoreblandecida. Estudio de microscopía electrónica de barrido. *Universitas Odontológica*, 29(62), 39-44.

Dentsply. (2014). Instrucciones de uso. Gutta-Core.

Dummer, PHM. Root canal filling. En: Endodontics in clinical practice. Ed Wrigth, 5ª Ed, 2004.

Gallegos, M.E. (2014). *Estudio comparativo in vitro del grado de penetración tubular en premolares mandibulares unirradiculares en tercio medio radicular entre los cementos selladores Endosequence y Top Seal*. Tesis de especialidad no publicada. Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.

Gençoğlu, N; Oruçngzoglu, H y Helvacioğluc, D. (2007). Apical leakage of different gutta-percha Techniques: Thermafil, Js Quick-Fill, Soft Core, Microseal, System B and Lateral Condensation with a Computerized Fluid Filtration Meter. *European Journal of Dentistry*. Apr; 1(2): 97–103

Giudice, A. Y Torres, J. (2011). Obturación en endodoncia - Nuevos sistemas de obturación: revisión de literatura. *Revista Estomatológica Herediana*. 21(3):166-174.

Goldberg, Fernando. (1982). *Materiales y técnicas de obturación endodóntica*. Buenos Aires, Argentina: Ed. Mundi SAIC y F. Pág.194.

Goldberg, F; Artaza, L.P y De Silvio, A. (2001) Effectiveness of Different Obturation Techniques in the Filling of Simulated Lateral Canals. *Journal of Endodontics*. 27(5), 362-364.

- Grossman, Louis. (11 Ed). (1988). *Endodontic practice*. Philadelphia, USA: Editorial Lea & Febiger. Págs. 242-270.
- Hammad, M; Qualtrough, A y Silikas, N. (2009). Evaluation of Root Canal Obturation: A Three-dimensional In Vitro Study. *Journal of Endodontics*. 35(4), 541-544.
- Hedge, V y Arora, S. (2015). Effect of advanced irrigation protocols on self-expanding Smart-Seal obturation system: A scanning electron microscopic push-out bond strength study. *Contemporary Clinical Dentistry*. 6(1). 26-30.
- Huang, T; Lee, H y Kao, C. (2001). Evaluation of the Genotoxicity of Zinc Oxide Eugenol-Based, Calcium Hydroxide-Based, and Epoxy Resin-Based Root Canal Sealers by Comet Assay. *Journal of Endodontics*. 27(12),744-748.
- Kishen, A; Chen, N; Tan, L y Asunder, A. (2004). Chairside Sensor for Rapid Monitoring of *Enterococcus faecalis* Activity. *Journal of Endodontics*. 30(12), 872-875.
- Martínez, P; Gómez, M; Feliú, K; Alcántar, R y Fuentealba, P. (2017). Estudio comparativo de microfiltración apical entre tres técnicas de obturación radicular: Calamus, Guttacore y GuttaFusion. *Resumen del Congreso de la Sociedad Endodoncia Concepción*. Págs. 8-9.
- Miranda, J; Franco, C; Vásquez, B; Frente, C; Barros-Velázquez, J y Cepeda, A. (2005). Evaluation of Chromocult enterococci agar for the isolation and selective

enumeration of *Enterococcus* spp in broiler. *Letters in Applied Microbiology*. 41; 153-156.

Monardes H; Abarca y Castro P. (2014). Microfiltración Apical de Dos Cementos Selladores. Un Estudio in vitro. *International Journal of Odontostomatology*. 8(3); 393-398.

Nash, P. y Krenz, M (1991). Culture media. 1226-1288.

Ørstavik, D. (2005). Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endodontic Topics*. 12, 25-38.

Perry, C; Kulild, J.C y Walker, M.P. (2013). Comparison of Warm Vertical Compaction Protocols to Obturate Artificially Created Defects in the Apical One-third. *Journal of Endodontics*. 39(9), 1176-1178.

Ponce, A; Izquierdo, J.C. Sandoval, F. y De Los Reyes, J.C. (2005). Estudio comparativo de filtración apical entre la técnica de compactación lateral en frío y técnica de obturación con System B. *Revista Odontológica Mexicana*. 9(2), 65-72.

Prado, M; Simao, R.A y Gomes, B.P. (2014) A microleakage study of gutta-percha/AH Plus and Resilon/Real self-etch systems after different irrigation protocols. *Journal of Applied Oral Science*. 22(3), 174-179.

Rôcas, I.N; Siqueira, J.F y Santos, K.R.N. (2004). Association of *Enterococcus faecalis* with different form of periradicular diseases. *Journal of Endodontics*. 30(5), 315-320.

- Rodríguez, I. (2009). *Actividad Antimicrobiana de distintos materiales utilizados en la terapia de los conductos radiculares*. Tesis doctoral no publicada. Universidad Autónoma de Nuevo León, Granada, España.
- Sánchez, Patricia. (2011). *Estudio comparativo in vitro de microfiltración coronopical de Enterococcus faecalis entre diferentes técnicas y materiales de obturación en dientes unirradiculares*. Tesis de especialidad no publicada. Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador.
- Schäfer, E. y Olthoff, G. (2002). Effect of three different sealers on the sealing ability of both Thermafil obturators and cold laterally compacted gutta-percha. *Journal of Endodontics*.28(9), 638-642.
- Schäfer, E; Kester, M. y Bürklein, S. (2013). Percentage of Gutta-percha-filled areas in canals instrumented with nickel-titanium systems and obturated with matching single cones. *Journal of Endodontics*. 39(7), 924-928.
- Schäfer, E; Schrenker, Cy Bürklein S. (2016). Percentage of Gutta-percha Filled Areas in Canals Obturated with Cross-linked Gutta-percha Core-carrier Systems, Single-Cone and Lateral Compaction Technique. *Journal of Endodontics*. 42(2); 294-298.
- Shipper, G; Ørstavik, D; Batista, F y Trope, M. (2004). An Evaluation of Microbial Leakage in Roots Filled with a Thermoplastic Synthetic Polymer-Based Root Canal Filling Material (Epsilon). *Journal of Endodontics*.30(5), 342-347.

Tomer, A; Banerjee, S; Bhardwaj, G; Malik, N; Muni, S y Rana, S. (2016). Comparative Evaluation of Apical Microleakage of Various Obturation Techniques using Single Cone Gutta-percha, Lateral Condensation, Obtura, Calamus and Thermafil by Dye Penetration Method. *International Journal of Oral Care and Research*. 4(1); 4-7.

Torabinejad, M; Ung, Borasmy y Kettering, J. (1990). In Vitro Bacterial Penetration of Coronally Unsealed Endodontically Treated Teeth. *Journal of Endodontics*. 16(12); 566-569.

VDW. (2014). Instrucciones de uso BeeFill 2in1. Estados Unidos

VDW. (2015). The Reciproc Technique – Steps to Success. Munich, Alemania.

Von Fraunhofer, J; Fagundes, D.K; Mc Donald, N.J y Dumsha, T.C. (2000). The effect of root canal preparation on microleakage within endodontically treated teeth. *International Endodontic Journal*. 33(4), 355-360

Whitten, R. y Leviton, M. (2015). The effect of canal preparation on fill length in straight root canals obturate with GuttaCore. *Journal of Endodontics*. 41(2), 155-158.

Zoletti, G.O; Siqueira, J.F. y Santos, K.R.N. (2006). Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without perirradicular lesion by culture dependent and - independent approaches. *Journal of Endodontics*. 32(8),722-726.