



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

Comparación de la filtración bacteriana del *Enterococcus faecalis* en el conducto radicular después de ser obturados por la técnica de Condensación lateral y la técnica de Onda continúa (System B®).

TESIS

Que para obtener el título de

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A

PAMELA BALTAZAR RIOS

Director de Tesis: Esp. Abel Gómez Moreno

Asesor: Dra. Margarita Canales Martínez

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla. Edo. De México
Agosto de 2016.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado con expresión de gratitud a mis padres Enrique y Margarita, a mis hermanos Erick y Cesar, a mi novio Agustin y a mis amigos, por creer en mí, por apoyarme incondicionalmente, por luchar conmigo para seguir adelante y por levantar mis ánimos en los momentos difíciles. Gracias a todos ellos hoy estoy culminando una importante etapa de mi vida.

Los quiero y admiro mucho.

Pamela Baltazar Rios.

AGRADECIMIENTOS

Debo mi más sincero agradecimiento al Esp. Abel Gómez Moreno por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis.

Quiero agradecer también de manera especial y sincera a la Dra. Margarita Canales Martínez por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis. Debo destacar, por encima de todo, su disponibilidad, paciencia y todo el conocimiento que compartió para poder realizar este trabajo. De igual manera quedo agradecida por todos los recursos, medios e instalaciones que nos brindó. No cabe duda que su participación ha enriquecido el trabajo realizado.

Agradezco al Esp. Juan Ángel Martínez Loza por su ayuda y disposición del equipo para la realización de la metodología.

A la Mtra. María Eugenia Vargas González por sus acertadas recomendaciones, sus enseñanzas y el tiempo brindado.

Al C.D Carlos Enrique Albornoz Mota por su disposición y amabilidad.

Al C.D Ramón Franco Muñoz por sus enseñanzas, por sus consejos, por apoyarme con el material y el equipo necesario, por brindarme su ayuda.

ÍNDICE TEMÁTICO

1. Resumen	6
2.Introducción	7
3.Marco Teórico	9
3.1 Tratamiento de conductos	12
3.1.1 Acceso	13
3.1.2 Preparación biomecánica e irrigación:	13
3.1.3 Obturación.....	14
3.1.3.1 Materiales.....	15
3.1.3.2 Técnicas.....	17
3.1.3.2.1 Condensación Lateral.....	17
3.1.3.2.2 System B®.....	18
3.2 Microbiota del diente con obturación radicular	20
3.2.1 <i>Enterococcus</i>	21
3.2.1.1 <i>Enterococcus faecalis</i>	22
4. Justificación	29
5. Problema	29
6. Hipotesis	29
7. Objetivos.....	30
8. Diseño Experimental.....	30
9. Metodología	33
9.1 Preparación de Dientes	33
9.2 Obturación	34
9.3 Inóculo	36
10. Resultados	38
11. Análisis de Resultados	39

12.Discusión	40
13.Conclusiones	46
14.Perspectivas	47
15.Bibliografía.....	47

1.RESUMEN

Objetivo: El objetivo de esta investigación fue comparar la filtración bacteriana del conducto radicular después de ser obturados por medio de dos diferentes técnicas de Obturación: Condensación lateral y Condensación vertical de onda continua (System B®).

Materiales y métodos: 20 dientes unirradiculares se dividieron de forma aleatoria para formar 4 grupos. El grupo 1 se obturó con la técnica de condensación lateral, el grupo 2 se obturó con la técnica de onda continua System B®, el grupo 3 se utilizó como control positivo y el grupo 4 como control negativo. Todos los dientes fueron sumergidos en un caldo de cultivo con *Enterococcus faecalis* durante 24 horas; después se desobturaron y se obtuvieron muestras de cada uno de ellos y se cultivaron en tubos con caldo Müller-Hinton y posteriormente en cajas de agar y se encubaron durante 24 horas.

Resultados: En el grupo 1 (Condensación Lateral) en un 100% de las muestras hubo filtración, en el grupo 2 (System B®) en un 20% de las muestras hubo filtración, en el grupo 3 (Control Positivo) en un 100% de las muestras hubo filtración, en el grupo 4 (Control Negativo) en un 20% de las muestras hubo filtración.

Conclusiones: En este trabajo se concluye que la técnica de obturación de onda continua, System B®, tiene menor filtración bacteriana del *Enterococcus faecalis* que la técnica de condensación lateral.

Esta investigación fue avalada sin recomendaciones por la Comisión de Ética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, con el número de folio 1063.

2.INTRODUCCIÓN

La obturación es el relleno tridimensional de los conductos radiculares y su objetivo es sellar completamente todos los espacios dentro de los mismos, para evitar la filtración y evitar el fracaso del tratamiento.

La obturación completa del espacio pulpar con un material biocompatible e inerte se considera que es una parte importante del tratamiento de conducto. ¹ Es la última etapa operatoria del tratamiento de conductos radiculares, y tiene valor fundamental en el éxito a mediano y largo plazo.²

Idealmente el conducto radicular preparado en tres dimensiones, deberá ser obturado con un relleno que conforme una masa homogénea. La principal razón para la falta de homogeneidad es la poca habilidad o los errores de ejecución en la técnica de obturación seleccionada, así como la conformación inadecuada del conducto. Esta carencia en la porción apical y coronal puede proporcionar vías para la filtración u ocasionar que los líquidos se estanquen favoreciendo el crecimiento bacteriano o la reinfección, produciéndose así el fracaso.³

En comparación de la microbiota de las pulpas sin tratar, se sabe poco acerca de la flora asociada a tratamientos de conductos no exitosos. ⁴ Diversos estudios han revelado que la microbiota de los dientes con fallas en el tratamiento endodóntico, difieren de la microbiota encontrada normalmente en los conductos de dientes no tratados. ^{5, 6, 7,8} La microbiota que se encuentra en los dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico es predominantemente anaerobia facultativa y Gram positiva, siendo el *Enterococcus* el género dominante. ⁹

El *E. faecalis* es una especie del género *Enterococcus*. Siendo este la especie que se aísla con mayor frecuencia.¹⁰ Este microorganismo se ha identificado como la especie más común en los conductos radiculares de dientes que presentan fracaso después del tratamiento endodóntico ^{11,12} y rara vez en muestras primarias de pulpa necrótica. ¹³

Por este motivo, la compactación del material de relleno dentro del conducto radicular busca eliminar filtraciones provenientes de la cavidad bucal o de los tejidos periradiculares; además, persigue sellar dentro del sistema de conductos, agentes irritantes que no puedan eliminarse por completo durante el procedimiento de limpieza y conformación del conducto. ³

Las técnicas para realizar la obturación del sistema de conductos radiculares varían según la dirección de compactación de la gutapercha (lateral o vertical) y la temperatura que debe aplicarse, fría o caliente (plastificada). La compactación en frío de gutapercha o compactación lateral es el método más ampliamente enseñado y la técnica contra la cual se miden por lo general las demás. ² Sin embargo, no existe un único método generalmente aceptado para la compactación de gutapercha en el conducto. ¹

El objetivo de esta investigación fue comparar la filtración bacteriana del conducto radicular después de ser obturados por medio de dos diferentes técnicas de Obturación: Condensación lateral y Condensación vertical de onda continua (System B®).

3.MARCO TEÓRICO

La disección de un diente muestra una cavidad central, la cavidad pulpar, la cual asemeja el contorno del diente. La cavidad pulpar se describe usualmente en dos partes: la cámara pulpar, que es la porción dentro de la corona, y el conducto radicular, que es la porción que yace dentro de los confines de la raíz. ¹⁴

La cámara pulpar es siempre una cavidad única, y varía de forma de acuerdo al contorno de la corona. ¹⁷

Los conductos radiculares se continúan con la cámara pulpar y normalmente tienen su diámetro mayor al nivel de la cámara pulpar. Debido a que la raíz disminuye gradualmente hacia el ápice, los conductos tienen también una forma que va estrechándose, la cual termina en una abertura estrecha al final de la raíz llamada orificio apical. ¹⁷

La pulpa dental es el tejido conectivo que ocupa la parte central del diente, que lo hace un ambiente único ya que se encuentra encerrada en una cámara rígida de dentina mineralizada. ¹⁵ Produce, sustenta y es una parte integrante de la dentina que la rodea. ¹⁶

Los conductos radiculares de los dientes son normalmente estériles y la presencia de microorganismos depende de su capacidad de invasión. Mientras la pulpa esté vital y tenga defensas antiinfecciosas funcionales, el ingreso de bacterias por lo general es contrarrestado, en especial en los casos que no hay exposición directa de la pulpa a la cavidad oral. Por otro lado, cuando la caries profunda alcanza la pulpa, la exposición bacteriana masiva ocasiona que la barrera contra la inflamación se retire, dando acceso a las bacterias de la caries para que invadan y colonicen el espacio pulpar. ¹³

“La primera observación de los microorganismos en los conductos radiculares fue hecha por Antony van Leeuwenhoek, cuyo microscopio hecho en casa le permitió hacer el primer dibujo en 1683 de la placa dental. Esto fue 200 años antes de que

los microorganismos del conducto radicular estuvieran bajo investigación biológica”¹³

El deterioro de la pulpa dental por cualquier causa resulta por la pérdida de los mecanismos de defensa que pueden oponerse a la entrada de los microorganismos de la cavidad oral al sistema radicular de los dientes. En la exposición directa, por ejemplo, por caries o fractura, los microorganismos invaden con facilidad el espacio pulpar. En dientes aparentemente intactos los microorganismos también pueden encontrar la forma de acceder a los conductos radiculares donde se perdieron funciones vitales de la pulpa: la atracción es el tejido necrótico, que sirve como nutriente principal para el crecimiento y multiplicación microbiano.¹³

“Como en el caso de la placa dental, la adherencia y coadherencia son las determinantes ecológicas clave para la sobrevivencia y persistencia de las bacterias bucales en el ambiente del conducto radicular. La baja tensión de oxígeno y el nivel de nutrientes disponibles del huésped son otros factores ecológicos importantes que determinan el éxito o fracaso de los microorganismos que entran al conducto radicular para sobrevivir y crecer”¹³

Los microorganismos en las muestras de conductos radiculares, de dientes deciduos y permanentes, son casi las mismas bacterias que se encuentran en la placa dentobacteriana, las bolsas periodontales y las lesiones cariosas.^{17, 18} La mayor parte de aislamientos en los cultivos iniciales son bacterias anaerobias obligadas.¹³ Todos los géneros y especies, identificados actualmente en las muestras de conductos radiculares, contienen bacterias bucales anaerobias facultativas y obligadas.^{19, 20, 21}

Los géneros más comúnmente aislados de los conductos radiculares se resumen en el cuadro 1.

	Anaerobios facultativos	Anaerobios obligados
Cocos Gram positivos	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>
Bastoncillos Gram positivos	<i>Actinomyces</i> <i>Lactobacillus</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Eubacterium</i>
Cocos Gram negativos	<i>Neisseria</i>	<i>Veillonella</i>
Bastoncillos Gram negativos	<i>Capnocytophaga</i> <i>Elkenella</i>	<i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Selenomonas</i> <i>Campylobacter</i>
Hongos	<i>Candida</i>	<i>Spirochetes</i>

Cuadro 1. La microbiología del conducto radicular ¹³

“Otras bacterias aisladas comprenden especies de *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*. No está claro si estas bacterias están presentes de manera inicial, para volverse predominantes durante el tratamiento, o entrar a los conductos después, por fracasos en la técnica aséptica y en las obturaciones temporales”. ¹³

Los microorganismos que entran en el tejido necrótico de los conductos radiculares encuentran condiciones ideales para el crecimiento. El tejido necrótico, líquido

tisular y exudados inflamatorios del tejido apical aportan los requerimientos básicos para el carbono, nitrógeno y energía. Así entonces cuando se consideró la naturaleza anaerobia obligada de la microbiota del conducto radicular, fueron capaces de mostrar una conexión de la periodontitis apical con la presencia de bacterias en los conductos radiculares. ¹³

Los microorganismos bucales son patógenos oportunistas y pueden causar enfermedad si colonizan un sitio donde los mecanismos de defensa del huésped son incapaces de eliminarlos. Al parecer cualquier tipo de microflora que logre colonizar el conducto radicular produce enfermedad más o menos severa. ¹³

La suma de los diversos factores de virulencia producidos por las asociaciones de microorganismos presentes, determinará el grado de patogenicidad de la microflora endodóncica. ¹³

La microflora endodóncica también produce metabolitos citotóxicos, los cuales pueden dañar los tejidos y causan inflamación: amonio, aminos, indol, sulfuro de hidrógeno, metilmercaptano, butirato, propionato, succinato y otros. ^{20, 22} Otro grupo de sustancias citotóxicas son las endotoxinas del lipopolisacárido de las bacterias Gram negativas. Actúan como compuestos antígenos y tóxicos, los cuales causan inflamación e inducen a la resorción ósea. ¹³

3.1 Tratamiento de conductos

Corresponde a toda terapia que es practicada en el complejo dentino-pulpar de un diente. El tratamiento de conductos consiste en la extirpación parcial o la extirpación total de la pulpa dental.

Los objetivos fundamentales del tratamiento en los pacientes que sufren trastornos bucales o lesiones traumáticas consisten en alcanzar el mayor bienestar y la mayor longevidad y en conseguir los mejores resultados funcionales y estéticos posibles. ¹⁹ El papel principal del tratamiento de conductos ha sido curar el dolor dental causado por lesiones inflamatorias de la pulpa (pulpitis) y tejido periapical (periodontitis apical). ¹³

El tratamiento de conductos consta de los siguientes pasos:

3.1.1 Acceso: las aberturas de acceso dependen de la anatomía y la morfología de cada uno de los grupos de dientes. En general, el diseño de la preparación de acceso depende de la morfología de la cámara pulpar. La anatomía interna se proyecta en la superficie externa. ¹⁹

Los principales objetivos de las aberturas de acceso son: 1) la localización de todos los conductos; 2) el acceso en línea recta y sin impedimentos de los instrumentos hasta el tercio apical o la primera curva (si existe) de los conductos; 3) la supresión del techo de la cámara y de todo el tejido pulpar coronal, y 4) la conservación de la estructura dental. ¹⁹

Los principios generales para el acceso son el contorno, la forma de conveniencia, la supresión de caries y la limpieza de la cavidad. ¹⁹

3.1.2 Preparación biomecánica e irrigación: La irrigación y la preparación biomecánica son maniobras separadas y claramente diferenciadas, pero se llevan a cabo simultáneamente. ¹⁹

La preparación es un proceso físico mecánico que por medio de limas y otros instrumentos facilita la limpieza y proporciona espacio para poder introducir los materiales de obturación. El principal objetivo de la preparación consiste en mantener o crear un embudo que se vaya estrechando uniformemente desde el orificio del conducto hasta el ápice. ¹⁹ Para preparar un conducto hay que crear un embudo que se vaya estrechando gradualmente, conservar la morfología original del conducto, intentar que la abertura apical sea lo más pequeña posible, y conseguir paredes perfectamente lisas. ¹⁹

Existen diferentes técnicas para llevar a cabo la preparación biomecánica: técnicas manuales (con limas de acero inoxidable) y técnicas rotatorias (con limas de níquel titanio).

La preparación biomecánica de los conductos radiculares necesita complementarse con irrigación frecuente. ¹³

La Asociación Americana de Endodoncistas define la irrigación como el lavado mediante una corriente de fluido.

Existen diversos propósitos importantes de la irrigación:

- Para eliminar los restos y partículas de dentina y para conservar mojados los conductos, de manera que los instrumentos se deslicen con suavidad.
- Para ejercer efectos antibacterianos.
- Para aumentar la eficacia del proceso de preparación disolviendo los remanentes de tejido necrótico, en especial en áreas en que la preparación manual no puede alcanzar, incluyendo fisuras, istmos y conductos accesorios.

Existen diferentes soluciones irrigadoras como clorhexidina, hipoclorito de sodio, yoduro de potasio, peróxido de hidrogeno, entre otras.

La solución más usada para la irrigación es el hipoclorito de sodio (NaClO), el cual unifica tres cualidades importantes, esenciales para el tratamiento de conductos radiculares:

- Disuelve el material orgánico.
- Es un desinfectante potente.
- En bajas concentraciones, irrita los tejidos en un grado mínimo.¹³

3.1.3Obturación: El principal objetivo de la obturación consiste en crear un sello completo en todo el conducto radicular, desde la abertura coronal hasta el extremo apical, que evite la infiltración de fluidos tisulares y bucales, y la recontaminación del conducto radicular.²³

Por su parte, Kuttler expone los objetivos de la obturación con los siguientes postulados:

1. Llenar completamente el conducto.
2. Llegar exactamente a la unión cementodentinaria (CDC).
3. Lograr un cierre hermético en la unión cementodentinaria.

4. Contener un material que estimule los cementoblastos a obliterar biológicamente la porción cementaria con neocemento. ²⁴

3.1.3.1 Materiales de obturación

Los materiales de obturación más utilizados suelen ser sólidos o semisólidos. Representan la mayor parte del material que llena el espacio del conducto y puede combinarse o no con un sellador. ¹⁹

Materiales sólidos	Materiales semisólidos
<ul style="list-style-type: none">• Gutapercha	<ul style="list-style-type: none">• Pastas
<ul style="list-style-type: none">• Puntas de plata	<ul style="list-style-type: none">• Cementos

Cuadro 2. Materiales de obturación

Los materiales sólidos presentan algunas ventajas importantes sobre los semisólidos. Una de ellas radica en la posibilidad de controlar la longitud, así como su razonable capacidad para adaptarse a irregularidades y crear un sello adecuado. ¹⁹

Gutapercha

La gutapercha es el material más usado y aceptado. Parece ser el menos tóxico, menos irritante para los tejidos y menos alergénico de todos los materiales de obturación disponibles. ²⁵

El principal ingrediente de los conos de gutapercha es el óxido de zinc ($\pm 75\%$). La gutapercha representa aproximadamente el 20% y confiere a los conos algunas de sus propiedades exclusivas, como la plasticidad. Los ingredientes son aglomerantes, opacificadores y colorantes. ¹⁹

Existen dos formas básicas de conos de gutapercha: la estandarizada y la convencional (o no estandarizada). ¹⁹ Como los conos estandarizados tienen diámetro y conicidad parecida a la de los instrumentos para conductos, normalmente se usan como conos primarios. Los conos convencionales (o no estandarizados), de forma más cónica, son útiles como secundarios o auxiliares. ²⁸

Ventajas:

- Puede ser compactada y se adapta muy bien a las irregularidades y perfiles del conducto.
- Fácil de manejar y manipular ya que se puede ablandar y plastificar por medio de calor o de solventes comunes.
- Posee estabilidad dimensional, si no es alterada por solventes no se contrae. ²⁸
- Es tolerada por los tejidos (toxicidad baja y no es alergénico) y es inerte. ¹⁹
- No colorea la estructura dentaria.
- Es radiopaca.
- Puede ser retirada con facilidad del conducto si fuere necesario. ²⁸
- No sostiene crecimiento bacteriano. ¹⁹

Desventajas:

- Carece de rigidez
- Carecen de adherencia (a las paredes del conducto)
- Se contrae al enfriarse o al ser mezclada con diferentes solventes. ²⁸

Selladores

Los selladores se utilizan para llenar los vacíos y ligeras discrepancias de ajuste entre la gutapercha y la pared del conducto radicular. ²⁸ El sellador tiene la misma importancia que el material de obturación, ya que cumple con la misma función de formar una barrera impermeable. ¹⁹

SELLADORES
<ul style="list-style-type: none">• A base de óxido de cinc-eugenol• Plásticos• Hidróxido Cálcico• Ionómero de vidrio

Cuadro 3. Selladores

3.1.3.2 Técnicas de obturación

Las técnicas para realizar la obturación del sistema de conductos radiculares varían según la dirección de compactación de la gutapercha (lateral o vertical) y la temperatura que debe aplicarse, fría o caliente (plastificada).²

Sin embargo, no existe un único método generalmente aceptado para la compactación de gutapercha en el conducto. Para este propósito existen 4 técnicas básicas: (1) la compactación en frío de gutapercha; (2) la compactación de gutapercha que se ha ablandado por el calor en el conducto y luego se compacta en frío; (3) la compactación de gutapercha que fue termoplastificada e inyectada en el sistema y a continuación, compactada fría; y (4) la compactación de gutapercha que se ha colocado en el conducto y ablandado a través de medios mecánicos.²⁶

De éstos, la compactación en frío de gutapercha o compactación lateral es el método más ampliamente enseñado y la técnica contra la cual se miden por lo general los demás.²⁷

3.1.3.2.1 Condensación lateral

La técnica de la condensación lateral de gutapercha es la técnica más conocida y utilizada para obturar los conductos radiculares.

Después de la preparación del conducto, se selecciona el cono principal; se confirma su posición en la longitud de trabajo mediante una radiografía.²⁸ Una vez ajustado el cono de gutapercha principal después de su remoción se debe eliminar el barro dentinario utilizando solución de EDTA o ácido cítrico. Una vez seleccionado el cono principal y el espaciador con el conducto radicular sin lodo dentinario, se coloca el cemento endodóntico.²

Se seca el conducto radicular y se prepara el cemento obturador. El siguiente paso es colocar los conos accesorios que deben ser posicionados lo más próximos al ápice radicular. El espacio creado con la retirada del espaciador debe rellenarse inmediatamente con un cono accesorio de diámetro análogo al del espaciador. Este procedimiento se repite hasta que el espaciador no encuentre espacio para penetrar más allá del tercio cervical.³¹

3.1.3.2 Condensación vertical de onda continua

En los años noventa, Buchanan introdujo el System B® (Sybron Endo, Orange, CA, EEUU) para realizar la condensación vertical de manera más simple. La técnica presenta una serie de diferencias con relación a la técnica clásica de condensación vertical. Cuando se utiliza el System B®, el mismo instrumento es transportador de calor y condensador de gutapercha. A diferencia de la técnica tradicional, en la técnica de onda continua, se realiza toda la condensación vertical en una única etapa. ²

El System B® consta de cinco condensadores de diferentes conicidad, de 4%, 6%, 8%, 10%, 12% y uno con diámetro apical de 0,5 mm. El primer paso de la técnica corresponde a la selección del condensador que será utilizado. Este será el condensador de mayor conicidad para que llegue hasta 5-7 mm antes de la longitud real de trabajo. De acuerdo con diversos autores se obtienen mejores resultados cuando el condensador llega hasta 3-5 mm antes de la longitud real de trabajo. ^{29, 30, 31, 32} Después de secar el conducto radicular se introduce el cono de gutapercha, recubierto con cemento, hasta la longitud real de trabajo. Se programa el System B® para la temperatura de 200°C y se calienta el condensador para cortar la gutapercha que sobresale del conducto.

Posteriormente, con un único movimiento se calienta y condensa la gutapercha en dirección apical con el condensador calentado a 200°C.

Cuando el condensador llega a 3 mm del punto hasta donde debe penetrar, se deja de aplicar calor y se ejerce presión apical hasta que el condensador llegue a aproximadamente un milímetro del punto de penetración máximo predeterminado y se mantiene la presión en dirección apical durante diez segundos. El condensador debe quedar a 1mm de distancia de donde esté sujeto, de lo contrario no condensaría la gutapercha y podría provocar una fractura vertical al ejercer fuerza sobre las paredes del conducto radicular. Para retirar el condensador después de condensar la gutapercha, hay que calentarlo durante un segundo y se retira en dirección coronal. ²

La obturación completa del espacio pulpar con un material biocompatible e inerte se considera que es una parte importante del tratamiento de conducto. Aunque, hay un gran número de materiales de relleno y técnicas de obturación, la combinación de gutapercha y sellador es el más ampliamente utilizado en práctica clínica.¹

Se considera que las bacterias y sus subproductos constituyen la etiología primaria de necrosis de la pulpa y periodontitis apical.^{33, 34, 35} Se requerirá una completa erradicación de patógenos endodónticos del sistema de conductos radiculares para el éxito a largo plazo de la terapia de conducto radicular. Sin embargo, las técnicas de instrumentación endodóntica y de irrigación actuales no son suficientes para lograr este objetivo, principalmente por la compleja morfología anatómica interna inherente del sistema de conductos radiculares.³⁶

La tasa de éxito de la terapia de conducto radicular en condiciones asépticas tiene rangos de 70% -95%.³⁷

El factor principal asociado con los fracasos en el tratamiento endodóntico es la persistencia de la infección microbiana en el sistema de los conductos radiculares.³⁸ Los microorganismos implicados pueden haber sobrevivido a los efectos de la aplicación de los procedimientos biomecánicos que se realizan durante la ejecución de dicho tratamiento³⁹ o, pueden haber invadido los conductos como consecuencia de las filtraciones que se suscitan en la corona de los dientes con tratamientos de conductos obturados.^{40, 41}

El objetivo de la obturación del sistema de conductos radiculares es evitar la penetración de bacterias y sus productos en los tejidos perirradiculares y sellar dentro del conducto radicular cualquier irritante que no se pueden extirpar totalmente. Esto fue confirmado posteriormente in vivo cuando Madison y Wilcox⁴² demostraron la penetración a lo largo de toda la longitud de los conductos radiculares obturados expuestos al ambiente bucal. Trope et al.⁴³ describió la penetración de endotoxina bacteriana a través del conducto radicular obturado en tan sólo 21 días.

Diversos investigadores han planteado la hipótesis de que las bacterias restantes, podrían ser eliminadas por los materiales de obturación o selladores de conductos radiculares con propiedades antibacterianas.^{44, 45, 46} Además, Peters et al.⁴⁷ y otros grupos especularon que los restantes bacterianos podrían ser sepultados después de que fueran obturados los conductos.⁴⁸

Sin embargo, el material de relleno del conducto más utilizado, la gutapercha, carece de la capacidad de obturar el espacio del conducto radicular por completo, y esto podría dar lugar a la filtración del fluido del tejido periapical en el espacio del conducto radicular, permitiendo así el rebrote de bacterias residuales.^{49, 50}

El sellador juega un papel importante en la prevención de filtraciones. Una amplia variedad de selladores radiculares está disponible y éstos incluyen cemento basado en resina orgánica, hidróxido de calcio, o ionómero de vidrio.³⁰

Se ha sugerido que la filtración se produce entre el relleno del conducto y la pared del conducto radicular.⁵¹

3.2 Microbiota del diente con obturación radicular

En comparación de la microbiota de las pulpas sin tratar, se sabe poco acerca de la flora asociada a tratamientos de conductos no exitosos. Parece razonable pensar que la flora es similar en los conductos en donde se han quedado porciones grandes sin instrumentar y los que poseen una pulpa necrótica.⁴ En consecuencia, en estos casos los procedimientos recomendados para un tratamiento primario, también deben aplicarse en el retratamiento. Sin embargo, cuando los conductos han sido instrumentados en su mayor parte, se ha encontrado una gran diferencia en la composición de la microflora recuperada.^{4,24} En lugar de una microbiota polimicrobiana, a menudo sólo se detectan una o dos cepas en los casos no exitosos.¹³

Diversos estudios han revelado que la microbiota de los dientes con fracasos en el tratamiento endodóntico, difieren de la microbiota encontrada normalmente en los conductos de dientes no tratados.^{5,6,7,8} La microbiota que se encuentra en los

dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico es predominantemente anaerobia facultativa y Gram positiva, siendo el *Enterococcus* el género dominante.⁹

3.2.1 Enterococcus

El Género *Enterococcus* engloba un conjunto de especies morfológicamente semejantes a los *Streptococos*. Los *Enterococos* son cocos Gram positivos que puede ocurrir individualmente, en parejas o en cadenas cortas. Ellos son anaerobios facultativos, que poseen la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno.^{52, 53} Causan infecciones muy diversas y poseen un creciente interés en el caso de los procesos oportunistas. Su hábitat natural es el intestino, se han podido aislar a veces como microbiota normal en la mucosa bucal y dorso de la lengua. También se han descrito aislamientos de infecciones pulpo-periapicales y de bolsas periodontales.⁵⁴

Viven en grandes cantidades [10^5 - 10^8 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de heces]. Ellos catabolizan una variedad de fuentes de energía incluyendo hidratos de carbono, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina, y muchos α ceto ácidos.⁵⁵

Sobreviven a ambientes muy agresivos, incluyendo pH extremo alcalino (9.6) y concentraciones de sal.⁵⁵ Resisten a las sales biliares, detergentes, metales pesados, azida, y la desecación.⁵⁵ Pueden crecer en el intervalo de 10 a 45 ° C y sobrevivir a una temperatura de 60 ° C durante 30 min.⁵⁸ Hay actualmente 23 especies de *Enterococcus* y estos se dividen en cinco grupos basados en su interacción con manitol, sorbosa, y arginina.

Estas cinco especies forman ácido en caldo de manitol e hidrolizan arginina; sin embargo, fracasan para formar ácido en caldo de sorbosa.^{55,56}

La atención se ha vuelto hacia el *Enterococcus* desde 1970 cuando fueron reconocidos como los principales patógenos nosocomiales que causan bacteriemia, endocarditis, meningitis bacteriana, infecciones del tracto urinario, y varias otras infecciones.⁵⁷ Las fuentes bacterianas de estas infecciones han sido

reportadas como originarias de las manos de los trabajadores de la salud, de los instrumentos clínicos o de paciente a paciente. ⁵⁸

La identificación de cepas de *Enterococcus* se puede realizar por métodos convencionales o, mediante el empleo de sistemas de identificación rápida utilizando las galerías para *Streptococcus Rapad Strep* (Biomerieux), obteniendo resultados similares en lo que a frecuencia de detección de especies de *Enterococcus* se refiere, por lo que ambos métodos son ampliamente recomendados para identificar a estos microorganismos. ⁵⁹

En los últimos años, los métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se han introducido en este campo, y la sensibilidad diagnóstica de la detección se ha incrementado en gran medida. La mayoría de los métodos de amplificación de PCR de detección de *Enterococos*, el gen bacteriano 16S o 23S ribosomal RNA (ADNr), el gen tuf, o el gen DLL ^{60, 61} sondas, todo el ADN genómico y ensayo de hibridación ADN-ADN de tablero de ajedrez se aplican también en bacterias de detección. ⁶²

Sus cepas, en particular, son las que causan la endocarditis, deben ser examinados para definir patrones de resistencia antimicrobiana. Treinta y cinco *Enterococos* resistentes a la vancomicina han demostrado susceptibilidad a linezolid (antibiótico, derivado de oxazolidinona), lo que sugiere que puede ser el tratamiento de elección para las infecciones por *Enterococcus* resistentes a múltiples fármacos. ⁶⁵

3.2.1.1 *Enterococcus faecalis*

El *E. faecalis* es una especie del género *Enterococcus*. Pertenece al mismo grupo que *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii*, y *E. gallinarum*. Siendo esta la especie que se aísla con mayor frecuencia¹⁰

Este microorganismo se ha identificado como la especie más común en los conductos radiculares de dientes que presentan fracaso después del tratamiento

endodóntico, ^{11,12} y rara vez en muestras primarias de pulpa necrótica. ¹³ Es un habitante normal de la cavidad oral.

El *E. faecalis* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado, con metabolismo fermentativo. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros y es habitante normal del tracto gastrointestinal humano. Esta bacteria ha atraído recientemente la atención de diversos investigadores porque ha sido identificada como una causa frecuente de infecciones periapicales persistentes ^{5,6}. Son extremadamente versátiles, y pueden sobrevivir bajo duras condiciones. Es capaz de penetrar profundamente en los túbulos dentinarios y es difícil de eliminar después del tratamiento biomecánico. ⁶³

El *E. faecalis* se considera un patógeno de endodoncia persistente, lo que hace que su control y eliminación sea un desafío para el éxito del tratamiento endodóntico. ⁶⁶

La temperatura óptima de crecimiento *in vitro* de este microorganismo es de 35°C, no obstante, se ha observado crecimiento entre 10°C y 45°C. Todas las cepas pueden crecer en medios que contengan esculina, la cual hidrolizan en presencia de sales biliares al 40% (medio agar bilis-esculina). Casi todas las cepas son homofermentativas, siendo el ácido láctico el producto final principal de la fermentación de la glucosa, no producen gas y no contienen enzimas citocrómicas. ^{64, 65} Posee una pared celular con antígenos del grupo D, el cual es un ácido lipoteicoico que se encuentra asociado con la membrana citoplasmática de la bacteria y que contiene residuos de glicerol. Además, posee gran cantidad de mureina y ácido teicoico. ⁶⁸

Una característica notable la constituye su capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias, en particular zonas con altas concentraciones de sales (6,5% de Cloruro de Sodio), temperaturas extremas (15-60°C) y puede resistir además a la acción de colorantes como Azul de Metileno al 0,1%. Esta capacidad de resistencia por parte del *E. faecalis* en microambientes tóxicos, está relacionada con su capacidad de

supervivencia en los conductos radiculares de dientes que han sido sometidos a tratamiento endodóntico y en los cuales los nutrientes son limitados, añadiéndose a esta situación el hecho de que algunos agentes antimicrobianos, pudieran influir en que esta especie permanezca en los conductos de los dientes afectados. ⁶⁶

Normalmente se puede identificar mediante pruebas adicionales con arabinosa, telurito, y piruvato, demostrando ser arabinosa negativo y salvo algunas variantes atípicas, es el único miembro del grupo capaz de utilizar piruvato y de tolerar telurito. ⁶⁷

Las técnicas moleculares tienen la capacidad de identificar rápidamente y con precisión las especies de *Enterococcus*. Las técnicas que implican la hibridación ADN-ADN, la secuenciación de los genes 16S rRNA, proteínas de células enteras (PMC) análisis y cromatografía de gas-líquido de los ácidos grasos se han utilizado para los propósitos taxonómicos. La mayoría de estos métodos son de ácido nucleico basada en la participación de los ensayos de amplificación de PCR que son seguidos por análisis electroforético de los productos de PCR, el sondeo, secuenciación, o ambos. ⁷⁰

La Electroforesis y análisis de campo pulsado en gel de ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD) (PFGE) son técnicas que se han utilizado para determinar las variaciones en las secuencias de ADN y han sido empleados en la determinación de diversos subtipos de *E. faecalis*. ^{68, 69} De hecho, la Colección de Bacteriología de la ATCC (American Type Culture Collection) enumera actualmente 69 aislados de *E. faecalis* que son comercialmente disponible. ⁷⁰ Estas cepas tienen cada uno un número ATCC diferente y designación. Los rangos de nivel de bioseguridad de 1 a 2 y de las condiciones de crecimiento difieren entre los subtipos. Las fuentes de estas cepas son la leche agria (ATCC número 376 TM), involucrados en la intoxicación alimentaria con carne (número ATCC 7080 TM), y el conducto de la raíz de un diente despulpado (ATCC número 4083 TM). ⁷³

El *E. faecalis* se asocia con diferentes formas de enfermedad perirradicular incluyendo infecciones endodónticas primarias e infecciones persistentes. ⁵⁶ En la categoría de las infecciones endodónticas primarias, *E. faecalis* se asocia con lesiones perirradiculares crónicas asintomáticas significativamente más a menudo que con periodontitis perirradiculares agudas o abscesos perirradiculares agudos. La frecuencia de que se encuentre en las lesiones perirradiculares persistentes ha demostrado ser mucho más alto. De hecho, en los casos de tratamiento de conductos radiculares que fallaron se encuentra nueve veces más que en las infecciones endodónticas primarias. ⁵⁶

En algunos casos, se ha encontrado como el único organismo (cultivo puro) presente en la raíz de dientes con lesiones periapicales. ^{8,12} La mayoría de estos estudios se han llevado a cabo utilizando técnicas de cultivo; sin embargo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método más predecible para la detección de *E. faecalis*. ^{71, 72} Este método ha demostrado ser más rápido, más sensible y más preciso que los métodos de cultivo. ⁷⁵ Esta técnica ha permitido detectar bacterias que eran difíciles, y en algunos casos imposible, de observar. ⁷⁵

Cuando se ha comparado la detección de *E. faecalis* mediante cultivo (24-70%), se ha encontrado en porcentajes consistentemente más altos cuando se utiliza un método de detección de PCR (67-77%). ⁵⁶ Un método basado en la espectroscopia óptica también se ha estudiado como un medio para detectar su actividad. ⁷³ Es posible que este sistema de detección podría ser utilizado para monitorear rápidamente la presencia o ausencia de *E. faecalis* en el sistema de conductos radiculares. ⁷⁶

El *E. faecalis* posee ciertos factores de virulencia, incluyendo enzimas líticas, citolisina, feromonas de agregación, y ácido lipoteicoico. ⁵⁶ Se ha demostrado que para adherirse a las células huésped, expresa proteínas que le permiten competir con otras células bacterianas, y alterar las respuestas del huésped. ^{11,56} Es capaz de suprimir la acción de los linfocitos, lo que podría contribuir a la insuficiencia del tratamiento de conductos. ⁷⁴

El *E. faecalis* no se limita a su posesión de diversos factores de virulencia. También es capaz de compartir estos rasgos de virulencia entre las especies, lo que contribuye a su supervivencia y la capacidad de causar enfermedad.⁶⁰ Debido a esto, es menos dependiente de factores de virulencia, más bien se basa más en su capacidad de sobrevivir y persistir como un patógeno en los conductos radiculares de los dientes.⁵⁶

El *E. faecalis* supera los retos de la supervivencia en el sistema de conductos radiculares de varias maneras. Se ha demostrado que presentan polimorfismos genéticos generalizados.⁷⁵ Posee proteasa serina, gelatinasa, y la proteína de unión a colágeno, que ayudan a que se una a la dentina.⁷⁶ Es lo suficientemente pequeño para invadir con soltura y vivir dentro de los túbulos dentinarios.¹¹

Tiene la capacidad para soportar periodos prolongados de inanición hasta que un aporte nutricional adecuado vuelve a estar disponible.⁷⁷ Una vez disponibles, las células hambrientas son capaces de recuperarse mediante la utilización de suero como fuente nutricional.⁸⁰ Suero, que se origina en el hueso alveolar y el ligamento periodontal, también lo ayuda a que se una a colágeno de tipo I.¹¹

El hidróxido de calcio, un medicamento intrarradicular de uso común, con actividad antimicrobiana y su capacidad para mantener el pH del medio (conducto radicular obturado) en valores cercanos a 12,⁷⁸ ha demostrado ser ineficaz para eliminar al *E. faecalis* por sí mismo, especialmente cuando no se mantiene un pH alto.^{81, 79} Se han propuesto las siguientes razones para explicar por qué el *E. faecalis* es capaz de sobrevivir al tratamiento intraconducto con hidróxido de calcio: (a) El *E. faecalis* mantiene pasivamente la homeostasis del pH. Esto ocurre como resultado de los iones que penetran en la membrana celular, así como la capacidad amortiguadora del citoplasma. (b) Tiene una bomba de protones que proporciona un medio adicional de mantenimiento de homeostasis del pH. Esto se logra mediante "bombeo" de protones en la célula para bajar el pH interno. (c) A un pH de 11,5 o mayor, es incapaz de sobrevivir.⁸⁰ Sin embargo, como resultado de la capacidad de amortiguación de la dentina, es muy poco probable que un pH de 11,5 se

pueda mantener en los túbulos dentinarios con técnicas de utilización de hidróxido de calcio actuales. ⁸²

También se han realizado otras investigaciones dirigidas a aclarar el papel que juegan los factores de virulencia de *E. faecalis*, en la colonización por parte de esta bacteria en un medio tan pobre en nutrientes, como el conducto radicular medicado. La adhesión a la superficie de la dentina constituye un paso esencial que determina el potencial patógeno de este microorganismo, en el conducto radicular medicado ^{79,81}. Puesto que la dentina contiene colágeno y otras proteínas, se sugiere que las proteasas sintetizadas por *E. faecalis*, así como la proteína de unión al colágeno pudieran participar o por lo menos influir en la adhesión bacteriana, y por lo tanto permitir que la bacteria colonice el conducto radicular. ⁷⁹

En otras investigaciones han reportado la presencia de biopelículas (biofilms) de *E. faecalis* en el sistema de conductos de dientes monorradiculares extraídos y, que habían sido obturados con cemento a base de Hidróxido de Calcio.⁸² La formación de la biopelícula constituye una evidencia contundente de que *E. faecalis* puede colonizar los conductos radiculares medicados. ^{83, 84, 85} Cuando esta especie crece en las biopelículas, puede ser hasta mil veces más resistente a la acción de los antimicrobianos que cuando se halla como bacteria planctónica (suspendida en un medio líquido y no adherida a ninguna superficie). ⁸⁶ Si la formación de biopelículas que contienen *E. faecalis* ocurre *in vivo*, ello pudiera considerarse como un mecanismo que permite a este microorganismo resistir al tratamiento antimicrobiano. ⁸⁵

Es por esto que a partir de este marco teórico se desarrolló la siguiente justificación.

4.JUSTIFICACIÓN

Aunque los tratamientos de conducto radicular tienen una alta tasa de éxito de más del 90% cuando se realiza correctamente,⁸⁷ los fracasos pueden ocurrir y a menudo se asocian con tratamientos mal realizados.⁸⁸ La razón más común para el fracaso de tratamiento radicular es la infección microbiana. Existen deficiencias técnicas que pueden predisponer a tal infección, un ejemplo de esto es una obturación deficiente. Si la obturación del conducto radicular no proporciona un sellado hermético, la filtración de los fluidos tisulares en teoría podría proporcionar un sustrato para el crecimiento bacteriano.⁸⁹

Como se sabe, el objetivo de la obturación es lograr un sellado completo desde el ápice a la cavidad oral. Esto impide la entrada de bacterias en la corona o la persistencia de las colonias bacterianas infiltradas en nutrientes del fluido del tejido en la región apical. Las técnicas modernas de obturación con gutapercha, tienen como objetivo ocupar los espacios del complejo del sistema del conducto radicular.

Hoy en día se conocen bastantes técnicas de obturación, la mayoría de ellas con grandes resultados; esta investigación fue para evaluar la filtración bacteriana del *Enterococcus faecalis* entre dos técnicas de obturación.

En un estudio realizado por Sundqvist *et al*⁸, el *Enterococcus faecalis* se aisló en 38% de los conductos que fracasó su tratamiento. Mayores proporciones de *E. faecalis* en dientes con obturación deficiente han sido reportados apoyando la sugerencia de que el *E. faecalis* entra en el conducto durante el tratamiento.¹⁶ Esto nos deja en claro que el *E. faecalis* es el microorganismo más relacionado con tratamientos fracasados.

Con esta investigación se pretende ayudar a los clínicos a elegir una técnica de obturación de conductos radiculares que proporcione una menor filtración bacteriana del *Enterococcus faecalis*, para que con esto se logre una disminución en el índice de tratamientos fracasados causados por filtración bacteriana.

5.PROBLEMA

¿Cuál de las dos técnicas de obturación (condensación lateral y onda continua) evitará de una manera más adecuada la filtración de *Enterococcus faecalis* en el conducto radicular?

6.HIPÓTESIS

Hi: La técnica de Obturación de Condensación vertical de onda continua (Sistema B®) tendrá menos filtración de *Enterococcus faecalis* que la técnica de Obturación de Condensación lateral.

7.OBJETIVOS

General: Comparar la filtración bacteriana del conducto radicular después de ser obturados por medio de dos diferentes técnicas de Obturación: Condensación lateral y Condensación vertical de onda continua (System B®).

Específicos:

Corroborar la esterilidad del conducto posterior a la inmersión del diente sellado con esmalte de uñas en un caldo de cultivo con *Enterococcus faecalis*.

Corroborar que el diente permanece hermético al ser sellado con esmalte de uñas e inmerso en un caldo de cultivo con *Enterococcus faecalis*.

Corroborar la filtración bacteriana por medio del foramen apical del diente sin un sellado, que es inmerso en un caldo de cultivo con *Enterococcus faecalis*.

8.DISEÑO EXPERIMENTAL

Diseño de Investigación: Experimental, comparativo, ciego.

Población: 20 Dientes unirradiculares humanos extraídos.

Criterios de inclusión: Dientes unirradiculares, incisivos centrales, incisivos laterales, caninos y premolares inferiores, sin tratamiento de conducto previo.

Criterios de exclusión: Dientes multirradiculares, curvas radicales mayores de 25°, raíces cariadas y/o perforadas.

Muestra: 20 dientes humanos extraídos con los criterios antes mencionados. Se formaron 4 grupos de 5 dientes cada uno. Grupo 1: Condensación lateral, Grupo 2: Condensación vertical de onda continua (System B®), Grupo 3: Control positivo, estos dientes no fueron obturados, sólo en la parte coronal se colocó algodón y se selló con ionómero de vidrio (ABC Dental®). A este grupo no se les aplicó esmalte de uñas para verificar la penetración bacteriana por las diferentes estructuras anatómicas del diente., Grupo 4: Control negativo, estos dientes no fueron obturados; en la parte coronal se colocó algodón y se selló con ionómero de vidrio (ABC Dental®). Se les aplicó 2 capas de esmalte de uñas en su totalidad para verificar que el conducto se puede mantener hermético.

Variables

- Dependiente: Formación de colonias bacterianas por la filtración en cada técnica de obturación.
- Independiente: Técnicas de obturación (condensación lateral, condensación vertical de onda continua System B®).

Definición de variables:

Filtración bacteriana: Entrada de microorganismos a un conducto radicular desde de que éste ha sido obturado.

Obturación: Método para rellenar los conductos radiculares.

Unidad Formadora de Colonia: célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas y produce una colonia en un breve lapso de tiempo. Una UFC también puede corresponder a más de una célula cuando éstas forman parte de grupos unidos fuertemente (*Streptococos* o *Diplococos*, por ejemplo) ya que cada grupo formará una sola colonia.

Resumen de Metodología



9.METODOLOGÍA

Se seleccionaron 20 dientes humanos extraídos con los criterios antes mencionados.

9.1Preparación de Dientes

Las muestras fueron acondicionadas eliminando el tártaro dental y realizándoles raspado y alisado radicular. Posteriormente fueron almacenados en NaClO al 5% durante 24 horas para su desinfección superficial. Se marcaron con un número en la parte coronal para su identificación.

Se realizó el acceso con fresa SSW® FG-6, una vez penetrando a la cámara pulpar, con la fresa (Endo zekrya SSW® E0152-021), se continuo un desgaste compensatorio eliminando cualquier obstrucción coronal hacia la entrada al conducto. Ya terminada esta cavidad se tomó la conductrometría de cada uno de los dientes; se procedió a la preparación biomecánica del conducto radicular usando la técnica Crown-down con limas rotatorias de níquel-titanio del Sistema ProTaper Universal Dentsply® siguiendo las indicaciones del fabricante hasta la lima F3; se utilizó como irrigante Hipoclorito de sodio al 5% entre cada lima, así como la confirmación de la longitud de trabajo del conducto con una lima ISO 15K (Dentsply®).

Ya preparados biomecánicamente, los dientes fueron colocados individualmente, en bolsas para esterilizar, en autoclave a 110° por 17 min. El material e instrumental fueron desinfectados y esterilizados.

Los grupos se asignaron de forma aleatoria: 5 dientes a la técnica de condensación lateral, 5 dientes para la técnica de condesación vertical de onda continua (System B®), 5 dientes para el grupo de control positivo y 5 dientes para el control negativo.

9.2 Obturación

Los siguientes procedimientos se llevaron a cabo en la campana de flujo laminar para mantener el lugar de trabajo estéril, evitando la contaminación del área de trabajo.

Grupo 1. Conformado por 5 dientes, los cuales fueron obturados mediante la técnica de condensación lateral.

Una vez finalizada la preparación biomecánica, se irrigó el conducto una última vez con hipoclorito de sodio al 5% y se secó con puntas de papel. Se seleccionó una punta de gutapercha estandarizada del mismo calibre que la última lima que se utilizó en la preparación biomecánica, en este caso la lima F3 corresponde a una punta de gutapercha ISO estandarizada colors 30 taper .04 (Meta Biomed®) dicha punta se desinfectó con etanol al 70%. Se introdujo la punta de gutapercha dentro del conducto hasta la longitud de trabajo marcándola a nivel oclusal para evitar que la punta esté a una longitud errónea. Se mezcló el cemento sellador, en este caso se utilizó óxido de zinc y eugenol sin endurecedor (Viarden®) y con la punta de gutapercha antes elegida se colocó el cemento dentro del conducto con movimientos de vaivén hasta que la punta de gutapercha quedó en la longitud de trabajo deseada, esto se comprobó observando la marca que se hizo a nivel oclusal en la punta de gutapercha. Una vez cementada la punta de gutapercha principal, esta fue compactada de manera lateral contra la pared del conducto, creando espacio lateralmente con la ayuda del espaciador 30 de Maillefer®. Después se retiró el espaciador introduciendo en su lugar una punta de gutapercha accesoria “ff” y “ef” (no estandarizada) con un poco de cemento sellador. El conducto fue obturado de esta manera hasta que no fue posible colocar otra punta accesoria a más de 2 a 3mm dentro del conducto. La compactación final se completó con presión vertical con un condensador. Se eliminó el exceso de gutapercha sobresaliente de la cámara pulpar con un instrumento Glick 1 (Hu-Friedy®). En la parte coronal se colocó algodón y se selló con ionómero de vidrio (ABC Dental®). Posteriormente se les aplicó 2 capas de esmalte de uñas en su totalidad menos en la parte apical. Esto para evitar

filtración por otras estructuras anatómicas como conductos accesorios, túbulos dentinarios expuestos, entre otras.

Grupo 2. Conformado por 5 dientes que fueron obturados por medio de la técnica condensación vertical de onda continua (System B®).

Se seleccionó el espaciador del dispositivo que debe ajustar unos 5mm más corto que la longitud de trabajo. Se colocó un tope de silicona a 5 mm de la longitud de trabajo. Se introdujo el cemento sellador con una lima ISO 15K Dentsply® y, como punta principal, se utilizó la punta de gutapercha azul que corresponde a la F3 del Sistema Protaper Universal®.

Se graduó la unidad a 200°C y a la máxima potencia. Se presionó el muelle y el espaciador se calentó en 2-3 seg. Se cortó con él la parte de la punta que sobresale del conducto. Luego se penetró en el interior del conducto hasta que se alcanzó el tope fijado. Mediante otra presión sobre el muelle, la temperatura descendió. Se mantuvo el espaciador en posición durante 10 seg para asegurar una buena condensación. Se activó de nuevo la temperatura del espaciador durante 1 seg, para que se separara de la gutapercha y se pudiera retirar el compactador.

En la parte coronal se colocó algodón y se selló con ionómero de vidrio (ABC Dental®). Posteriormente se les aplicó 2 capas de esmalte para uñas en su totalidad menos en la parte apical.

Para verificar que se realizó una obturación correcta en el grupo 1 y 2, los dientes se volvieron a colocar en sus respectivas bolsas estériles selladas y se tomaron radiografías en el radiovisiógrafo (Planmeca Prosensor®).

Grupo 3. Conformado por 5 dientes que fueron utilizados como control positivo, estos dientes no fueron obturados, sólo en la parte coronal se colocó algodón y se selló con ionómero de vidrio (ABC Dental®). A este grupo no se les aplicó esmalte de uñas para verificar la penetración bacteriana por las diferentes estructuras anatómicas del diente.

Grupo 4. Conformado por 5 dientes que fueron utilizados como control negativo. No fueron obturados; en la parte coronal se colocó algodón y se selló con ionómero de vidrio (ABC Dental®). Se les aplicó 2 capas de esmalte de uñas en su totalidad para verificar que el conducto se puede mantener hermético.

Una vez concluido la primera parte del experimento, lo siguiente fue preparar el caldo de cultivo y el agar necesario para la realización del trabajo.

9.3Inóculo

Con un asa de siembra se tocaron las superficies convexas de 4 o 5 colonias. Se sumergió el asa en 10mL de caldo Müller-Hinton (bacterias), se enjuagó bien en el líquido para descargar todo el material y luego se retiró el asa, el tubo de cultivo se incubó a 37°C durante aproximadamente 18 a 24 horas.

Una vez que se cuenta con los cultivos con 1.5×10^8 UFC/mL, se realizó una dilución para tener en 10 mL de caldo 1 a 1.5×10^5 UFC/mL. Estos cultivos se utilizaron para sumergir los dientes, todo el procedimiento se realizó en campo estéril (campana de flujo laminar).

Una vez sumergidos, los dientes se desinfectaron por fuera con etanol al 70%, menos en el ápice evitando que entrara y eliminara las bacterias que posiblemente se filtraron en el conducto. Se desobturaron con los desobturadores Mani® y se utilizó una lima ISO 30 (Maillefer®) y lima Hedström (Maillefer®) para obtener partículas de dentina de las paredes del conducto radicular en toda su longitud y también parte de gutapercha. La muestra obtenida se colocó en tubos con 10 mL de caldo Müeller-Hinton y se puso en una incubadora a 36°C, sin mayor tensión de CO₂. Es preciso evitar presión de CO₂ debido a que se puede formar ácido carbónico en la superficie humedecida del agar, provocando un descenso de pH. El desarrollo de algunos microorganismos es debido al pH ácido, lo cual tiende a estrechar falsamente la zona de inhibición.

Para observar el número de microorganismos se tomó una muestra (del tubo donde se colocó el detritus dentinario que se tomó de la prueba y pasadas las 24

horas) de 50 μ L y se colocó (en una caja de tres divisiones con agar) en la división marcada como **D seguido del número de diente, por ejemplo D1**; se realizó una dilución 1:100 del cultivo, para lo cual se tomaron otros 50 μ L que se colocaron en un frasco vial con 5 mL de cloruro de sodio al 0.9% estéril, de esta dilución se tomaron 50 μ L y se colocaron en la división marcada como **1**; finalmente se realizó una dilución 1: 10000, para lo cual de la dilución 1:100 se tomaron otros 50 μ L que se colocaron en un frasco vial con 5 mL de cloruro de sodio al 0.9% estéril, de esta dilución se toman 50 μ L y se colocaron en la división marcada como **2**. Las cajas se incubaron por 24 horas a 36°C.

Interpretación de resultados.

Se le asignó el 100% de sobrevivencia al grupo testigo, el cual se tomó como referencia para evaluar y comparar la filtración bacteriana del *Enterococcus faecalis* en la técnica de condensación lateral y condensación vertical de onda continúa System B®.

10.RESULTADOS

En el grupo 1 (Condensación Lateral) en un 100% de las muestras hubo filtración, en el grupo 2 (System B®) en un 20% de las muestras hubo filtración, en el grupo 3 (Control Positivo) en un 100% de las muestras hubo filtración, en el grupo 4 (Control Negativo) en un 20% de las muestras hubo filtración.

Condensación Lateral		System B®		Control Positivo		Control Negativo	
N° de Dte.	Filtración	N° de Dte.	Filtración	N° de Dte.	Filtración	N° de Dte.	Filtración
1	Si	5	Si	2	Si	3	Si
9	Si	7	No	4	Si	8	No
14	Si	15	No	10	Si	13	No
16	Si	22	No	12	Si	18	No
25	Si	23	No	24	Si	19	No

Filtración	Condensación lateral	Sistema B	Control positivo	Control negativo
Si	100%	20%	100%	20%
No	0%	80%	0%	80%

11. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados se analizaron por medio de la prueba estadística de X^2 ya que se obtuvieron datos cualitativos para observar diferencias significativas. El análisis nos determinó los siguientes datos:

COMPARACIÓN DE GRUPOS	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA
Condensación Lateral –System B®	Existe
Condensación Lateral – Control Positivo	No Existe
Condensación Lateral – Control Negativo	Existe
System B® – Control Positivo	Existe
System B® – Control Negativo	No existe
Control Positivo – Control Negativo	Existe

Se rechaza la Hipótesis nula, y se aprueba la hipótesis de trabajo, concluyendo que la técnica de Obturación de Condensación vertical de onda continua (System B®) tuvo menos filtración de *Enterococcus faecalis* que la técnica de Obturación de Condensación lateral.

12.DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue comparar la filtración bacteriana del *Enterococcus faecalis* en el conducto después de ser obturados con la técnica de condensación lateral y la técnica de Onda Continua Systema B®. Durante el experimento los resultados fueron evidentes; todos los dientes obturados con la técnica de condensación lateral tuvieron filtración bacteriana y los dientes obturados con System B® estuvieron libres de bacterias.

Andrea Ponce et.al, (2005); realizaron un estudio comparativo entre la técnica de condensación lateral y la técnica de condensación con System B®, al igual que en nuestra investigación, pero evaluándolas de una manera distinta: A todos los grupos se los colocó por cinco días en tinta china, de esta manera se determinó el grado de microfiltración. En este trabajo se concluye, que la técnica de compactación vertical con System B® produce un mejor sellado apical comparativamente con la técnica de condensación lateral en frío. Ellos argumentan que se utilizó tinta china ya que el tamaño de la partícula de la marca que se utilizó (Pelikan®) es igual o menor que 3 µm; este colorante puede penetrar en filtros para bacterias de 0.22 µm, por esta razón si la tinta china penetra en los espacios dejados en la obturación, las bacterias pueden penetrar por éstos. Al comparar el trabajo de Ponce con los resultados obtenidos se corroboró que las bacterias penetraron en los conductos después de una obturación, coincidiendo en que la obturación con la técnica de condensación con System B® crea un mejor sellado apical. ⁹⁰

Ali Çağın Yücel et al (2006), realizaron un estudio in vitro en 120 dientes; el *Enteorococcu faecalis* se utilizó para la determinación de la penetración de bacterias. Se aplicó el método de microfiltración bacteriana de dos cámaras descrito por Torabinejad et al ⁹¹, modelo que es comúnmente usado., el cual consiste en ensamblar las cámaras de cultivo utilizando dos tubos de polipropileno de 1,5 mL previamente cortados y adaptados a cada diente, la unión entre el tubo y la superficie dentaria se selló con cianocrilato y el aparato entero se esterilizó en

óxido de etileno por 13 horas. Se preparó un volumen de 1000 mL de Infusión Cerebro Corazón (BHI) con 0.0125 g de indicador rojo fenol y se incubó a 37°C por 24 horas para verificar su esterilidad. Cada cavidad de acceso superior fue inoculada asépticamente con 10 µL de cultivo de *E. faecalis* (10⁶ UFC/mL) recién preparado, mientras que las cavidades de acceso inferior fueron inoculadas con 10 µL de BHI con rojo fenol (Imagen 1). Todos los ejemplares fueron incubados en un ambiente húmedo a 37 °C por 60 días y examinados durante las primeras 24 horas, verificándose el cambio de color desde rojo hasta amarillo (Imagen 2). La evaluación se llevó a cabo durante 60 días. Reportaron que la condensación con System B® reduce la velocidad de penetración de bacterias en el conducto radicular después de la obturación en comparación con las otras técnicas probadas (Condensación lateral, Thermafil®, como único Pro Taper, condensación lateral con gutapercha ProTaper). Se pudo concluir, bajo las condiciones de este estudio que la condensación con System B® puede prevenir la penetración de bacterias del conducto radicular a los 30 días. Sin embargo, se observó que después de 60 días no hay diferencia en la penetración de bacterias para las diferentes técnicas. En comparación con el presente estudio, aquí buscaron y observaron una penetración bacteriana completa del conducto a través de los días y en nuestra metodología se buscó una penetración apical en un período de 24 horas.³⁰

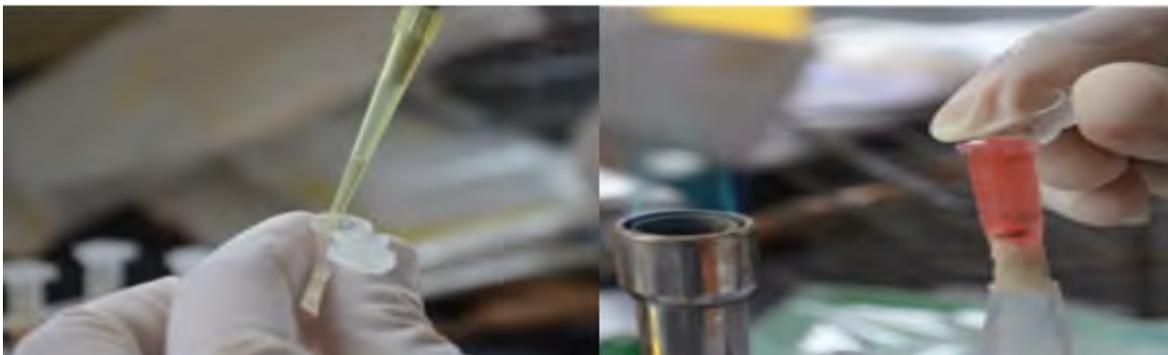


Imagen 1. Preparación de las cámaras del Modelo de microfiltración bacteriana de dos cámaras.

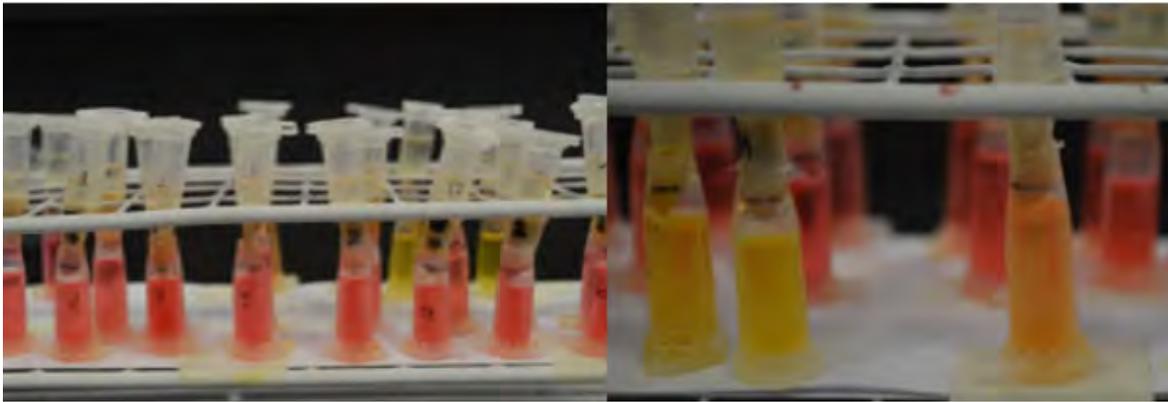


Imagen 2. Dientes incubados verificando el cambio de color desde rojo hasta amarillo.

En otros estudios comparativos de filtración apical entre la técnica de condensación lateral con otras técnicas hay resultados variables. En algunos estudios concluyen que es más efectiva la técnica de condensación lateral que otras técnicas; en otros estudios reportan que no hay diferencia significativa entre técnicas y en algunos otros afirman que la técnica de condensación lateral es inferior a las demás técnicas. Estos resultados pueden diferir debido a las metodologías que utilicen en cada investigación. En 2012, Hengameh Bakhtiar, et al ⁹³, compararon la microfiltración apical de la técnica de Condensación Lateral, Thermafil® y Obturación en un solo paso mediante la inoculación de *E. faecalis* durante 60 días. El modelo que se utilizó en este estudio fue el modelo de microfiltración bacteriana de dos cámaras que se describe por Torabinejad et al. ⁹¹ El *Enterococcus faecalis* fue elegido porque es parte de la flora normal en humanos y se encuentra con frecuencia en las infecciones mixtas. ⁹² Sus resultados mostraron que la técnica de condensación lateral era tan eficaz para evitar la filtración bacteriana, como las otras dos técnicas con las que la estaban comparando (Thermafil® y Obturación de un solo paso). ⁹³ También en 2015, Giuliana Silva-León et al, evaluó la resistencia a la penetración bacteriana in vitro usando dos técnicas de compactación: compactación vertical y compactación lateral en combinación con dos selladores endodónticos, uno a base de polidimetilsiloxano (Roeko Seal) y el otro a base de resina epóxica e hidróxido de calcio (Sealer 26) frente a una cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212,

utilizando el modelo de penetración bacteriana de cámara arriba y cámara abajo que fue descrito por Torabinejad et.al ⁹¹. Mencionan que su estudio, con la metodología utilizada, tiene relevancia en la práctica clínica, ya que con base a los resultados la técnica de condensación lateral y con la que fue comparada en combinación con dos selladores son efectivas para evitar la entrada de microorganismos a través del conducto radicular. ⁹⁴

Deivanayagam Kandaswamy et al en 2009, realizan un análisis volumétrico in vitro usando la Tomografía Computarizada (TC) helicoidal, donde comparan tres diferentes técnicas de obturación: grupo A: lateral en frío; Grupo B: compactación vertical termoplastificada (vertically compacted thermoplasticized) y el grupo C: técnica de obturación en frío de flujo libre (cold free-flow). Había diferencias estadísticamente significativas entre el grupo A (0.183cm³) y el grupo B (0.136cm³); grupo A (0.183cm³) y el grupo C (0.128cm³). Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo B (0.136cm³) y el grupo C (0.128cm³). Concluyen que la técnica de condensación lateral mostró el menor volumen de obturación ya que esta técnica ha demostrado que forma una masa no homogénea de gutapercha que mal replica el espacio del conducto radicular preparado. ⁹⁵ Esta metodología no evalúa la filtración del sellado, evalúa la capacidad del material de obturación de ocupar el espacio creado por la preparación biomecánica.

Pommel et al (2001), utilizando un sistema de filtración de fluido para comparar la microfiltración apical de las raíces, encontraron que la filtración apical en conductos obturados con compactación lateral aumenta después de un mes del tratamiento. ⁹⁶ Esto se debe a que en esta técnica se utiliza mayor cantidad de cemento obturador y éste tiende a contraerse y disolverse con el tiempo. ⁹⁷ Yared et al ⁹⁰, determinaron que con las obturaciones realizadas con System B® existe un menor cambio dimensional a través del tiempo. ⁹⁰

Numerosos estudios coinciden en que hay técnicas de obturación más exitosas que la técnica de condensación lateral en cuanto a la resistencia a la filtración bacteriana; aunque estos estudios se hayan evaluado por diferentes métodos, ya

que una técnica de obturación termoplastificada tendrá una mejor adaptación a las paredes dentinarias del conducto y con esto logrará sellar más espacios anatómicos dentro del conducto como conductos accesorios, o las diferentes morfologías de los conductos.

Con esto no estamos dejando a un lado también la efectividad de la técnica de condensación lateral, ya que esta técnica es la más conocida y utilizada para obturar conductos, es con la que se comparan las demás técnicas. Es la más aceptada debido a sus ventajas como el uso a largo plazo, la previsibilidad, la colocación controlada de material y la relativa facilidad de su uso. También esta técnica ha demostrado un éxito clínico del 90%.⁹³

Seltzer et al. (1967) determinaron que la obturación de las irregularidades anatómicas como conductos laterales y accesorios puede ser importante en el éxito del tratamiento endodóncico.⁹⁰

Weine (1984) reportó, que en retratamientos de conductos radiculares por obturación incompleta de conductos laterales se obtuvo éxito al obturar estos conductos accesorios. A pesar de que un buen sellado apical es indispensable para que un tratamiento de conductos sea exitoso, éste no es suficiente para asegurar éxito en los tratamientos endodóncicos.⁹⁸ En este estudio, los dientes fueron sumergidos en tinta china durante 10 días, después se desmineralizaron, se deshidrataron y se diafanizaron, la penetración del colorante se midió usando un microscopio estereoscópico. Aquí se observa que las obturaciones con System B® sellaban conductos laterales y aberrantes, por esta razón existió un grado de filtración significativamente menor con esta técnica.⁹⁰

Schilder (1967) afirmó que el conducto radicular debe ser rellenado casi en su totalidad con gutapercha; de esta manera se disminuirá la filtración apical. Los conductos radiculares obturados con System B® contienen más de 90% de gutapercha.⁹⁰

En esta investigación se observaron los resultados esperados, utilizando una metodología diferente a las que se citaron aquí, resultando eficaz y viable. En la

técnica de Onda Continúa hubo menor filtración debido a que al ser calentada la gutapercha, esta toma una forma más homogénea, que puede adaptarse mejor a la anatomía del interior de los conductos, adhiriéndose con mayor facilidad a las paredes y penetrando a conductos accesorios; quedando un mínimo espacio entre la pared de los conductos y el material de obturación, evitando así la filtración bacteriana.

En el grupo 1 (Condensación Lateral) observamos que todas las muestras tuvieron filtración del *Enterococcus faecalis*, esto pudo ser debido a lo que mencionábamos anteriormente, debido a que la gutapercha no se reblandece, difícilmente podrá adoptar la forma del conducto y copiar totalmente su anatomía quedando así espacios en los que las bacterias se pueden filtrar.

En el grupo 2 (Condensación por Onda Continua, System B®) observamos que en una muestra de uno de los dientes hubo presencia del *Enterococcus faecalis*, y en las demás muestra no hubo ningún crecimiento de la cepa. La presencia de la bacteria en una de las muestras se debió a que al hacer el raspado con la lima Hedström (Maillefer®) esta atravesó el ápice contaminándose con la parte exterior del diente.

En el grupo 3 (Control Positivo) todas las muestras tuvieron bacterias corroborando la filtración bacteriana por medio del foramen apical del diente sin un sellado, que fue inmerso en un caldo de cultivo con *Enterococcus faecalis*.

En el grupo 4 (Control Negativo) observamos bacterias en una de las muestras, pero se piensa que fue una contaminación externa debido a sus características, ya que en las demás muestras no hubo presencia de bacterias, corroborando que el diente permanece hermético y el conducto se encuentra estéril al ser sellado con esmalte de uñas e inmerso en un caldo de cultivo con *Enterococcus faecalis*.

13.CONCLUSIONES

En este trabajo se concluye que la técnica de obturación de onda continua, System B®, tiene menor filtración bacteriana del *Enterococcus faecalis* que la técnica de condensación lateral.

En la técnica de Condensación Lateral todas las muestras tuvieron filtración de *Enterococcus faecalis*.

14.Perspectivas

Esta investigación abre camino a más estudios, se podría utilizar las mismas técnicas, la misma metodología, pero que el tiempo sea una variable; también podemos estudiar estas mismas técnicas, pero teniendo más variables como diferentes selladores. Así mismo sería interesante y necesario el realizar estudios clínicos para corroborar resultados ya que cuando se ha evaluado la técnica lateral en clínica presenta un alto grado de efectividad (90%).⁹³

Con esta investigación se pretende dar a los profesionales de la salud una opción más para la realización de un tratamiento de conductos de calidad, no dejando atrás las técnicas básicas, pero demostrando que hay otras formas de realizar la obturación, y que hasta estas pueden ser más fáciles y rápidas de trabajar confirmando que son eficaces; evitando una recontaminación del conducto.

15. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Nguyen NT. Obturation of the root canal system. In: Cohen S, Burns RC, editors. Pathways of the pulp. 5th ed. St. Louis: CV Mosby, 1991. p. 199-210.
- ² Leonardo MR, Leonardo RT. Endodoncia: Conceptos biológicos y recursos tecnológicos. Sao Paulo: Editorial Artes Médicas; 2009. p.91, 95.
- ³ Cohen S, Burns RC. Vías de la Pulpa. 7ma Ed. Madrid: Harcourt;1999.
- ⁴ Sundqvist G, Figdor D, Persson S: Microbiologic findings of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; 85: 86-93.
- ⁵ Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J 1998; 31: 1-7.
- ⁶ Peculiene V, Balciuniene I, Eriksen Hm, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. J Endod 2000; 26: 593-5.
- ⁷ Peculiene V, Reynaud Ah, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J 2001; 34: 429-34.
- ⁸ Sundqvist G, Figdor D, Sjögren U. Microbiology analyses of teeth with endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol 1998; 85: 86-93
- ⁹ Pinheiro Et, Gomes Bpfa, Ferraz Ccr, Teixeira Fb, Zaia Aa, Sousa-Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Oral Microbiol Immunol 2003; 18: 100-3.
- ¹⁰ Schleifer KH, Kilpper-B € alz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genu *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. Int J Syst Bacteriol 1984; 34:31 –4
- ¹¹ Love RM. *Enterococcus faecalis* —a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J 2001;34:399-405.
- ¹² Pinheiro ET, Gomes, BPFA, Ferraz CCR, Souza ELR, Teixeira FB. Microorganisms from canals of root-filled teeth with peria pical lesions. Int Endod J 2003;36:1-11.

-
- ¹³ Bergenholtz Gunnar, et al; Endodoncia, Segunda Edición, Manual Moderno, México, 2011, p. 3, 95, 97, 98, 100, 106, 108, 109, 147, 226, 345.
- ¹⁴ Harty, F.J. Endodoncia en la Práctica Clínica; Segunda Edición, Manual Moderno, México, 1984. P. 27-28.
- ¹⁵ Queralt R, Durán-Sindreu F, Ribot J, Roig M. Manual de Endodoncia. Parte 4. Patología pulpo-periapical. Rev Oper Dent Endod 2006; 5:24.
- ¹⁶ Torabinejad, Mahmoud, Walton, Richard E., Endodoncia: Principios y Práctica, 4ª Edición; Elsevier; Barcelona, España, 2010. p. 1, 232, 259, 261, 303 376
- ¹⁷ Marsh P, Martin M: Oral Microbiology, 5th ed.Oxford: Wright, 2009; 74-95, 128-132.
- ¹⁸ Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T: Predominantly obligate anaerobes in necrotic pulps of human deciduous teeth. Microb Ecol Health Dis 1993; 6: 269-275.
- ¹⁹ Baumgartner JC Falkler WA: Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. J Endodont 1991; 17: 380- 383.
- ²⁰ Bergenholtz G: Microorganisms from necrotic pulp of traumatized teeth. Odontol Revy 1974; 25: 347- 358.
- ²¹ Möller AJR: Microbiological Examination of root Canals and Periapical Tissues of Human Teeth. Methodological Studies. Doctoral Thesis. Göteborg: Akademiförlaget, 1966.
- ²² Sundqvist G: Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg 1994; 78: 522-530.
- ²³ Bottino, Marco Antonio: Endodoncia: Nuevas Tendencias 3; Artes Medicas Latinoamérica; São Paulo, 2008.
- ²⁴ Lasala, Ángel. ENDODONCIA. 3a ed. Salvat Editores. Barcelona. 1979. pp. 374.
- ²⁵ Cohen S, Burns RC. Endodoncia: Los caminos de la Pulpa. 5a Ed. Médica Panamericana;1998. P.265
- ²⁶ Gutmann JL, Whitterspoon DE. Obturation of the cleaned and shaped root canal system. In: Cohen S, Burns RC, eds. Pathways of the pulp. 8th ed. St. Louis: Mosby, 2002. p. 293–364
- ²⁷ Ali Çağ in Yücel, and Alper Çiftçi, PhD; Effects of different root canal obturation techniques on bacterial penetration; Samsun, Turkey Feb 3, 2006. JEndod

2006;32:890 – 893.

²⁸ Estrela C. *Ciencia endodóntica*. Sao Paulo: Editorial Artes Médicas; 2005. p.562.

²⁹ Guess GM, Edwards KR, Yang ML, Iqbal MK, Kim S. Analysis of continuous-wave obturation using a single-cone and hybrid technique. *J Endod*. 2003; 29(8):509-12.

³⁰ Lea CS, Apicella MJ, Mines P, Yancich PP, Parker MH. Comparison of the obturation density of cold lateral compaction versus warm vertical compaction using the continuous wave of condensation technique. *J Endod*. 2005; 31(1):37-9

³¹ Smith RS, Weller RN, Loushine RJ, Kimbrough WF. Effect of varying the depth of heat application on the adaptability of gutta-percha during warm vertical compaction. *J Endod*. 2000; 26(11):668-72.

³² Villegas JC, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. Three- step versus single-step use of system B: evaluation of guttapercha root canal fillings and their adaptation to the canal walls. *J Endod*. 2004; 30(10):719-21

³³ Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germfree and conventional laboratory rats. *J South Calif Dent Assoc* 1966;34:449–51.

³⁴ Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 1981;89:475–84.

³⁵ Sundqvist G. *Bacteriological studies of necrotic dental pulps [odontological dissertation no. 7]*. Umea, Sweden: Umea University: 1976.

³⁶ Su-Jung Shin, Sang-Wook Jee, Jin-Seon Song, Il-Young Jung, Jeong-Heon Cha and Euseong Kim; Comparison of Regrowth of *Enterococcus faecalis* in Dentinal Tubules after Sealing with Gutta-Percha or Resilon; *J Endod* 2008;34:445–448)

³⁷ Weiger R, Axmann-Krcmar D, Lost C. Prognosis of conventional root canal treatment reconsidered. *Endod Dent Traumatol* 1998;14:1–9

³⁸ Siqueira JF. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth fail. *Int Endod J* 2001; 34: 1-10.

³⁹ Sjögren U, Fidgor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1997; 30: 297-306.

⁴⁰ Cheung GSP. Endodontic failures-changing the approach. *Int Dent J* 1996; 46:

131-8.

⁴¹ Ray Ha, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J* 1995; 28: 12-8.

⁴² Madison S, Wilcox LR. An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part III. In vivo study. *J Endod* 1988;14:455-8.

⁴³ Trope M, Chow E, Nissan R. In vitro endotoxin penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *Endod Dent Traumatol* 1995;11:90-4.

⁴⁴ Moorer WR, Genet JM. Evidence for antibacterial activity of endodontic gutta-percha cones. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53:503-7.

⁴⁵ Siqueira JF Jr, Favieri A, Gahyva SM, Moraes SR, Lima KC, Lopes HP. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J Endod* 2000;26:274-7.

⁴⁶ Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. *Int Endod J* 2004;37:193-8.

⁴⁷ Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. *Int Endod J* 1995;28:95-9.

⁴⁸ Weiger R, Rosendahl R, Lost C. Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. *Int Endod J* 2000;33:219-26.

⁴⁹ Swanson K, Madison S. An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth: part I—time periods. *J Endod* 1987;13:56-9.

⁵⁰ Khayat A, Lee SJ, Torabinejad M. Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. *J Endod* 1993;19:458-61.

⁵¹ Hovland EJ, Dumsha TJ. Leakage evaluation in vitro of the root canal sealer Sealapex. *Int Endod J* 1985;18:179-82.

⁵² Gilmore MS. *The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. Washington: ASM Press, 2002.

⁵³ Rôças IN, Siqueira JF, Santos KRN. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 2004;30:315-20.

-
- ⁵⁴ Liébana Ureña J. Microbiología Oral. 2 ed. Madrid. Ed. Mc Graw-Hill-Interamericana de España, S.A.U.; 2002.
- ⁵⁵ Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic Enterococci: new developments in the 21st century. Cell Mol Life Sci 2003;60:2622–36.
- ⁵⁶ Teixeira LM, Facklam RR. Enterococcus. In: Murray PR, ed. Manual of clinical microbiology, 8th ed. Washington: ASM Press, 2003:422–33.
- ⁵⁷ Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of Enterococci. Clin Microbiol Rev 1994;7:462–78.
- ⁵⁸ Koch S, Hufnagel M, Theilacker C, Huebner J. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. Vaccine 2004;22:822–30.
- ⁵⁹ Hernández C, Gómez M, Muñoz F, Zamora F, Villarroel M, Medina G. Identificación de cepas de enterococos utilizando el método convencional y el sistema automatizado ATB-Plus. Boletín Soc Venezol Microbiol 1999; 19: 58-60.
- ⁶⁰ Fouad AF, Barry J, Caimano M, et al. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. J Clin Microbiol 2002;40:3223–31.
- ⁶¹ Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J Clin Microbiol 1995;33:1434
- ⁶² Siqueira JF Jr, Rocas IN, Souto R, et al. Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. J Endod 2002;28: 168–72
- ⁶³ Michel A. Hoogenkamp, Wim Crielaard, Bastiaan P. Krom; Uses and limitations of greenfluorescent protein as a viability marker in Enterococcus faecalis: An observational investigation, Journal of Microbiological Methods,115, 2015.
- ⁶⁴ Facklam R, Sahm D, Martins L. *Enterococcus*. En: Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover R editors. Manual of Clinical Microbiology. 7th edition. American Society of Microbiology 1999: 297-305.
- ⁶⁵ Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis*: the root canal survivor and "star"- in post-treatment disease. Endod Tropics 2003; 6: 135-59.
- ⁶⁶ Sjögren U, Fidgor D, Spandberg I, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. Int Endod J 1991; 24: 119-25.
- ⁶⁷ Facklam RR, Carvalho MGS, Teixeira LM. History, taxonomy, biochemical

characteristics, and antibiotic susceptibility testing of Enterococci. In: Gilmore MS, ed. *The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. Washington: ASM Press, 2002:1–54

⁶⁸ Dautle MP, Ulrich RL, Hughes TA. Typing and subtyping of 83 clinical isolates purified from surgically implanted silicone feeding tubes by random amplified polymorphic DNA amplification. *J Clin Microbiol* 2002;40:414–21.

⁶⁹ Mato R, de Lencastre H, Roberts RB, Tomasz A. Multiplicity of genetic backgrounds among vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates recovered from an out-break in a New York City hospital. *Microb Drug Resist* 1996;2:309–17.

⁷⁰ [Http://www.atcc.org/common/catalog/bacteria/bacterialIndex.cfm](http://www.atcc.org/common/catalog/bacteria/bacterialIndex.cfm). Accessed May 25, 2005.

⁷¹ Molander A, Lundquist P, Papapanou PN, Dahlen G, Reit C. A protocol for polymerase chain reaction detection of *Enterococcus faecium* from the root canal. *Int Endod J* 2002;35:1–6.

⁷² Siqueira JF, Rocas IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent* 2003;31:333–9.

⁷³ Kishen A, Chen NN, Tan L, Asundi A. Chairside sensor for rapid monitoring of *Enterococcus faecalis* activity. *J Endod* 2004;30:872–5.

⁷⁴ Lee W, Lim S, Son H, Bae K. Sonicated extract of *Enterococcus faecalis* induces irreversible cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. *J Endod* 2004;30:209–12.

⁷⁵ Sedgley CM, Lennan SL, Clewell DB. Prevalence, phenotype, and genotype of oral Enterococci. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19:95–101.

⁷⁶ Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:121–6.

⁷⁷ Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:234–9.

⁷⁸ Lin Y, Mickel A, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: Part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003;29:565–6.

⁷⁹ Tronstad L, Andreasen J, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root filling with calcium hydroxide. *J Endod* 1981;7:17–21.

-
- ⁸⁰ McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod* 2004;30:218–9.
- ⁸¹ Brändle N, Zehnder M, Weiger R, Waltimo T. Impact of growth conditions on susceptibility of five microbial species to alkaline stress. *J Endod* 2008; 34: 579-82.
- ⁸² Distel J, Hatton J, Gillepsie MJ. *Enterococcus faecalis* colonization and biofilm formation in medicated root canals. *J Endod* 2001; 28: 689-93.
- ⁸³ George S, Kishen A, Song K. The Role of Environmental Changes on Monospecies Biofilm Formation on Root Canal Wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2005; 31: 867-72.
- ⁸⁴ Duggan J, Sedgley C. Biofilm formation of Oral and Endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2007; 33: 815-8.
- ⁸⁵ Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia E. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of NaOCl, MTAD and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod* 2007; 33: 852-5.
- ⁸⁶ Costerson JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms; a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1.318-22.
- ⁸⁷ Kim S, Kratchman S. Modern endodontic surgery concepts and practice: a review. *Journal of Endodontics*, (2006) 32, 601–23.
- ⁸⁸ Mollo A, Botti G, Principio Goldoni N et al. (2011). Efficacy of two Ni-Ti systems and hand files for removing gutta-percha from root canals. *International Endodontic Journal*,; 16, 1–6.
- ⁸⁹ Arroniz Padilla, Salvador, et al, *Endoperiodontología: Conceptos Básicos.*, FES Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México., México, Distrito Federal, 2014.
- ⁹⁰ Ponce Bueno, Andrea; Izquierdo Camacho, Juan Carlos; Sandoval Vernimmen, Fernando; De los Reyes Bueno, Juan Carlos; Estudio comparativo de filtración apical entre la técnica de compactación lateral en frío y técnica de obturación con System B®, *Revista Odontológica Mexicana*, Vol. 9, Núm. 2, Junio 2005 pp 65-72.
- ⁹¹ Torabinejad M, Ung B, Kettering JD. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod* 1990;16:566-69.
- ⁹² Cohen S, Hargreaves KM. *Pathways of the pulp*. St Louis: Mosby 2006;358-91.
- ⁹³ Bakhtiar Hengameh, Heidari Neda, Mehrvarzfar Peiman, Ghazvini Kiarash,

Habibi Mehdi Jafarzadeh Hamid, Dastmalch Nafiseh; In vitro Comparative Study of the Microbial Leakage of One-step, Thermafil and Lateral Condensation Techniques

⁹⁴Silva-León Giuliana, Velásquez-Huamán Zulema de los Ángeles, Maúrtua-Torres Dora Jesús; Evaluación “in vitro” de la resistencia a la penetración bacteriana usando dos técnicas de obturación y dos selladores endodónticos frente a una cepa de *Enterococcus faecalis*.

⁹⁵ Kandaswamy, Deivanayagam, et al. Comparison of laterally condensed, vertically compacted thermoplasticized, cold free-flow GP obturations – A volumetric analysis using spiral CT

⁹⁶ Pommel L, Camps J. In vitro apical leakage of system B compared with other filling techniques. *J Endodon* 2001; 7: 449-451

⁹⁷ Silver GK, Love RM, Purton DG. Comparison of two vertical condensation obturation techniques: touch'n Heat modified and system B. *Int Endod J* 1999; 32: 287-295.

⁹⁸ Davalou S, Guttman L, Nunn MH. Assessment of apical and coronal root canal seals using contemporary endodontic obturation and restorative materials and techniques. *Int Endod J* 1999; 32: 388-396.