



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad en Endodoncia

EVALUACIÓN DE LA MICROFILTRACIÓN BACTERIANA EN DIENTES OBTURADOS SOLAMENTE EN EL TERCIO APICAL. UN ESTUDIO IN VITRO.

Opción de titulación
Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de
Especialidad en Endodoncia

Presenta:
Natalia Landaverde Pérez

Dirigido por:
C.D.E.E. Roberto Gustavo Sánchez Lara y Tajonar


C.D.E.E. Roberto Gustavo Sánchez Lara y Tajonar
Presidente

L.O.E.E. Luciano Tinajero Bueno
Secretario

C.D.E.E. Yolanda López Gómez
Vocal

C.D.E.E. Miriam Mendoza Estrada
Suplente

C.D.E.E. Miguel Ángel Almanza Vega
Suplente


Dra. Ma. Guadalupe Zaldivar Lelo de Larrea
Director de la Facultad


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y Posgrado

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Mayo, 2019.

RESUMEN

La obturación del espacio del conducto a la longitud de trabajo ha sido un componente crítico del tratamiento del conducto radicular para sellar y aislar los tejidos periapicales del biofilm y los irritantes que permanecen después de la conformación y limpieza, para así eliminar la posibilidad de microfiltraciones posteriores. Algunos autores han demostrado que la calidad de obturación del conducto tiene una importante contribución al éxito del tratamiento del conducto radicular primario y secundario. El objetivo de esta investigación experimental *in vitro*, fue evaluar si existe microfiltración bacteriana en dientes obturados solo 4mm en el tercio apical con cemento AH-PLUS a diferentes longitudes. Se realizó mediante la utilización del modelo modificado de doble cámara creado por Torabinejad en 1990, con la colocación del reactivo chromocult que se tiñe en específico con la presencia de la bacteria *E. faecalis*, que fue la utilizada para la investigación. Fueron 3 grupos experimentales: sobreobturados, subobturados y a longitud de trabajo, todos obturados solamente 4 mm a nivel del tercio apical. En cuanto a resultados, las variables cualitativas se expresaron en frecuencia y porcentaje. Para saber la distribución de las variables se hizo la prueba de chi cuadrada, en donde se observó que la comparación entre los 3 grupos experimentales, no tuvieron una diferencia estadísticamente significativa de p, con 0.85, 0.38 y 0.42 respectivamente.

(Palabras clave: obturación, apical, sellado)

SUMMARY

The obturation of the canal space to the working length has been a critical component of root canal treatment for sealing and isolating the periapical tissues from the biofilm and irritants that remain after shaping and cleaning and for eliminating the possibility of subsequent leakage. Some have shown that the quality of the root filling has an important contribution to the success of primary and secondary root canal treatment. The objective of this in vitro experimental research was to evaluate if bacterial microfiltration exists in sealed teeth only 4mm in the apical third with AH-PLUS cement at different lengths. It was carried out using the modified double chamber model created by Torabinejad in 1990, with the placement of the chromocult reagent that is stained specifically with the presence of *Enterococcus faecalis* bacteria, which was used for the research. There were 3 experimental groups: over-sealed, subobtured and at working length, all of them sealed only 4 mm at the apical third level. In terms of results, the qualitative variables were expressed in frequency and percentage. To know the distribution of the variables, the chi-square test was performed, where it was observed that the comparison between the 3 experimental groups did not have a statistically significant difference of p, with 0.85, 0.38 and 0.42 respectively.

(Key words: sealing, apical, sealed).

Dedicado con cariño a mis papás, mi hermano, mi abuelita y familia, por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, por ser mi fortaleza todo este tiempo, siempre contando con su amor y apoyo. Por su fe incondicional en mi.

Mi hermano, por sus animos y admiración.

Mi papá, por apoyarme a su manera.

Mi abuelita, por todo su cariño y amor, teniendome presente en sus oraciones y pensamientos.

Mi mejor amiga Larissa, por su larga amistad a pesar de todo.

Mis amigos de la especialidad, por estar presentes durante esos 2 años pero en especial por estar presentes al momento de escribir estas palabras, cuando más los necesitaba.

Al Dr. Rubén Domínguez Pérez, por haber sido un pilar importante y sin el cual, esta tesis no sería posible.

A mi coordinador y profesores de la especialidad, que compartieron su conocimiento y enseñanzas conmigo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindar el apoyo económico para llevar a cabo esta especialidad.

Muchas gracias

Natalia Landaverde Pérez

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	8
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GENERAL:	17
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:.....	17
3. METODOLOGIA	18
3.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	18
3.2 MÉTODOS.....	20
3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	25
4. RESULTADOS.....	26
5. DISCUSIÓN	29
6. CONCLUSIONES.....	33
7. REFERENCIAS	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Comparación de microfiltración por periodo de tiempo de grupos control.....	26
Tabla 2 Comparación de microfiltración por periodo de tiempo entre grupo 1 y grupo 2 experimentales.....	27
Tabla 3 Comparación de microfiltración por periodo de tiempo entre los grupos 2 y 3 experimentales.....	28
Tabla 4 Comparación de microfiltración por periodo de tiempo entre los grupos 1 y 3 experimentales.....	28

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Revisión de la literatura

El objetivo final del tratamiento endodóntico consiste en prevenir el desarrollo de la periodontitis apical y en crear las condiciones adecuadas para la curación del tejido perirradicular. (Torabinejad y Walton, 2010; Tsesis et al., 2013). La prevalencia de la periodontitis apical varía del 27 al 70% en todo el mundo y aumenta con la edad (Kabak y Abbott, 2005). La terapia endodóntica propiamente como tal, consiste en la extirpación de la pulpa presente en la cavidad dentaria cameral y los conductos radiculares, desinfectar y conformar dichos conductos y luego obturarlos con un material biocompatible, con el fin de mantener al diente en la cavidad oral. El procedimiento endodóntico incluye varias etapas: diagnóstico, apertura cameral y acceso a la cavidad dentaria pulpar de la corona y raíces, determinación de la longitud de trabajo de los conductos radiculares (conductometría), instrumentación biomecánica o quimicomecánica (IBM o IQM), conometría y obturación radicular (Ortega Núñez et al., 1987).

Si tenemos en cuenta la etiología microbiana de la periodontitis apical, es evidente que la razón de ser del tratamiento endodóntico, es principalmente la erradicación de las infecciones que se produzcan, la prevención de la infección o la reinfección microbiológica de los conductos radiculares o los tejidos perirradiculares (Torabinejad y Walton, 2010), a esto se le conoce como microfiltración bacteriana y la microfiltración se define como la "difusión de las bacterias, fluidos orales, iones y moléculas en el diente y la interfaz de material de relleno" O "definido como el paso clínicamente indetectable de bacterias, fluidos, moléculas o iones entre el diente y el material restaurador o de relleno". Muchos estudios enfatizan que los materiales de relleno de los dientes no son bordes fijos, inertes e impenetrables sino micro espacios dinámicos, que contienen tráfico ocupado de bacterias, iones y moléculas. Esta fuga puede ser clínicamente indetectable, pero es un factor importante que influye en el éxito a largo plazo de la terapia endodóntica, ya que provoca muchos efectos biológicos graves que conducen a la recurrencia de la patología y el fracaso

del tratamiento del conducto radicular, provocando en ocasiones, tener que realizar el retratamiento endodóntico (Mulyar et al., 2014).

La influencia de la persistencia bacteriana en los conductos radiculares en los resultados del tratamiento es un tema importante en la endodoncia porque se ha demostrado que las bacterias desempeñan un papel importante en la persistencia o aparición de lesiones de periodontitis apicales después del tratamiento del conducto radicular. De hecho, los estudios han revelado que el resultado del tratamiento endodóntico está significativamente influenciado por la presencia de bacterias en los conductos radiculares en el momento de la obturación (Siqueira y Rôças, 2008).

Es bien sabido que los organismos que colonizan el espacio del canal de la raíz sobreviven en biopelículas bien protegidas (Nair et al 1999; Nair et al, 2005). Este biofilm es extremadamente difícil de eliminar, y ahora, la periodontitis apical se considera una enfermedad inducida por biofilm (Costerton et al, 1999; Carr et al, 2009).

Las infecciones del conducto radicular son causadas por una variedad de bacterias grampositivas principalmente anaeróbicas. Se considera que una presencia intrarradicular persistente de bacterias después del tratamiento quimicomecánico es una posible causa de fracaso endodóntico. Aunque los anaerobios facultativos como *Streptococcus gordonii*, *Fusobacterium nucleatum* y *Actinomyces oris* se han aislado en infecciones endodónticas primarias, la persistencia de *Enterococcus faecalis* o *Candida albicans* se ha asociado con lesiones periapicales persistentes y la necesidad de retratamiento endodóntico (Neuhaus et al., 2016). *E. faecalis* ha sido frecuentemente recuperado de los conductos radiculares de los dientes con periodontitis apical y está implicado como el principal patógeno endodóntico en las infecciones secundarias. La epidemiología de las infecciones enterocócicas es una parte importante del tratamiento de estos organismos multi-resistentes. La literatura ha indicado que la tasa global de éxito del retratamiento no quirúrgico de los dientes con periodontitis apical es del 76,7%. Este mal pronóstico puede estar asociado con dificultades en la eliminación de la

microbiota resistente particular, particularmente *E. faecalis* (Delboni et al., 2017). Debido a que las infecciones endodónticas se caracterizan por poblaciones mixtas de aproximadamente 10 a 20 especies con niveles variables de virulencia, es prácticamente imposible determinar el umbral más allá del cual el número de bacterias es suficiente para inducir enfermedad. La resistencia del huésped es otro factor importante que afecta a la patogénesis de la enfermedad. La misma combinación de especies bacterianas en las mismas cuentas puede dar lugar a diferentes respuestas en diferentes individuos (Siqueira y Rôças, 2008).

La eliminación de la contaminación microbiana del sistema radicular es clave para el tratamiento exitoso del conducto radicular. Con la instrumentación mecánica, el contenido microbiano puede ser grandemente reducido pero no puede ser completamente eliminado. Esto se atribuye al hecho de que las bacterias pueden invadir los túbulos dentinarios, haciéndolos inaccesibles a los instrumentos. Las bacterias que sobreviven en los túbulos dentinarios pueden multiplicarse y, si están presentes en una cantidad significativa, pueden mantener una infección o provocar una reinfección (Alyahya y Alqareer, 2017). Hay suficiente evidencia en la literatura donde se menciona que el fallo endodóntico puede tener lugar debido a la capacidad de algunos microorganismos para sobrevivir después de los protocolos de tratamiento actuales. Además, se ha demostrado que estos microorganismos pueden tener acceso al sistema de conductos radiculares durante o después del tratamiento debido a la microfiltración (Delboni et al., 2017).

El resultado del tratamiento del conducto radicular depende de una multitud de factores de los cuales se considera crítico y de vital importancia, un sellado hermético de las bacterias del conducto radicular por la obturación para prevenir la reinfección del sistema de conductos. En los espacios a lo largo de las paredes del conducto radicular o entre los conos de gutapercha revestidos con sellador, las condiciones nutricionales son normalmente escasas y esto evita que las bacterias puedan proliferar y generar una periodontitis apical y evitar su curación (Ortega Núñez et al., 1987).

Una de las claves para un tratamiento exitoso del conducto radicular es obturar adecuadamente el espacio del conducto radicular preparado y sellar completamente el espacio del conducto, evitando así la persistencia de la infección y / o reinfección de la cavidad pulpar (Lin et al., 1992; Hammad et al., 2009). La obturación del sistema de conductos se ha logrado históricamente con gutapercha y sellador. La obturación del conducto radicular tiene como objetivo proporcionar una obturación completa del conducto en todas las dimensiones para crear un sello hermético a los líquidos evitando la entrada de bacterias y sus toxinas y su flujo hacia los tejidos periapicales. El desarrollo y mantenimiento del sello son esenciales para optimizar el resultado del tratamiento del conducto radicular. El éxito de un sistema de conductos radiculares limpios y bien preparados se verá comprometido si los sistemas de los conductos radiculares no se obturan adecuadamente. Epley y cols., así como Schilder, sugirieron que el material obturador del conducto radicular ideal debe estar bien adaptado a las paredes del conducto y sus irregularidades, y que toda la longitud del conducto se compacte densamente con una masa homogénea de gutapercha. Es importante tomar en cuenta que la mayoría de las obturaciones del conducto radicular no llenan completamente el sistema de conductos. Y los dientes con una obturación inadecuada o conductos radiculares sin obturación, podrían requerir un retratamiento con posterior restauración coronal (Hammad et al., 2009).

Según Maisto, la obturación de conductos radiculares consiste esencialmente en reemplazar el contenido natural o patológico de los conductos por materiales inertes o antisépticos bien tolerados por los tejidos periapicales. Grossman dice que la función de la obturación radicular es sellar el conducto herméticamente y eliminar toda puerta de acceso a los tejidos periapicales. Este objetivo puede alcanzarse la mayoría de veces; sin embargo, no siempre es posible lograr la obliteración completa del conducto, tanto apical como lateralmente. La finalidad de la obturación es reemplazar la pulpa destruida o extirpada por una masa inerte capaz de hacer de cierre para evitar infecciones posteriores a través de la corriente sanguínea o de la corona del diente. Maisto resume los fines de la obturación en: 1. Anular la luz del conducto: Para impedir la migración de gérmenes,

del conducto al periápice, del periápice al conducto, para no permitir la penetración del exudado del periápice al conducto, Para evitar la liberación de toxinas y alérgenos del conducto al periápice. 2. Mantener una acción antiséptica en el conducto (Ortega Núñez et al., 1987).

El material utilizado para las obturaciones de los conductos radiculares es uno de los determinantes críticos para el éxito o fracaso del tratamiento endodóntico (Hammad et al., 2009). Grossman clasificó los materiales de obturación en: plásticos, sólidos, cementos y pastas. La gutapercha es, con mucho, el material sólido utilizado con mayor frecuencia para obturar los conductos radiculares (Ortega Núñez et al., 1987). La obturación y cierre hermético del sistema de conductos radiculares es un objetivo importante en el tratamiento de conductos. Y la microfiltración en el conducto radicular es un tema complejo que puede verse afectado por muchas variables tales como las técnicas de obturación de la raíz y las propiedades físicas y químicas de los selladores utilizados. Varias técnicas han sido desarrolladas para mejorar el sellado de los conductos radiculares preparados. La técnica de obturación más común es la compactación lateral en frío de gutapercha en combinación con un sellador de conducto radicular insoluble. El sellador es muy importante para el sello a largo plazo de la obturación del conducto radicular porque se adhiere gutapercha a la dentina del conducto radicular y rellena las irregularidades y los espacios entre los conos de gutapercha y entre las paredes del conducto de la raíz y sellador (Mokhtari et al., 2015). Además, el uso de materiales de obturación del conducto radicular con actividad antibacteriana colabora para eliminar los microorganismos persistentes. Varios tipos de selladores endodónticos están disponibles comercialmente, tales como a base de resina epoxi AH Plus. AH Plus es un cemento sellador con actividad antimicrobiana frente a *F. nucleatum*, *P. gingivalis* y *E. faecalis* (Rezende et al., 2016). Grossman defendió que el material de relleno del conducto radicular ideal debería ser bacteriostático, y de hecho se ha demostrado que varios selladores endodónticos poseen actividad antimicrobiana (Mokhtari et al., 2015). El sellador del conducto radicular ideal debe ser inerte, dimensionalmente estable y poseer una buena actividad antimicrobiana, baja toxicidad hacia el tejido circundante (Slutzky et al., 2008).

Clínicamente, el fracaso del tratamiento endodóntico se determina sobre la base de hallazgos radiográficos y signos clínicos y / o síntomas de los dientes tratados. Se ha dicho que numerosos factores contribuyen a los fracasos del tratamiento endodóntico. Estos incluyen cultivos positivos, tejido residual de pulpa necrótica, instrumentos rotos , sobreobtusión del conducto, perforaciones mecánicas, fracturas de raíz, presencia de lesiones perirradiculares , y enfermedad periodontal (Lin et al, 1992). La longitud a la que se extiende el material de obturación puede afectar el resultado del tratamiento endodóntico, aunque los pronósticos son más pobres cuando hay sobreobtusión o subobtusión (Lin et al., 1992). Estas áreas vacías pueden crear problemas porque pueden contener bacterias que pueden multiplicarse cuando están en contacto con nutrientes a través de la región periapical o conductos laterales (Hammad et al., 2009).

En los dientes inadecuadamente tratados, existe una mayor probabilidad de persistencia o aparición de infección intrarradicular, que es la causa principal de la periodontitis apical posterior al tratamiento (Ortega Núñez et al., 1987). Si la calidad de obturación de la raíz es buena, una buena restauración mejora la tasa de éxito endodóntico. Sin embargo, si la calidad de la obturación de la raíz es deficiente, la calidad de la restauración coronal no tiene importancia para el resultado del tratamiento endodóntico (Delboni et al., 2017).

Sin embargo, en estudios transversales se ha identificado una prevalencia relativamente alta de periodontitis apical persistente (PA) en dientes tratados endodónticamente, que oscila entre el 40% y el 61%. La razón principal de la persistencia de PA después del tratamiento endodóntico es la presencia de bacterias en el sistema de conductos radiculares o la penetración en el sistema radicular como resultado de la fuga coronal. Otras posibles etiologías incluyen la presencia de quistes verdaderos, infección extrarradicular o reacciones de cuerpos extraños El mejor pronóstico para el tratamiento radicular es: instrumentación adecuada y obturación homogénea a la constricción apical. El peor pronóstico para el tratamiento del conducto radicular es: instrumentación y obturación más allá de la constricción apical. El segundo peor pronóstico es: una obturación corta de más

de 2 mm de la constricción apical, combinada con una instrumentación y una obturación deficientes (Tsesis et al., 2013).

Para saber el nivel adecuado al que se debe instrumentar y obturar, es necesario conocer la distancia entre el foramen y la constricción apical, que es a menudo a 1 mm. Las radiografías adecuadas, el conocimiento de la anatomía, el sentido táctil y los "localizadores del ápice", ayudarán a determinar la constricción apical. La demostración radiográfica de los mismos no significa excelencia en endodoncia (Slutzky et al., 2008).

La endodoncia contemporánea debe estudiar la determinación de la longitud óptima de la instrumentación y la obturación del conducto radicular, la elección de las mejores estrategias antimicrobianas para eliminar el biofilm y la comprensión de las características anatómicas críticas del área apical. Uno de los temas todavía controvertidos en el tratamiento del conducto radicular es la longitud de trabajo. El límite apical de la instrumentación y la obturación del conducto radicular es uno de los temas polémicos más importantes en la terapia del conducto radicular (Ricucci y Langeland, 1998b). Durante décadas este tema ha sido, y sigue siendo, un tema de discusión entre los endodoncistas (Ricucci y Langeland, 1998a). Estudiar y conocer la anatomía radicular a cabalidad es un requisito fundamental para conseguir un tratamiento de endodoncia exitoso. Varios son los autores que han estudiado la longitud radicular de los diferentes dientes. A partir de estas mediciones se definió que el límite ideal de la obturación de los conductos radiculares debe estar a 1 mm del ápice radicular (desde coronal a apical). El objetivo de determinar una longitud de trabajo es lograr preparar y obturar los conductos radiculares lo más cerca posible de este punto, idealmente a nivel de la constricción apical, área del conducto radicular que presenta el menor diámetro y es el punto de unión entre el tejido pulpar y el tejido periodontal según Jarad et al. La unión cemento-dentinaria puede o no coincidir con la constricción apical; esta última debe ser el límite de la preparación y de la obturación radicular. La ubicación de la constricción apical varía considerablemente y su relación con la unión cemento-dentinaria también es variable y puede ser de hasta 3 mm más alta en un

lado del conducto, en comparación con el otro. Por otra parte, la unión cemento-dentinaria no puede ser identificada clínicamente. La constricción apical se ubica generalmente entre 0,5 a 2 mm del ápice dentario radiográfico, y hay estudios que relacionan la posición de la unión cemento-dentinaria y la constricción apical, mostrando esta última siempre más coronal a la primera (Ortega Núñez et al., 1987). La constricción apical se describe a menudo como el punto al que la obturación debe extenderse. La topografía del ápice no es estándar y muestra varias variaciones morfológicas. Ponce y Fernández evaluaron histológicamente la localización de la unión cemento-dentinal y los diámetros del foramen apical y del conducto radicular en la unión cemento-dentinal en los dientes anteriores maxilares. Sus resultados mostraron que la unión cemento-dentinal es simplemente el punto en el que 2 tejidos histológicos convergen dentro del conducto radicular y que es susceptible a cambios dependiendo de cada situación clínica particular y de las extensiones variables del cemento en el conducto radicular. La constricción apical y el foramen apical no son marcos anatómicos fiables para la longitud de obturación en el extremo apical y su uso para calcular la longitud de obturación puede resultar en lesión de tejidos apicales y periapicales. La importancia de determinar la longitud de la instrumentación del conducto radicular y la obturación condujo a la investigación de varios métodos electrónicos para determinar la longitud como un medio para aumentar la precisión de este procedimiento endodóncico esencial (Lin et al., 1992).

La práctica clínica convencional supone que los dientes endodónticamente tratados se restauran para formar y funcionar después de la terminación de la terapia endodóntica. Se cree que la presencia de la restauración coronal ayuda a proteger el diente tratado endodónticamente y el sistema de conductos radiculares de la microfiltración coronal y la reinfección. Además, se supone a menudo que el efecto protector se mejora si la restauración coronal se coloca poco después de la finalización del tratamiento endodóntico, con el fin de evitar la microfiltración. Por otra parte, estudios han evaluado la calidad del tratamiento endodóntico en una población estadounidense, las obturaciones de raíz de menor calidad se asociaron más fuertemente con la enfermedad periapical que las obturaciones de raíces de

mayor calidad. Sin observar diferencias estadísticamente significativas en la proporción de enfermedad periapical entre los dientes endodónticamente restaurados con amalgama versus otras restauraciones coronales (Delboni et al., 2017). Así pues, Se acepta generalmente que el pronóstico del tratamiento endodóntico está positivamente correlacionado con la calidad técnica de obturación de la raíz. Esto parece lógico en que la obturación de la raíz está destinado a establecer un sello hermético de bacterias del conducto radicular para que las bacterias orales no puedan llegar a los tejidos periapicales y causar la enfermedad. Los materiales que están disponibles con el fin de sellar el sistema de conductos radiculares no carecen de defectos. Además de que en la literatura existe una asociación consistente entre la radiolucencia periapical y los materiales de obturación del conducto radicular de mala calidad (Delboni et al., 2017).

1.2 Planteamiento del problema

En el tercio apical se encuentra el foramen apical, medio de comunicación del conducto con el periodonto, que representa una vía de entrada de bacterias, es por ello que realizar una obturación de esta zona es de vital importancia para el éxito del tratamiento de conductos. Actualmente no existen investigaciones que evalúen la microfiltración bacteriana en dientes obturados solamente a nivel del tercio apical, por lo que se desconoce si existe o no filtración en estas condiciones.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Determinar si existe microfiltración bacteriana en dientes obturados solamente 4mm en el tercio apical.

2.2 Objetivos específicos

- Evaluar si existe microfiltración bacteriana en dientes subobturados, solo 4mm en el tercio apical con cemento AH-PLUS.
- Evaluar si existe microfiltración bacteriana en dientes sobreobturados, solo 4mm en el tercio apical con cemento AH-PLUS.
- Evaluar si existe microfiltración bacteriana en dientes obturados a longitud de trabajo solo 4mm en el tercio apical con cemento AH-PLUS.
- Comparar la microfiltración bacteriana entre los dientes subobturados, sobreobturados y obturados a longitud de trabajo, solo 4mm en el tercio apical con cemento AH-PLUS.

3. METODOLOGÍA

3.1 Preparación de las muestras

Se utilizaron 60 órganos dentarios humanos, premolares superiores o inferiores extraídos que tuvieran un solo conducto radicular, confirmado con radiografía apical; estos se almacenaron en solución salina antes de su uso. Posteriormente se colocaron en hipoclorito de sodio al 2.5% para su desinfección. Se limpiaron y removieron restos de cálculo o tejidos con ayuda de fresa de bola y ultrasonido marca NKS cuya punta fue enfriada con agua. Los dientes fueron estandarizados a una longitud de 12 mm con una regla milimetrada (Dentsply Maillefer), desde el ápice hasta la porción cervical. Una vez establecida la medida se marcó con un marcador azul indeleble (Pelikan). Cada una de las raíces fue numerada. Fig 1.

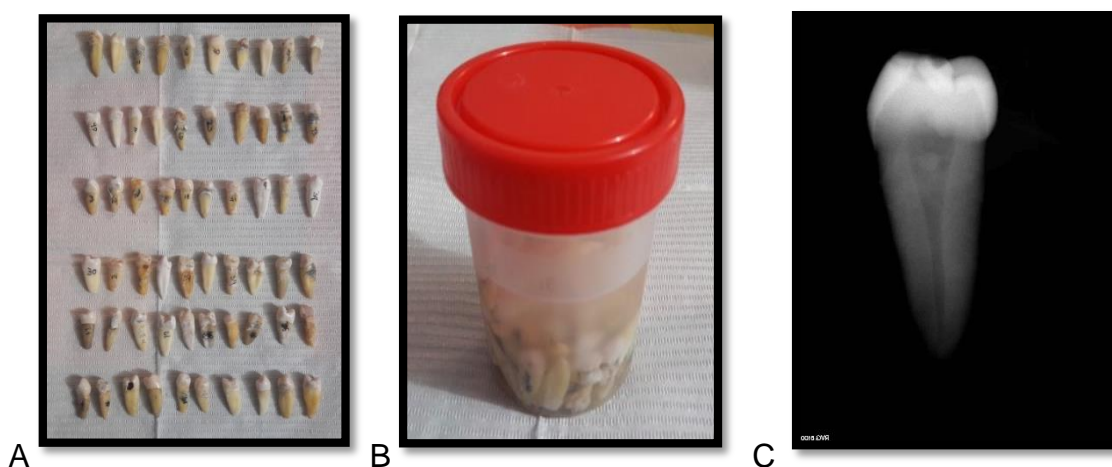


Fig. 1 A) Se observan las 60 muestras enumeradas. B) Todas las muestras en hipoclorito. C) Radiografía para verificar que la muestra tuviera solamente un conducto radicular.

Se cortaron las coronas clínicas a la longitud determinada con un disco de diamante (INTI, Made in Germany) colocado en un micromotor (NSK). Después se colocaron en bolsas para esterilizar y se esterilizaron en autoclave por 20 min a 126° C. Se realizó patencia en cada uno de los conductos radiculares con una lima K de acero inoxidable No. 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza), a los 12 mm y se

irrigó con 1 ml de hipoclorito de sodio al 2,5% (Clorox). La longitud de trabajo se estableció con una lima No. 15 flexofile (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suiza), disminuyendo 0.5 mm una ves que se observara fuera de ápice de los 12 mm de las raíces. Los conductos radiculares se instrumentaron con el sistema rotatorio de limas TF Adaptive (Sybron®) de 25mm; activadas por el motor Smart Plus (Dentsplay®) a una velocidad de 300 rpm y torque de 3 Nxcm, comenzando con la lima SM1 y terminando con lima SM3; todo este procedimiento a longitud de trabajo en 48 organos dentarios. Para finalizar se instrumentaron con lima manual flexofile (Dentsply Maillefer®) #40. Para los otros 12 órganos dentarios, a la longitud de trabajo ideal, se les restaron 2mm y se instrumentaron. Entre lima y lima se irrigó con 1 ml. de hipoclorito de sodio al 2.5% (Clorox) con una jeringa y puntas Endo-Eze®. Éste mismo se eliminó por medio del eyector endodóntico y se realizó una última irrigación con agua estéril (3 ml), con el fin de enjuagar cualquier residuo del hipoclorito.

Después de la instrumentación, se realizó el protocolo de irrigación con 5 ml de hipoclorito de sodio (NaOCl) (Clorox) al 2,5% y 5 ml de EDTA al 17% (Farmacia Alemana). Fig. 2.

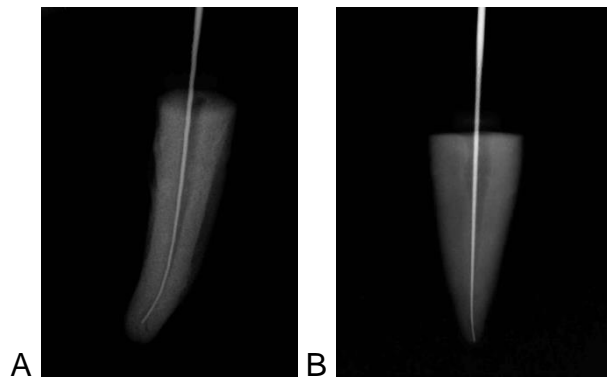


Fig. 2 A) Se observa radiográficamente longitud de trabajo restandole 2mm para el grupo de muestras subobturadas. B) Se observa radiográficamente longitud de trabajo ideal de 4 de los 5 grupos.

3.2 Métodos

A partir de aquí, los 60 O.D. se dividieron en 3 grupos experimentales y 2 grupos control aleatoriamente:

Grupo 1 (n=12) sobreobturados:

Se secó el conducto radicular con puntas de papel estériles. Se probó cono maestro de gutapercha #35 2mm excedido del ápice. Se cubrió la punta de la gutapercha con cemento AH-PLUS y se llevó al conducto radicular. Con el sistema de obturación termoplastificado Alfa (Meta-Biomed), se cortó el cono a 4mm de la longitud de trabajo y con un condensador vertical (MAILLEFER), se condensó la gutapercha hasta obtener los 4 mm de gutapercha en apical.

Grupo 2 (n=12) subobturados:

Se secó el conducto radicular con puntas de papel estériles. Se probó cono maestro de gutapercha #40 que previamente había sido instrumentado 2mm corto de la longitud de trabajo ideal, tomando radiografía periapical para comprobarlo. Se cubrió la punta de la gutapercha con cemento AH-PLUS y se llevó al conducto radicular. Con el sistema de obturación termoplastificado Alfa (Meta-Biomed), se corto el cono a 4mm de la longitud de trabajo instrumentada (corto 2mm) y con un condensador vertical (MAILLEFER), se condensó la gutapercha hasta obtener los 4 mm de gutapercha en apical.

Grupo 3 (n=12) a longitud de trabajo:

Se secó el conducto radicular con puntas de papel estériles. Se probó cono maestro de gutapercha #40 a longitud de trabajo, tomando radiografía periapical para comprobarlo. Se cubrió la punta de la gutapercha con cemento AH-PLUS y se llevó al conducto radicular. Con el sistema de obturación termoplastificado Alfa (Meta-Biomed), se cortó el cono a 4mm de la longitud de trabajo y con un condensador vertical (MAILLEFER), se condensó la gutapercha hasta obtener los 4 mm de gutapercha en apical.

Grupo 4 (n=12) Control negativo:

Se secó el conducto radicular con puntas de papel estériles. Se probó cono maestro de gutapercha #40 a longitud de trabajo, tomando radiografía periapical para comprobarlo. Se cubrió la punta de la gutapercha con cemento AH-PLUS y se llevó al conducto radicular. Con el sistema de obturación termoplastificado Alfa (Meta-Biomed) fueron obturados en toda la extensión del conducto radicular.

Grupo 5 (n=12) Control positivo: instrumentados sin obturar.

Recolección de muestras de bacterias

Se recolectó muestra donada del laboratorio de bacteria *E. faecalis*, que fue reactivada proporcionandole medio BHI para su crecimiento y posterior utilización.

Preparación de Medio BHI

Se suspendió 37 g del polvo en 1000 ml de agua destilada, se disolvió con agitación suave hasta su completa disolución en un matraz. Se esterilizó en olla autoclave a 126°C durante 20 minutos. Se colocó en incubadora por 24 hrs.

Preparación reactivo Chromocult® (Merk)

Se suspendieron 36 g del polvo en 1000 ml de agua destilada, se disolvió con agitación suave hasta su completa disolución en un matraz. Se esterilizó en olla autoclave a 121°C durante 20 minutos. Se colocó en incubadora por 24hrs. Fig. 3.



A

B

C

D

Fig 3. A) Muestras de *E. faecalis* en tubos de ensayo. B) Reactivo Chromocult y medio BHI preparados. C) Incubadora donde se colocaron reactivo Chromocult y medio BHI. D) Prueba piloto realizada del reactivo Chromocult para verificar su funcionalidad adecuada, los tubos Eppendorf superiores con *E. faecalis* se observa medio color azul, mientras que los tubos inferiores con *S. Mutans*, no muestran cambio de color.

Ensamblaje y montaje de las raíces

Para el ensamblaje de las raíces se utilizaron tubos eppendorf (Axigen) para la cámara superior y frascos de vidrio para la cámara inferior. En la cámara superior se realizó un pequeño orificio en el extremo del tubo eppendorf con un disco de diamante (INTI, Made in Germany), dentro de este tubo se introdujo la raíz empujándola suavemente, quedando aproximadamente unos 7mm fuera del tubo. Se le colocó a cada raíz barniz de uñas transparente, excepto en el foramen apical y se selló con el tubo eppendorf con una capa de silicón sellador y una vez seco se le aplicó una capa de cianocrilato (cola loca). Para formar la cámara inferior, se perforaron previamente las tapas de los frascos a la medida del tubo eppendorf con ayuda de un fresón (INTI) y se introdujo el tubo eppendorf para sellarlo con silicón sellador y una vez seco, se le aplicó una capa de cianocrilato (cola loca). Fig. 4.



A

B

C

D

Fig. 4 A) Se observa colocación de silicon sellador entre el diente y el tubo eppendorf. B) Diente sellado al tubo Eppendorf. C) Frasco ya marcado y enumerado, así como el tubo eppendorf ya sellado a la tapa del frasco. D) Modelo de doble cámara listo.

Los frascos de vidrio fueron esterilizados previamente, rotulados y en campo estéril con mecheros encendidos, se sacaron de incubadora el tubo de ensayo con *E. faecalis* y el reactivo Chromocult. Se flameó el Chromocult y el frasco y se introdujo con una micropipeta al frasco, 5ml. de Chromocult, se cerró el frasco y se desechó la punta de la micropipeta. Se flameó el tubo de ensayo que contenía

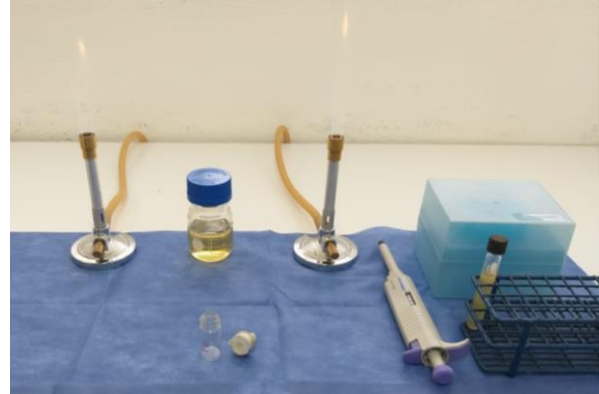


Fig. 5. Se observa campo estéril con todos los materiales y reactivos listos.

el *E. faecalis* y con la micropipeta se colocó 1 ml de *E. faecalis* en la cámara superior y se cerró, se desechó la punta. Las muestras se guardaron a 37 ± 1 grados centígrados en incubadora a lo largo de todo el experimento. Fig. 6.

A

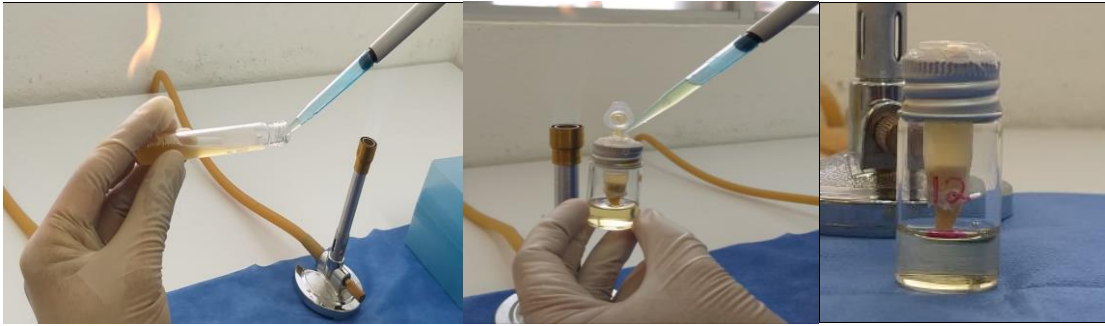


B



C





D

E

F

Fig. 6 A) Se observa flameado de reactivo Chromocult en el mechero. B) Colocación con micropipeta de reactivo Chromocult en el frasco de la muestra. C) Muestra con reactivo Chromocult. D) Toma de *E. faecalis* con micropipeta. E) Colocación con micropipeta de 1mm de *E. faecalis* en la cámara superior de la muestra. F) Muestra lista para colocar en incubadora,

Observación

Durante un mes se realizó la observación de las muestras, en donde cada 96 hrs, para mantener el crecimiento de *E. faecalis* en las cámaras superiores, en campo estéril y mecheros, se les removió 0.500 ml de la cámara superior con micropipeta y posteriormente se les colocaba 0.500 ml de medio BHI preparado previamente y nuevamente se introducían en incubadora.

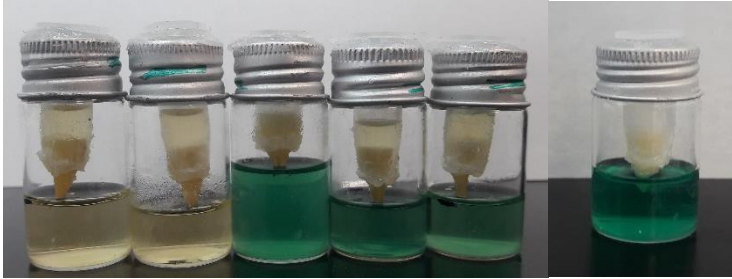
Una vez que el reactivo Chromocult de la cámara inferior cambiaba a color azul, se marcaba como muestra filtrada, anotando el día y siendo desechada. Fig. 7.

A

B

C





D

E

Fig. 7. A) Pesaje de medio BHI. B) Colocación de BHI en la cámara superior de la muestra. C) Muestras que continúan en observación ya que el reactivo Chromocult continúa de color amarillo claro. D) Comparación entre muestras con y sin filtración. E) muestra que se observa contaminada, debido al cambio de color azul.

3.3 Análisis estadístico

Las variables cualitativas se expresaron en frecuencia y porcentaje. Para saber la distribución de las variables, se realizó la prueba de Chi cuadrada.

4. RESULTADOS

Se realizó la comparación entre los dos grupos controles, positivo y negativo. Tabla 1. En donde se observa que el grupo control positivo a las 24 todas las muestras ya habían filtrado. Mientras que en grupo control negativo, hubo 7 muestras que filtraron a los 7 y 15 días, 5 y 2 respectivamente.

TABLA 1. COMPARACION DE MICROFILTRACION POR PERIODO DE TIEMPO DE GRUPOS CONTROL

	FRECUENCIA (%)	
	CONTROL + G4 (n=12)	CONTROL - G5 (n=12)
24 HORAS	12 (100)	0 (0)
7 DIAS	0 (0)	5 (42)
15 DIAS	0 (0)	2 (17)
30 DIAS	0 (0)	0 (0)
TOTAL	12 (100)	7 (58)

G=Grupo

En la tabla 2, se muestra la comparación de microfiltración por periodo de tiempo entre el grupo 1 y grupo 2. El grupo 1 tuvo un total de 11 muestras con filtración, mientras que el grupo 2 tuvo menos muestras con filtración, 8 muestras, a pesar de eso, p tuvo un valor de 0.85, por lo que no resultó estadísticamente significativo.

TABLA 2. COMPARACION DE MICROFILTRACION POR PERIODO DE TIEMPO ENTRE GRUPO 1 Y GRUPO 2 EXPERIMENTALES

FRECUENCIA (%)			
	SOBREOBTURADOS		VALOR DE P
	G1 (n=12)	G2 (n=12)	
24 HORAS	0 (0)	0 (0)	
7 DIAS	6 (50)	5 (42)	
15 DIAS	1 (8)	0 (0)	0.8544
30 DIAS	4 (33)	3 (25)	
TOTAL	11 (92)	8 (67)	

G= Grupo

Prueba estadística: Chi cuadrada

En la tabla 3 se muestra la comparación de microfiltración por periodo de tiempo entre los grupos 2 y 3 experimentales. El grupo 2 tuvo un total de 8 muestras filtradas, mientras que el grupo 3 un total de 10, a pesar de encontrar un menor número de muestras filtradas en el grupo 2, p tuvo un valor de 0.38, por lo que no resultó estadísticamente significativo.

TABLA 3. COMPARACION DE MICROFILTRACION POR PERIODO DE TIEMPO ENTRE LOS GRUPOS 2 Y 3 EXPERIMENTALES

	FRECUENCIA (%)		Valor de P
	SUBOBTURADOS G2 (n=12)	OBTURADOS A LONGITUD DE TRABAJO G3 (n=12)	
24 HORAS	0 (0)	0 (0)	0.3893
7 DIAS	5 (42)	5 (42)	
15 DIAS	0 (0)	3 (25)	
30 DIAS	3 (25)	2 (17)	
TOTAL	8 (67)	10 (83)	

G= Grupo

Prueba estadística: Chi cuadrada

En la tabla 4 se muestra la comparación de microfiltración por periodo de tiempo entre los grupos 1 y 3 experimentales. El grupo 1 tuvo un total de 11 muestras filtradas, mientras que el grupo 3 un total de 10, a pesar de encontrar un menor número de muestras filtradas en el grupo 1, p tuvo un valor de 0.42, por lo que no resultó estadísticamente significativo.

TABLA 4. COMPARACION DE MICROFILTRACION POR PERIODO DE TIEMPO ENTRE LOS GRUPOS 1 Y 3 EXPERIMENTALES

	FRECUENCIA (%)		Valor de P
	SOBROBTURADOS G1 (n=12)	OBTURADOS A LONGITUD DE TRABAJO G3 (n=12)	
24 HORAS	0 (0)	0 (0)	0.4245
7 DIAS	6 (50)	5 (42)	
15 DIAS	1 (8)	3 (25)	
30 DIAS	4 (33)	2 (17)	
TOTAL	11 (92)	10 (83)	

G= Grupo

Prueba estadística: Chi cuadrada

5. DISCUSION

Esta investigación evaluó la microfiltración bacteriana solamente obturando el tercio apical a diferentes longitudes: subobturados, sobreobturados y a longitud de trabajo.

El motivo por el que se realizó esta investigación con cepas bacterianas de *E. faecalis*, fue porque se le considera el principal microorganismo encontrado en infecciones endodónticas persistentes. Según Pinheiro (2003), Penas (2013) y Palaniswamy (2016) esto está relacionado con su patogenicidad, ya que es un microorganismo anaerobio facultativo gram +, que se aísla con mayor frecuencia en casos de fracaso endodóntico. Según Siqueira et al (2004) con valores de prevalencia que van del 30% al 90% de los casos. Los dientes tratados con el conducto radicular son aproximadamente nueve veces más propensos a albergar *E. faecalis* que los dientes con una infección primaria.

Mencionan Hubble (2003), Furuya (2006), Basrani (2009) y De Almeida (2016), que posee la capacidad de sobrevivir y crecer en conductos radiculares con nutrientes limitados. Otro factor de patogenicidad es su adhesión a la superficie dentinal, debido a que la dentina contiene colágeno y otras proteínas que permiten que se produzca una adhesión bacteriana resistente que permite al microorganismo colonizar nuevamente el conducto radicular. Capaz de penetrar profundamente los túbulos dentinarios, resistiendo procedimientos biomecánicos y químicos realizados durante el tratamiento de endodoncia.

Al sobrevivir a estos procedimientos dice Pardi (2008), la bacteria se alojará en espacios dentro del sistema de conductos radiculares en donde no existe una obturación adecuada, provocando el futuro fracaso endodóntico.

Haapasalo (2003) y Sundqvist (2003) han considerado la presencia de *E. faecalis* como escasa o nula, en los casos de infecciones primarias. Mientras que estudios mas recientes de DNA, también han demostrado su presencia en tales infecciones Siqueira et al (2002), Portenier (2003) y Sassone (2004).

En contraparte, la presencia de *E. faecalis* como el principal causante de los fracasos del tratamiento endodóntico se ha puesto en duda por estudios de autores como Rocas (2004, 2008, 2012) y Sakamoto (2008), que mencionan que incluso cuando está presente *E. faecalis*, rara vez es una de las especies más dominantes en los casos de retratamiento. Según Kaufman (2005) y Zoletti (2006), no se ha demostrado que *E. faecalis* sea más prevalente en los dientes con tratamiento de conductos con lesiones periapicales cuando se compara con dientes con tratamiento de conductos sin lesiones. Existiendo otras bacterias que se encuentran en los dientes tratados endodónticamente con periodontitis apical: estreptococos y algunas especies anaerobias exigentes, tales como *P. alactolyticus*, *Propionibacterium*, *Filifactor alocis*, *Dialister pneumosintes*, *Dialister invisus*, *Tannerella forsythia*, *P. micra*, *Prevotella intermedia*, y *Treponema denticola* según Rocas (2004, 2012).

Otro factor del fracaso endodóntico asociado a la persistencia bacteriana, es la calidad del sellado, varias investigaciones concluyen mencionando que un mal sellado es responsable de la formación de nichos de proliferación bacteriana, causando una zona de infección e irritación constante a la región apical y adyacente según Schilder (1967), Fernández (1998) y Martínez (2009).

Es por esta razón que el sellado es fundamental para evitar la filtración de bacterias y endotoxinas desde el interior del conducto radicular a tejidos periapicales, o la filtración de fluidos tisulares, desde la región periapical hacia el conducto, provocando un futuro fracaso en el tratamiento. Cohen (2008).

Ng (2008) menciona que un relleno de raíz insatisfactorio se ha definido como "sellado inadecuado", "sello apical deficiente" o "presencia radiográfica de espacios". Sin embargo, se encontró que los rellenos de raíz satisfactorios estaban asociados con tasas de éxito significativamente más altas que los rellenos de raíz insatisfactorios.

La mayoría de los estudios anteriores clasificaron las diferentes extensiones de obturación apical en tres categorías para los análisis estadísticos: >

2 mm menos que el vértice radiográfico (corto), 0–2 mm dentro del ápice radiográfico (límite) y extruido más allá del ápice radiográfico (sobreextendido). La mayoría encontró que este factor tuvo una influencia significativa en la tasa de éxito; la obturación de raíz en el límite se asoció con tasas de éxito más altas que la obturación de raíz corta para Strindberg (1956), Storms (1969), Harty et al. (1970), Adenubi y Rule (1976), Nelson (1982), Morse et al. (1983a–c), Sjögren et al. (1990), Ørstavik & Horsted-Bindslev (1993), Smith et al. (1993) u obturación sobreextendida según Strindberg (1956), Seltzer et al. (1963), Bender et al. (1964), Engström et al. (1964), Harty et al. (1970), Adenubi y Rule (1976), Jokinen et al. (1978), Nelson (1982), Swartz et al. (1983), Klevant y Eggink (1983), Oliet (1983), Sjögren et al. (1990), Ørstavik y Horsted-Bindslev (1993), Smith et al. (1993). Una obturación de raíz corta a su vez tenía tasa de éxito significativamente más alta que la obturación sobreextendida según Seltzer et al. (1963), Bender et al. (1964), Engstrom et al. (1964), Adenubi y Rule (1976), Jokinen et al. (1978), Nelson (1982), Klevant y Eggink (1983), Oliet (1983), Swartz et al. (1983), Teo et al. (1986), Matsumoto et al. (1987), Ørstavik y Horsted-Bindslev (1993). Y 7 estudios no encontraron una asociación significativa, los de Soltanoff (1978), Halse y Molven (1987), Bystrom et al. (1987), Peak (1994), Friedman et al. (1995), Sjögren et al. (1997), Heling et al. (2001), Hoskinson et al. (2002).

En 3 meta-análisis de Ng (2008) que se realizaron, hicieron comparaciones entre sobreobturaciones y subobturaciones, sobreobturaciones y a longitud, subobturaciones y a longitud, llegaron a la conclusión de que los 3 enfoques analíticos coincidían en que dientes obturados a longitud de trabajo tienen mayor índice de éxito, seguidos de los subobturados y al último sobreobturados. En nuestra investigación coincidimos con aquellos estudios que no tuvieron una diferencia estadísticamente significativa, aunque se debe tomar en cuenta que la investigación fue *in vitro* y no existen estudios donde se obture solamente a nivel apical. El único publicado hasta el momento, es de Sánchez Lara et al (2018) que fue realizado *in vivo*, donde se observa mediante el índice de PAI, un éxito clínico similar, sin diferencias estadísticamente significativas a una obturación completa del

conducto radicular a una adecuada longitud de trabajo, demostrando el éxito clínico y resolución de los casos.

Keceli et al (2005), evaluaron microfiltración bacteriana, y a pesar de tener menor filtración las muestras obturadas con onda continua que la técnica lateral, no fue estadísticamente significativo, y en cambio, Gilbert et al (2001), en su estudio ellos demostraron que sí existe una diferencia estadísticamente significativa la técnica de onda continua. Sea cual sea la técnica de obturación empleada en estudios in vitro, ninguna fue capaz de lograr un sellado e impedir la microfiltración. Otros autores como Miletì et al (2002) concuerdan en que ninguna técnica o material, ha impedido la microfiltración.

El método empleado para medir la microfiltración, fue el de doble cámara creado por Torabinejad (1990) que fue utilizado debido a sus ventajas que mencionan Siqueira et al (2000), ya que utiliza un cultivo de bacterias que tiene un significado más biológico que las pruebas de filtración de colorante, ya que puede reflejar de cerca la situación y proporcionar datos más precisos y reproducibles, además, permite la evaluación de muestras en periodos específicos de tiempo. También gracias a la utilización del reactivo chromocult, que cambia de color amarillo a azul en presencia de *E. faecalis*, pudimos llevar un control y confirmar que efectivamente la bacteria utilizada en el estudio fue la causante de la microfiltración independientemente de si había otras o no. Aunque tiene la desventaja de al ser un modelo estático, no puede simular todas las condiciones clínicas y no permite la cuantificación del número de bacterias que filtran, pero proporcionó buenos datos para investigaciones futuras.

El relleno tridimensional de los conductos radiculares sepultará los microorganismos restantes dentro de las paredes del conducto radicular; sin embargo, este procedimiento es impredecible, especialmente en la zona del tercio apical, por ello con un control de longitud de trabajo adecuado, el sellador y / o la gutapercha fluirán hacia los espacios del conducto (incluidos los conductos accesorios), para lograr un buen sellado apical y tener una resolución exitosa.

6. CONCLUSIONES.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos experimentales.

Los resultados fueron similares a estudios previos donde se realizó la completa obturación del conducto radicular. Confirmando que mientras se logre un buen sellado apical, se lograrán sepultar los microorganismos residuales y tener una resolución exitosa.

Se recomienda al haber poca literatura del tema, realizar futuras investigaciones.

7. REFERENCIAS

1. Alyahya A., Athbi A. 2017. Does the Removal of Cementum Facilitate Bacterial Penetration into Dentinal Tubules In Vitro. *Journal of Endodontics*. 43 (7): 1111-1115.
2. Basrani M, 2009. Using diazotization to characterize the effect of heat or sodium hypochlorite on 2% chlorhexidine. *JOE*. 35 (9): 1296-1299.
3. Carr GB, Schwartz RS, Schaudinn C, Gorur A, Costerton JW. 2009. Ultrastructural examination of failed molar retreatment with secondary apical periodontitis: an examination of endodontic biofilms in an endodontic retreatment failure. *J Endod*;35(9):1303-9.
4. Cohen S. 2008. *Vías de la pulpa*. Elsevier. Madrid.
5. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*;284(5418):1318-22.
6. De Almeida et al. 2016. Effectiveness of EDTA and modified salt solution to detach and kill cells from enterococcus faecalis biofilm. *JOE*. 42 (2): 320-323.
7. Delboni, Maraisa G., Brenda P.F.A. G., Priscila A. F., Teixeira F. B., Drake D. 2017. Diversity of Enterococcus Faecalis Genotypes from Multiple Oral Sites Associated with Endodontic Failure Using Repetitive Sequence-Based Polymerase Chain Reaction and Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction. *Journal of Endodontics*. 43 (3): 377-382.
8. Fernandez N. 1998. Microfiltración apical. *Odontología Sanmarquina*. 1 (2).
9. Furuya M. 2006. Evaluación de la actividad antibacteriana en una mezcla de hidróxido de calcio y clorhexidina al 0.12% como irrigante pulpar. *Revista oral*. 7 (23): 355-359.
10. Gilbert S.D. 2001. Coronal leakage following three obturation techniques. *Int. Endod J*. 34: 293-9.
11. Hammad M., Qualtrough A., Silikas N.. 2009. Evaluation of Root Canal Obturation: A Three-Dimensional In Vitro Study. *Journal of Endodontics*. 35 (4): 541–544.
12. Haapasalo M et al. 2003. Persistent, recurrent, and acquired infection of root canal system post-treatment. *Endodontic topics*. 6: 26-56.
13. Hubble S. 2003. Influence of enterococcus faecalis proteases and the collagen-binding protein, ace, on adhesion to dentin. *Oral microbiology immunology*. 18 (2): 121-126.
14. Kabak Y, Abbott P V. 2005. Prevalence of apical periodontitis and the quality of endodontic treatment in an adult Belarusian population. *Int Endod J*;38(4):238-45.
15. Kaufman B, Spangberg L, Barry J, and Fouad A.F. 2005. Enterococcus Spp. in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. *JOE*; 31 (12): 851-856.
16. Lin, L M, J E Skribner, Gaengler P. 1992. Factors Associated with Endodontic Treatment Failures. *Journal of Endodontics*. 18 (12): 625–627.
17. Keceli et al. 2005. Comparison of cold lateral compaction and continuous wave of obturation techniques following manual or rotary instrumentation. *Int. Endod J*. 38: 381-8.
18. Martinez E. 2009. Evaluación de la filtración apical de dos sistemas de

- obtención mediante diafanización. *Cient. Dent.* 6 (3), 217-222.
19. Mileti I. et al 2002. Bacterial and fungal microleakage of AH-26 and AH-Plus root canal sealers. *Int. endod J.* 35 (5): 428-32.
 20. Mokhtari H., Shahriar S., Janani M., Frough M. R., Reza M. Z., Rahimi S., Reza S. H. K. 2015. Evaluation of Apical Leakage in Root Canals Obturated with Three Different Sealers in Presence or Absence of Smear Layer. *Iranian Endodontic Journal.* 10 (2): 131–34.
 21. Mulyar S. K., Shameem A., Thankachan R. P., Francis P. G., Jayapalan C. S., Hafiz K. A. A. 2014. Microleakage in Endodontics. *Journal of International Oral Health.* 6 (6): 99–104.
 22. Nair PNR, Henry S, Cano V, Vera J. 2005. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after “one-visit” endodontic treatment. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*;99(2):231-52.
 23. Nair PNR, Sjögren U, Figdor D, Sundqvist G. 1999. Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* ;87(5):617-27.
 24. Neuhaus K. W., Liebi M., Stauffacher S., Eick S., Lussi A. 2016. Antibacterial Efficacy of a New Sonic Irrigation Device for Root Canal Disinfection. *Journal of Endodontics.* 42 (12): 1799–1803.
 25. Ng YL, Mann V, Rahbaran S, et al. 2008. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature. Part 2. Influence of clinical factors. *Int Endod J*; 41: pp. 6
 26. Ortega N., Botia C. A, P., Ruiz de Temiño M., J C de la Macorra G., 1987. Técnicas de Obturación En Endodoncia. *Rev. Esp. Endodoncia.* 5 (111): 91–104.
 27. Palaniswamy S. 2016. Effectiveness of N-acetyl cysteine, 2% chlorhexidine, and their combination as intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis* biofilm. *Journal of conservative dentistry.* 19 (1): 17-20.
 28. Pardi G. 2009. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta odontológica venezolana.* 47 (1).
 29. Penas P. 2013. Analysis of genetic lineages and they correlation with virulence genes in *enterococcus faecalis* clinical isolates from root canal and systemic infections. *JOE.* 39 (7), 858-864.
 30. Pinheiro S. 2003. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral microbiology immunology.* 18 (2): 17-20.
 31. Postenier I. et al. 2003. *Enterococcus faecalis*- the root canal survivor and star in posttreatment disease. *Endodontic topics.* 6; 135-59.
 32. Rezende C. G., Massunari L., Olinta de Azevedo Q. I., Gomes F. J. E., Castilho J. R., Simonetti L. C., and Dezan E. 2016. Antimicrobial Action of Calcium Hydroxide-Based Endodontic Sealers after Setting, against *E. Faecalis* Biofilm. *Brazilian Oral Research.* 30 (1): e38.
 33. Ricucci, D, and Langeland K. 1998a. Apical Limit of Root Canal Instrumentation and Obturation. *International Endodontic Journal.* 31 (6): 394–409.

34. Ricucci, D, and Langeland K. 1998b. Apical Limit of Root Canal Instrumentation and Obturation, Part 2. A Histological Study. *International Endodontic Journal*. 31 (6): 394–409.
35. Rôças IN, Siqueira JF, Aboim MC, and Rosado AS. 2004. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial communities associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 98 (6): 741-749.
36. Rôças IN, Hulsmann M, and Siqueira JF. 2008. Microorganisms in root canal-treated teeth from a German population. *J Endod*. 34 (8): 926-931.
37. Rôças IN, and Siqueira JF. 2012. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol*. 50: 1721-1724.
38. Sakamoto M, Siqueira JF, Rôças IN, and Benno Y. 2008. Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. *Oral Microbiol Immunol*. 23 (4): 275-281.
39. Sánchez Lara et al. (2018). Periapical Healing of Endodontically Treated Teeth Filled Only in the Apical Third: A Randomized Controlled Trial. *EUR Endod*. 3: 24-30
40. Sassone L et al. 2004. Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using checkerboard DNA-DNA hybridization. *Oral microbiol immunol*. 22: 390-397.
41. Schilder H. 1967. Filling root canals in three dimensions. *Dent. Clin north am*. 11; 723-744.
42. Siqueira JF Jr et al. 2000. Bacterial leakage in coronally unsealed root canals obturated with three different techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 90: 647-50.
43. Siqueira et al. 2002. Actinomyces species, streptococci, and enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J. Endod*. 28:168-72.
44. Siqueira, J. F., and Rôças I. N.. 2008. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. *Journal of Endodontics*. 34 (11): 1291-1301.
45. Siqueira JF, Rôças IN, and Rosado AS, 2004. Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach. *Oral Microbiol Immunol*; 19: 63-370.
46. Slutzky G. I., Hagay S., Solomonov M., Moshonov J., Weiss I. E., and Matalon S. 2008. Antibacterial Properties of Four Endodontic Sealers. *Journal of Endodontics*. 34 (6): 735–738.
47. Sundqvist G. 2003. Life as an endodontic pathogen: Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endodontic topics*. 6: 3-28.
48. Torabinejad, M., and Richard E. W. 2010. *Endodoncia : Principios Y Práctica*. Elsevier. 1 (1): 1.
49. Torabinejad, M., Ung, B., & Kettering, J. D. 1990. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *Journal of Endodontics*, 16 (12): 566–569.
50. Tsesis, I, Goldberger T., Taschieri S., Seifan M., Tamse A., and Rosen E. 2013. The Dynamics of Periapical Lesions in Endodontically Treated Teeth That Are Left without Intervention: A Longitudinal Study. *Journal of*

- Endodontics. 39 (12): 1510–15.
51. Zoletti GO, Siqueira JF, and Santos KR. 2006. Identification of *E. faecalis* in root filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. *J Endod.* 32 (8): 722-726.