

Trabajos Originales:

MICROFILTRACIÓN CORONARIA *IN VITRO* DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*, A TRAVÉS DE TRES CEMENTOS PROVISIONALES EN DIENTES TRATADOS ENDODÓNCICAMENTE*Recibido para arbitraje: 26/03/2007**Aprobado para publicación: 31/05/2007*

- **María Valentina Camejo Suárez.** Odontólogo U.C.V., Especialista en Endodoncia U.C.V., Profesor Asociado de la Facultad de Odontología. Universidad Central de Venezuela. Jefe de Cátedra de Endodoncia. Miembro de la Sociedad Venezolana de Endodoncia.
- **Olga Gozalez Blanco.** Odontólogo U.C.V., Magíster Scientiarum en Odontología Restauradora y Oclusión Universidad de Michigan, Profesor Titular Jubilado Facultad de Odontología. Universidad Central de Venezuela.
- **Aura Pacheco. Bionalista,** Cátedra de Microbiología. Facultad de Odontología. Universidad Central de Venezuela

Autor Responsable: María Valentina Camejo Suárez. Cátedra de Endodoncia. Facultad de Odontología. Universidad Central de Venezuela. Tlf. 605 3834. Correo Electrónico: valen-camejo@hotmail.com

RECONOCIMIENTOS: Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a el Profesor José Torres, Licenciado en Estadística, adscrito al Instituto de Investigación Raúl Vicentelli, por el cálculo y análisis de los datos estadísticos y a el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por brindarme el apoyo financiero necesario para llevar a cabo esta investigación.

RESUMEN:

La microfiltración coronaria se considera una causa del fracaso de los tratamientos de conductos radiculares. El propósito de la presente investigación *in vitro*, fue evaluar la capacidad para prevenir la microfiltración coronaria de *Streptococcus mutans* de IRM®, Cavit®, ionómero de vidrio GC Fuji I® en dientes tratados endodóncicamente, durante un período de 90 días. Se realizó un diseño experimental con 40 dientes humanos extraídos, cortados coronariamente a una longitud radicular de 14mm, cuyos conductos fueron preparados, obturados con gutapercha y sellador con técnica de condensación lateral, previa remoción de la capa de desecho. Las cavidades de acceso fueron estandarizadas, a una profundidad de 4mm. La muestra se dividió en: Grupo Experimental: 30 dientes (10 por material de obturación provisional) y Grupo Control: 10 dientes (5 control positivo, 5 control negativo). Se utilizó un sistema de filtración con doble cámara. La cámara inferior se evaluó diariamente para observar la turbidez del caldo de cultivo y establecer la presencia y el día de la filtración. Las muestras del control positivo filtraron los primeros 7 días, el control negativo no mostró filtración. El grupo "IRM" mostró un 100% de muestras filtradas, el grupo "CAVIT" un 60% y el grupo "FI" un 40%. El promedio de días para la filtración de los grupos "IRM", "CAVIT" y "FI" fue 25,4 , 28,67 y 56,75 respectivamente. Se concluyó que el material de obturación provisional que mostró mayor capacidad para prevenir la microfiltración coronaria fue el ionómero de vidrio.

PALABRAS CLAVES: Microfiltración coronaria, *Streptococcus mutans*, Cementos provisionales, dientes tratados endodóncicamente

ABSTRACT:

The coronal microleakage is cause of endodontic failure. The purpose of this study *in vitro* was to evaluate the ability of IRM®, Cavit® and glass ionomers GC Fuji I® to prevent the coronal leakage of *S. mutans* in endodontically treated teeth to 90 days. Forty intact extracted human teeth were coronally shortened to a uniform length of 14 mm. The root canal were prepared and obtured with sealer and gutapercha with lateral condensation. The dentinal smear layer was removed before obturation. Standardized access cavities to 4mm depth. The teeth were divided in two groups: Experimental group (30 teeth) and Control group (10 teeth). The teeth were placed into a coronal leakage apparatus that contained an upper and lower chamber, daily observations were made for bacterial growth and for determine the length of time for the bacteria to penetrate complete of canal root. All positive control teeth showed bacterial penetration in the first 7 days, while the negative control teeth no showed contaminatied throughout the test period. The groups "IRM" showed 100% leakage, "CAVIT" 60% and "FI"40% . The mean measure days for group "IRM", "CAVIT" and "FI" were 25,4 , 28,67 and 56,75 respectivemnt.

KEY WORDS: Coronal microleakage, *Streptococcus mutans*, Provisional restaurations, endodontically

treated teeth

INTRODUCCIÓN:

La microfiltración coronaria se considera una de las causas de fracaso de los tratamientos de conductos radiculares. Imura *et al.*(1) afirman que cuando la porción coronaria de conductos obturados está expuesta a los fluidos bucales, el resultado es la contaminación. Swanson y Madison(2) realizaron un estudio *in vitro* para evaluar la microfiltración coronaria en dientes tratados endodóncicamente, dejando expuesta la gutapercha y el sellador a saliva artificial. Los autores observaron gran cantidad de microfiltración coronaria después de 3 días. Asimismo, Magura *et al.*(3) evaluaron *in vitro* la penetración de saliva a través de conductos obturados. Los resultados del estudio indicaron la necesidad de la repetición de los tratamientos de conductos expuestos a la cavidad bucal por 3 meses. También, Torabinejad y Kettering(4) realizaron un estudio *in vitro* donde evaluaron la penetración bacteriana a través de dientes tratados endodóncicamente. La porción coronaria de raíces obturadas fueron puestas en contacto con *Staphylococcus epidermidis* y *Proteus vulgaris*. Un 85% de los dientes inoculados con *P. vulgaris* fue penetrado completamente a los 66 días, mientras un 88% de los inoculados con *S. epidermidis* fue totalmente infectado en 30 días. El uso de materiales de obturación provisional es un factor importante en la prevención de la contaminación de los conductos obturados antes de colocar la restauración definitiva.(1) Numerosos son los estudios que han evaluado la microfiltración coronaria a través de diferentes materiales de obturación provisional en dientes tratados endodóncicamente, utilizando diferentes métodos de experimentación entre ellos, filtración de tinta(5,6,7), radioisótopos(8), filtración de bacterias(9-14) y medición de filtración bajo presión.(15,16) En 1939, Grossman(5) ya realizaba pruebas en relación a la capacidad de sellado de los materiales más comúnmente utilizados durante el tratamiento de conductos radiculares y al igual que otros estudios posteriores estos materiales mostraron microfiltración marginal en un tiempo relativamente corto. El objetivo del presente trabajo de investigación es comparar la microfiltración coronaria *in vitro*, de *S. mutans*, en dientes tratados endodóncicamente, a través de los materiales de obturación provisional IRM®, Cavit® e ionómero de vidrio GC Fuji I®, en el tiempo.

MATERIALES Y MÉTODO

1. ESTUDIO PILOTO

Se realizó un estudio piloto, se utilizaron 5 dientes, uno para cada material de obturación provisional a evaluar, un control positivo (sin obturación de la cámara de acceso) y un control negativo (con obturación de la cámara de acceso y sellado completamente con barniz de uñas). La preparación de dichos dientes permitió afinar el método, como establecer la medida apical de la instrumentación, la preparación de la cámara de acceso llevarla a cabo con baja velocidad, la necesidad de dejar secar bien el barniz de uñas (3 horas) antes de proceder a la esterilización, establecer el diámetro y longitud de los tubos plásticos, entre otras cosas y establecer la viabilidad del estudio.

2. MUESTRA

Esta investigación se llevó a cabo utilizando 40 dientes humanos extraídos, sanos, libres de caries, monorradiculares, con un sólo conducto y raíces completamente formadas. Los dientes con caries fueron excluidos para minimizar la posibilidad de contaminación bacteriana preoperatoria del conducto radicular. No se tomaron datos sobre la edad, sexo, razón de la extracción. Los dientes fueron divididos en dos grupos, un Grupo Experimental de 30 dientes (10 por cada material de obturación provisional evaluado IRM®, Cavit® e ionómero de vidrio GC Fuji I®) y un Grupo Control de 10 dientes (5 para el control positivo y 5 para el control negativo).

3. INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS UTILIZADO

Se utilizó una hoja de recolección de datos que incluía el número de la muestra, el material de obturación provisional, fecha de colocación del inóculo, fecha de la filtración, tiempo en que ocurrió la turbidez del medio y la verificación de *S. mutans* en la cámara inferior. Esta información se obtuvo a través de la observación diaria de las muestras. La turbidez del medio de cultivo en la cámara inferior y la verificación de *S. mutans*, a través de su identificación morfológica al microscopio óptico y en medio de cultivo, indicó la microfiltración de *S. mutans*.

Se utilizó otra hoja para la recolección de los datos de todas las muestras que incluía el día de filtración y las muestras que presentaron filtración.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. Obtención de *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans fue obtenido en el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM), Instituto de Biología Experimental. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Cepa *Streptococcus mutans* (ATCC25175), en cultivo liofilizado. Para su rehidratación se siguieron las instrucciones indicadas por el CVCM y que mencionaremos a continuación(17) : Se limó la ampolla a una distancia de 2,5 cm por debajo de su punta, se desinfectó la ampolla con algodón y alcohol, se envolvió la ampolla con gasa y se rompió en el área limada, suavemente, se retiró el tapón de algodón que se encuentra dentro de la ampolla, con una pipeta estéril se rehidrató

el liofilizado utilizando un medio líquido, caldo Trypticase Soya (Microbiology®, Merck KgaA, Darmstadt, Germany) y en agar Columbia (OXOID®, Basengstoke, Hampshire, England). Fueron mantenidos a 37°C en microaerofilia, por 48 horas. Luego se realizó la observación al microscopio óptico para reconocer sus características de cocos alargados dispuestos en pares o cadenas cortas, lo cual fue confirmado. El microorganismo fue repicado cada 6 días, tanto en caldo Trypticase Soya como en agar Columbia para conservar la viabilidad de la bacteria.(9) Con su respectiva observación al microscopio óptico. Para la identificación morfológica al microscopio óptico se utilizó la coloración de Gram, para lo cual se prepararon frotis en láminas porta objeto y posterior coloración utilizando: violeta de genciana, solución de safranina, solución mordiente lugol y solución decolorante alcohol-acetona.

4.2. Preparación de los dientes

4.2.1. Tratamiento y preparación biomecánica de los dientes extraídos

Los dientes extraídos fueron mantenidos en agua destilada con pocos cristales de timol, a temperatura ambiente hasta su utilización, para prevenir la proliferación de bacterias.(18-20) Los restos de hueso, cálculo o tejido blando fueron removidos suavemente de la superficie radicular con una cureta.(18,19,21) Los dientes fueron sumergidos en 5% de hipoclorito de sodio (NaOCl) por aproximadamente 15 minutos, para remover restos de material orgánico de la superficie radicular.(21) Luego los dientes se cortaron con un disco de carburo en el tercio coronario de la raíz, a una longitud radicular aproximada de 14 mm, para mantener uniformidad en la longitud de las muestras.(3,12,18,19) Para confeccionar las cavidades de acceso se utilizó una fresa redonda n° 4, a baja velocidad. Estas cavidades de acceso fueron estandarizadas según la mínima extensión posible durante el tratamiento de conductos, de forma oval, con un diámetro aproximado de 3 mm de largo x 2,5 mm de ancho según las características particulares de cada diente y 4 mm de profundidad dentro de la zona coronaria de la raíz.(9,12,22) Dichas medidas fueron verificadas con una sonda periodontal.(1,23) Para la preparación del conducto, primero se determinó la longitud de trabajo utilizando limas # 15, K-Flexofile® (Dentsply Maillefer SA, Ballaigues, Switzerland) que se colocaron dentro de los conductos hasta que se sobrepasara ligeramente en el ápice restando 1 mm a la medida anterior.(3,18,19,25) Después se removió el tejido pulpar de los conductos, fueron instrumentados utilizando la técnica telescópica(3,12,24,26) con limas K-Flexofile®, la preparación apical se llevó a cabo hasta una lima # 30 para estandarizar el diámetro apical y luego se realizó la técnica telescópica hasta llegar a la utilización de una lima # 50.(3,26) En relación a la preparación del conducto en el tercio coronario de la raíz se realizó con fresas Gates Glidden (Dentsply Maillefer SA, Ballaigues, Switzerland), tamaños 1, 2 y 3.(9,12,26-28) Se utilizaron instrumentos nuevos cada 10 conductos preparados. La instrumentación se realizó bajo copiosa irrigación con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2,5% utilizando una jeringa estéril con una aguja de calibre 27; después de completar la instrumentación, con una lima # 15 se pasó 1 mm del ápice para remover algún tapón de dentina y mantener el foramen permeable. A todos los conductos se les realizó una irrigación final con 3 ml de EDTA al 17% seguido de 3 ml de 2,5% de NaOCl para la remoción de la capa de desecho y posteriormente secados con puntas de papel absorbente estériles Hygenic® (Coltene/Whalendent inc., Germany) antes de proceder a la obturación.(18,19)

4.2.2. Obturación del conducto y cavidad de acceso

Tanto la preparación de los dientes como la obturación de los conductos radiculares y cámaras de acceso fueron realizadas por un mismo operador. Todos los conductos radiculares fueron obturados con gutapercha y cemento sellador (Endométhazone®, Septodont, Paris, Francia), utilizando la técnica de condensación lateral.(3,4) El cemento sellador Endométhazone® fue preparado según las instrucciones del fabricante. Se utilizaron conos de gutapercha Hygenic® # 30 (Coltene/Whalendent Inc., Germany) como cono principal y conos accesorios # 15, con un espaciador digital n° 20 (Dentsply Maillefer SA, Ballaigues Switzerland) a una longitud de 1 mm menor a la de trabajo; se condensaron los conos hasta que no se pudiera penetrar más en el tercio medio, sin excesiva fuerza. La gutapercha fue removida con un instrumento caliente a 1 mm por debajo de la superficie coronaria y con un instrumento frío se aplicaron fuerzas vertical para compactar la masa de gutapercha remanente. Este procedimiento se repitió hasta obtener los 4 mm de desobturación del tercio coronario que correspondería a la preparación de la cámara de acceso. Los dientes preparados se dividieron en dos grupos, un Grupo Experimental de 30 dientes (10 por cada material de obturación provisional a evaluar IRM®, Cavit® e ionómero de vidrio GC Fuji I®) y un Grupo Control de 10 dientes. Grupo Experimental: el Grupo Experimental, está conformado por tres subgrupos de acuerdo al material de obturación a emplear: las cavidades de acceso del subgrupo # 1: "IRM" formado por 10 dientes cuya cavidad de acceso fue obturada con IRM® (L.D. Caulk División Dentsply International Inc. Milford, DE, USA). El IRM® fue mezclado de acuerdo con las instrucciones del fabricante, 1 dosis de polvo por 1 gota de líquido, una relación polvo líquido por peso de 6:1, sobre una loseta de vidrio y una espátula metálica. La inserción en la cavidad se realizó con un aplicador y atacador de cemento, en incrementos del fondo hacia arriba, presionando contra las paredes de la cavidad, luego se alisó con una torunda de algodón humedecida con agua.(29) El subgrupo # 2: "CAVIT" formado por 10 dientes cuyo acceso fue obturado con Cavit® (3M ESPE AG, Seefeld, Germany). Cavit® es un material de obturación premezclado, se insertó en la cavidad con un aplicador y atacador de cemento de forma incremental, se compactó vertical y lateralmente seguido de una firme presión vertical con una torunda de algodón húmeda.

El subgrupo # 3: "FI" formado por 10 dientes cuya cavidad de acceso fue obturada con un cemento de ionómero de vidrio convencional, GC Fuji I® (G C Corporation Tokio, Japan). El material fue mezclado según las instrucciones del fabricante en una proporción polvo líquido 1:2, dispensado sobre un bloc de mezcla, utilizando una espátula plástica, se agregó todo el polvo al líquido y se mezcló rápidamente, durante 20 segundos. Fue colocado en la cavidad con un aplicador de extremo esférico. Los materiales de obturación provisional tenían un espesor de 4 mm, de acuerdo con las recomendaciones(18,30,31) y además para estandarizar en el estudio el espesor de los materiales a evaluar. Grupo Control: el Grupo Control, a su vez está conformado por dos subgrupos de cinco dientes, según se describe a continuación: el subgrupo # 1: "Control Positivo" formado por 5 dientes a los cuales no se les realizó la obturación con cemento provisional de la cavidad de acceso. El subgrupo # 2: "Control Negativo" formado por 5 dientes y cuya cavidad de acceso fue obturado con material de restauración de amalgama Dispersalloy® (LD Caulk) previa colocación de 2 capas de barniz Copalite® (Colley y Colley Ltd Houton, TX). La obturación de los dientes se evaluó radiográficamente, se utilizaron películas dentales Kodax Insight® (Eastman Kodak Company Rochester, New York) formato periapical, de tamaño 31x41 mm, en sentido bucolingual y mesiodistal para verificar la homogeneidad de la obturación del conducto radicular y de la cavidad de acceso(32). Luego los dientes fueron mantenidos en un 100% de humedad a 37 °C por 48 horas,(33) posterior a esto fueron sometidos a termociclado. Se realizaron 50 ciclos, se colocaron alternativamente en baños de agua con hielo a 5 °C ± 2 °C y baños de agua caliente a 56 °C ± 2 °C por 30 segundos en cada uno,(15,34-36) luego fueron mantenidos 48 horas a 37 °C en un 100% de humedad .

4.2.3. Preparación de las muestras en el sistema de filtración

La parte coronaria de cada diente fue conectada con la parte final de un tubo de polietileno (Nelaton Catéter®; MD Products, Venezuela) de 2,5 ml usando cianoacrilato y cera pegajosa para prevenir la filtración de la conexión. La superficie radicular de los dientes y los tubos se cubrieron con 2 capas de barniz de uñas Valmy® (Drococsa CA, Caracas, Venezuela), excepto los 2 mm apicales de las raíces. Los 5 dientes que fueron utilizados como control negativo se cubrieron completamente con dos capas de barniz de uñas, incluyendo la porción apical. Todas las muestras fueron esterilizadas usando gas de óxido de etileno, con una duración de 12 horas.(28) El tubo de polietileno fue unido a la tapa de rosca del frasco de vidrio de 30 ml, estéril, (18,19) en el cual se colocaron 10 ml de caldo de Trypticase Soya (cámara inferior), se mantuvieron 48 horas a 37 °C para confirmar su esterilidad antes de colocar el inóculo en la cámara superior. En dicha cámara superior se colocaron 2 ml de inóculo de caldo Trypticase Soya con *Streptococcus mutans* a una turbidez de 0,5 MacFarland, densidad celular 108, con una pipeta Pauster (Fisher Scientific) estéril . El set entero se mantuvo a 37°C, durante el período de observación de 90 días.

4.3. Control de la filtración bacteriana

El sistema de filtración que se usó en el presente estudio es similar al propuesto por Barthel *et al.*,(12) Chailertvanitkul *et al.*(18) y Chailertvanitkul *et al.*(19) los cuales son un modelo refinado del propuesto por Goldman *et al.*(37) La cámara inferior se observó diariamente para determinar la turbidez del medio de cultivo, que indicaría el crecimiento bacteriano; el tiempo tomado para que esto ocurriera indicó la contaminación de todo el conducto radicular(4,12,18,19,38-40) y cuando esto ocurrió se evaluó si se trataba de la misma bacteria, sobre agar Columbia para realizar la evaluación macroscópica por la morfología de las colonias y tinción Gram para la evaluación microscópica y así confirmar la presencia de *S. mutans*, cocos Gram+. El recambio del inóculo en la cámara superior, se realizó asépticamente con el uso de pipetas Pasteur (Fisher Scientific) cada 6 días para asegurar la viabilidad de la bacteria. El caldo en la cámara inferior de las muestras no filtrados, fue cambiada asépticamente después de 45 días.(28)

IV. ANÁLISIS DE LOS DATOS

Teniendo en cuenta el tipo de variables del estudio, el nivel de medición en que vienen expresados los resultados de éstas, la forma en que ocurren los resultados y el tamaño de la muestra a conveniencia seleccionada para evaluar el objetivo de la investigación, se seleccionaron las pruebas estadísticas descriptivas: Media, Desviación Típica y Porcentaje y los estadísticos no paramétricos: 2, para el número de muestras filtradas por grupo y el Test Kruskal-Wallis para medir los días para que se produzca la filtración y el Test de Mann-Whitney para evaluar posibles diferencias entre el día de filtración de los materiales de obturación dos a dos, fijándose como nivel de significación: 0,05 y el rechazo de la hipótesis nula cuando el p-valor asociado al estadístico del contraste sea menor ($p < 0,05$). Para el procesamiento estadístico de los resultados se empleó el Software Estadístico SPSS® (Statistical Product and Service Solutions) para Windows, Versión 8 (SPSS Inc., Chicago, IL).(41-43)

IV. RESULTADOS

Se pudo observar que la filtración que ocurrió en las muestras del estudio piloto fue similar a la obtenida durante el experimento en sí. La microfiltración de *S. mutans* se pudo demostrar por la turbidez del medio de cultivo en la cámara inferior de las muestras. Dicha turbidez indicó la recontaminación completa del conducto radicular. Los resultados obtenidos durante el periodo de evaluación de 90 días fueron los siguientes: En el Grupo Control: el subgrupo "Control Negativo" (5 muestras) no mostró crecimiento bacteriano en la cámara inferior durante el periodo de observación. Mientras que en el

subgrupo "Control Positivo" (5 muestras) hubo crecimiento bacteriano en los primeros 7 días de observación. En el Grupo Experimental: el número mayor de muestras filtradas se observó en el subgrupo "IRM" (10 muestras) un 100%, seguidas por el subgrupo "CAVIT" con (6 muestras) un 60% y el subgrupo ionómero de vidrio "FI" con (4 muestras) un 40% (Tabla I y Gráfico 1). Al finalizar el período de observación, se verificó la existencia de diferencia significativa en cuanto al número de muestras filtradas ($p < 0,05$), utilizando la prueba estadística 2. En la Tabla II se presenta el número de muestras empleadas, el número de muestras filtradas, el porcentaje de muestras filtradas para cada grupo y los rangos de días de la filtración. Seguidamente se puede observar en la Tabla III, el número de muestras empleadas por tipo de material de obturación y el total de muestras filtradas según el día en que ocurrió la filtración. En la Tabla IV, se puede observar el número de muestras filtradas y el promedio de días de la filtración. En el Grupo Experimental, el promedio de días de la filtración fue 25,4 días para el subgrupo "IRM", 28,67 días para el subgrupo "CAVIT" y 56,75 días para el subgrupo "FI". En el Grupo Control, el subgrupo "Control Positivo" mostró un promedio de 3 días para la filtración. En la Tabla V y Gráfico 2 se puede observar el día máximo, medio y mínimo donde ocurrió la filtración para cada Grupo: Experimental y de Control. Al comparar la distribución del día de la filtración, según tipo de material de obturación provisional, se puede apreciar en la Tabla VI, correspondiente al resultado de procesar los datos del día de la filtración de las diferentes muestras que evidenciaron penetración bacteriana, empleándose la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, que las diferencias de los Rangos Promedios de los 3 subgrupos no son significativas, situación que se corrobora al determinarse que el p-valor asociado al estadístico de contraste es $p = 0,133$ mayor que 0,05 ($p > 0,05$). En consecuencia, se concluye que al nivel de significación 0,05 se acepta la hipótesis nula que la distribución del día de la filtración es la misma según el material de obturación empleado. Por otra parte, al evaluar las posibles diferencias entre el día de filtración de los materiales de obturación dos a dos, empleando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, se determinó que entre las combinaciones "IRM" vs. "CAVIT" y "CAVIT" vs. "FI" no existe diferencia entre el día de la filtración al obtenerse $p = 1$ y $p = 0,285$ ($p > 0,05$), respectivamente. Sin embargo, para el caso de "IRM" vs. "FI", si se verificó la existencia de diferencias estadísticamente significativa $p = 0,023$ ($p < 0,05$).

Tabla I.
Número de muestras obturadas, filtradas y porcentaje de muestras filtradas

Grupo %	Muestras		Porcentaje de Muestras Filtradas
	Obturadas	Filtradas	
Experimental			
Total	30	20	66,7
"IRM"	10	10	100,0
"CAVIT"	10	6	60,0
"FI"	10	4	40,0
Control			
Total	10	5	50,0
"Control Positivo"	5	5	100,0
"Control Negativo"	5	0	0,0

Gráfico 1.
Número de muestras filtradas por grupo

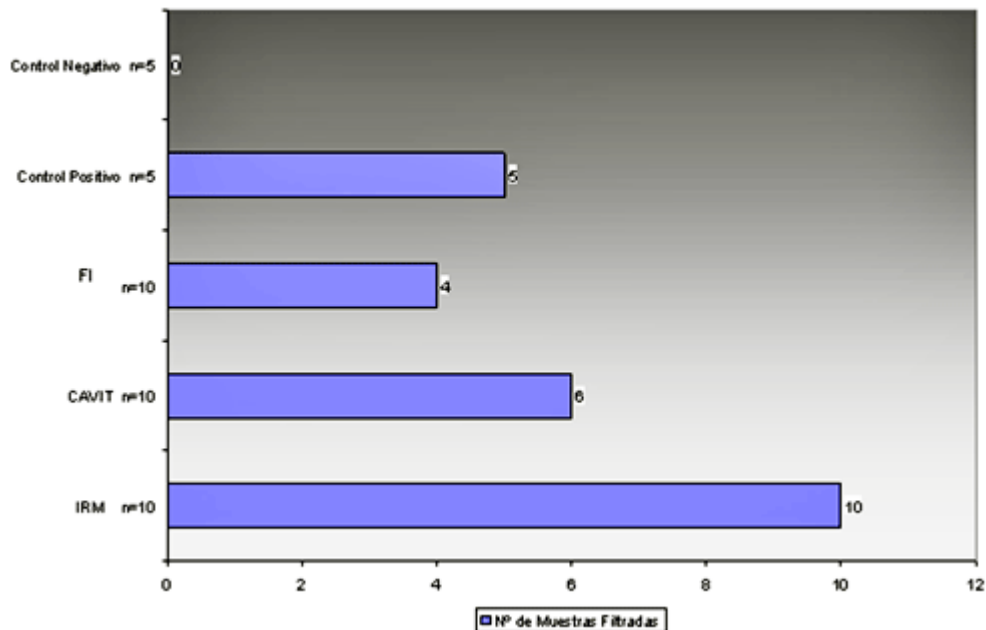


Tabla II.
Muestras obturadas, filtradas, porcentaje de muestras filtradas y rango de días de la filtración

Grupo	Muestras		%	Rango de días de la Filtración
	Obturadas	Filtradas		
Experimental				
Total	<u>30</u>	<u>20</u>	<u>66,7</u>	
"IRM "	10	10	100,0	1 - 57
"CAVIT"	10	6	60,0	1 - 74
"FI"	10	4	40,0	35 - 68
Control				
Total	<u>10</u>	<u>5</u>	<u>50,0</u>	
"Control Positivo"	5	5	100,0	1 - 7
"Control Negativo"	5	0	0,0	-

Tabla III.
Distribución de las muestras obturadas y filtradas por tipo de material de obturación provisional, según el número del día en que ocurrió la filtración

Grupo	Total de Muestras		D í a del F i l t r a d o															
	Obturadas	Filtradas	1	2	4	5	7	12	14	27	35	47	57	60	64	67	68	74
Experimental																		
Total	30	20																
"IRM "	10	10	2	1			1	2			2	2						
"CAVIT"	10	6	2	1						1						1		1
"FI"	10	4									1			1	1			1
Control																		
"Positivo"	5	5	3			1	1											
"Negativo"	5	0	*															

* No se filtró ninguna muestra durante el período de observación.

Tabla IV.
Número de muestras filtradas por grupo y promedio del día de la filtración

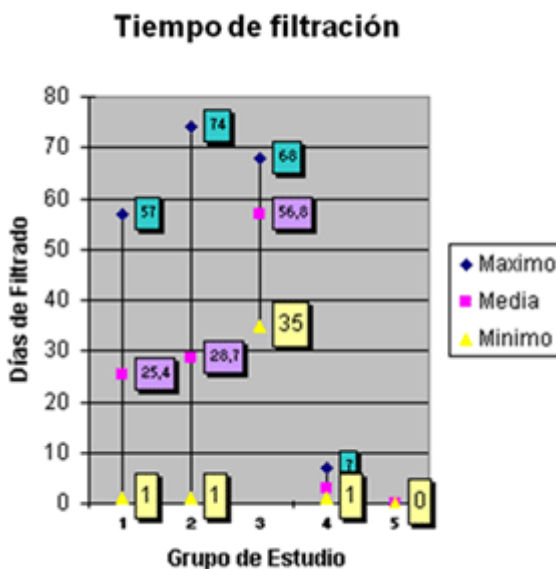
Grupo	Nº de Muestras Filtradas/ Nº de Muestras	Promedio del Día de Filtrado
Experimental		
"IRM"	10 / 10	25,4
"CAVIT"	6 / 10	28,7
"FI"	4 / 10	56,8
Control		
"Positivo"	5 / 5	3,0
"Negativo"	*	0

*: No se filtró ninguna muestra durante el período de observación.

Tabla V.
Muestras filtradas por grupo: experimental y control, según el día: máximo, medio y mínimo donde ocurrió la filtración

Muestras Filtradas y Día de la Filtración	G r u p o				
	E x p e r i m e n t a l		C o n t r o l		
	"IRM"	"CAVIT"	"FI"	"Positivo"	"Negativo"
Muestras Filtradas	<u>10</u>	<u>6</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>0</u>
Día de la Filtración:					
Máximo	57	74	68	7	0
Medio	25,4	28,7	56,8	3	0
Mínimo	1	1	35	1	0

Gráfico 2.
Día máximo, medio y mínimo de la filtración por grupo



Grupo de Estudio
 Experimental: 1: "IRM" 3: "FI"
 2: "CAVIT"
 Control: 4: Positivo 5: Negativo

Tabla VI.
Distribución del día de filtración, según el tipo de material de obturación provisional

Material de Obturación Provisional	Total de Muestras Filtradas 1/	Rango Promedio Día del Filtrado 2/
"IRM "	10	8,90
"CAVIT "	5	9,67
"FI"	4	15,75

$P=1,00$ (between IRM and CAVIT)
 $p=0,283$ (between CAVIT and FI)
 $p=0,023$ (overall comparison)

1/ Resultados de la Prueba no paramétrica "Mann-Whitney
 2/ Resultados de la Prueba no Paramétrica "Kruskal-Wallis", ($p > 0,05$)

V. DISCUSIÓN

Numerosos estudios han puesto de manifiesto la importancia de la microfiliación coronaria, al señalar que la pérdida del sellado coronario provee una vía para la contaminación microbiana de los dientes tratados endodómicamente, lo cual pudiera conllevar al fracaso del tratamiento. (4,44,45) Las causas potenciales de contaminación coronaria del conducto son, entre otras, el retraso en la colocación de la restauración definitiva, la fractura de la restauración coronaria y del diente, el espesor inadecuado del material de obturación provisional y la preparación del espacio para pernos con inadecuada obturación apical remanente. (44) También, la caries de recidiva y las restauraciones con un sellado marginal inadecuado pueden permitir la microfiliación coronaria. (28) Al evaluar la microfiliación coronaria a través de conductos radiculares obturados, en ausencia de material de obturación provisional, ha quedado demostrado la incapacidad de los materiales de obturación radicular para prevenir la microfiliación microbiana. (4,39,46,47) Asimismo, se ha evaluado la capacidad de sellado de diversos materiales de obturación provisional en dientes tratados endodómicamente con diferentes métodos de experimentación, como: filtración de tinta, (5,6,7) radioisótopos, (8) filtración de bacterias (1,9-14) y medición de filtración de fluidos bajo presión. (15,16) Wu y Wesselink (48) señalan que los métodos de filtración son métodos aceptables para comparar la capacidad de sellado de materiales de obturación, aunque no existe un modelo universalmente aceptado. También señalan que se debe hacer mayor revisión sobre la metodología de los estudios de microfiliación. Hay autores que afirman que la filtración bacteriana es un método biológico mucho más apropiado para conducir una prueba de microfiliación. (10,21,49) Además se piensa que es más pertinente la utilización de microorganismos que radioisótopos o tinta porque estos últimos pueden revelar mayor percolación por el tamaño de sus moléculas y acción capilar que la filtración de microorganismos y sus productos. (50) En la presente investigación se evaluó la capacidad de sellado de IRM®, Cavit® e ionómero de vidrio GC Fuji I®, a la filtración bacteriana en dientes humanos extraídos, tratados endodómicamente. Se utilizó una cepa de *S. mutans* como indicador de la microfiliación bacteriana, es un coco, no móvil, anaerobio facultativo. Se seleccionó dicho microorganismo porque es una bacteria común de la cavidad bucal (29) y se ha demostrado que penetra a lo largo de la obturación del conducto radicular, en estudios previos. (12,20,51,52) Aunque no es frecuentemente aislado desde los conductos radiculares. (53) Se utilizaron dientes naturales para representar mejor una situación clínica. Las variaciones en la anatomía del sistema de conductos y consecuente dificultad en la preparación y obturación, podría influir en las variaciones de la microfiliación. (54) Se realizó la remoción de la capa de desecho, debido a que algunos autores señalan su influencia en la disminución de la microfiliación coronaria. (55-59) En esta investigación las muestras fueron sometidas a termociclado para simular alguno de los estrés a que están sometidos los materiales de obturación provisional en la cavidad bucal y que puede afectar el sellado, pero no fueron sometidos a cargas cíclicas a pesar de que se ha señalado que la masticación tiene una alta influencia sobre la integridad de los materiales de obturación y de restauración, inclusive mayor que el estrés térmico al cual son sometidos *in vivo* (60), quizás esto pudiera influir en los resultados.

Por otra parte, pudiera pensarse en la existencia de un incremento en la permeabilidad y por tanto de la microfiliación al cortar los dientes para estandarizar la longitud de las raíces, exponiendo una porción de dentina. (33) Sin embargo, Fox y Guttridge (61) afirman que al estandarizar las condiciones de cada muestra, el potencial para la microfiliación coronaria hacia los túbulos dentinarios así como hacia los conductos radiculares podría ser similar. Se seleccionaron como materiales de obturación provisional para el sellado coronario los cementos IRM®, Cavit® e ionómero de vidrio GC Fuji I® por ser de los materiales de obturación provisional más comúnmente utilizados. (15,29,65) En este estudio se demostró que *S. mutans* fue capaz de penetrar a través del IRM® en un 100% de las muestras en un promedio de 25,4 días. A través del Cavit® en un 60% de las muestras en un promedio de 28,7 días y a través del ionómero de vidrio GC Fuji I® en un 40% de las muestras en un promedio de 56,8 días. Desde el punto de vista estadístico no hubo diferencia significativa entre los tres subgrupos de materiales en cuanto al día de filtración. Al compararlos dos a dos solo hubo diferencias significativas entre el IRM® y GC Fuji I®. Al igual que Imura *et al.*, (1) esto confirma que los microorganismos pueden penetrar a través de diferentes materiales de obturación provisional y conductos bien obturados. De ahí la importante de tratar de determinar la capacidad de sellado, en el tiempo, de diferentes materiales de obturación provisional que le permita al clínico orientarse en su actividad clínica; a pesar de que se trate de estudios *in vitro* y lo más recomendado sería la realización de más estudios *in vivo*. En la literatura los resultados sobre la capacidad de sellado del IRM® son controversiales, mientras que un grupo de investigadores señala su efectiva calidad de sellado, (62,63) otros describen su incapacidad para prevenir la microfiliación. (15,49) Dicha incapacidad,

coincidió con los resultados obtenidos en este estudio, que con el IRM® no se logró prevenir la microfiltración de *S. mutans* y hubo un 100% de muestras filtradas. Esto pudiera deberse al termociclado a que fueron sometidas las muestras, puesto que, la capacidad de sellado del IRM® puede verse afectada al ser sometido a cambios térmicos.(49,65,66)

Esto ha sido atribuido a la inestabilidad dimensional del material.(67) En cuanto a el Cavit®, se considera que posee excelentes propiedades de sellado debido a su expansión higroscópica lineal.(66) Se considera superior al IRM® en la prevención de la microfiltración bacteriana.(48) En el presente estudio un 60% de las muestras presentaron microfiltración a los 90 días de observación. Por su parte, Imura *et al.*(1) observaron en su estudio que ni el IRM® ni el Cavit® fueron capaces de prevenir la microfiltración de microorganismos en un periodo de 22 días; al comparar sus resultados con los resultados de esta investigación a los 22 días, se observó que con ambos materiales había microfiltración, sin embargo hubo 6 muestras filtradas con IRM®, mientras que hubo solo 3 muestras filtradas con Cavit®. Por su parte, Balto,(22) al evaluar el Cavit® y el IRM® por 30 días, observó que con el IRM® se inició la microfiltración antes que con el Cavit®, mientras que en el presente estudio no hubo diferencias en lo que respecta al inicio de la microfiltración entre estos dos materiales; sin embargo, sí hubo diferencias al compararlos con el cemento de ionómero de vidrio, cuyas muestras iniciaron la microfiltración a los 35 días. De los tres materiales evaluados en el presente estudio con el cemento de ionómero de vidrio GC Fuji I® se observó la mayor capacidad de sellado. Sólo 4 de 10 muestras presentaron microfiltración durante el periodo de observación, 90 días. El cemento de ionómero de vidrio es conocido por su adhesión a la estructura dentaria, (67,68) lo cual puede ser una explicación para estos resultados, además del efecto del fluoruro sobre el metabolismo de *S. mutans* (69) y al bajo pH inicial del material, que se ha relacionado con la inhibición del crecimiento de *S. mutans*;(70) microorganismo utilizado en el presente estudio como marcador microbiológico. Estos resultados coinciden con los de otros estudios, que demuestran que con el cemento de ionómero de vidrio se logra una efectiva barrera, por 30 días(12); por 60 días(13); por 90 días(11), en estos estudios utilizaron para medir la microfiltración, filtración de microorganismos, sin embargo, los resultados de otros estudios de microfiltración donde el ionómero de vidrio presentó igual microfiltración que otros materiales,(36) utilizaron como indicador de microfiltración, el nitrato de plata, por lo que se piensa que la diferencia al comparar los resultados puede ser debido a diferencias en la metodología.

En el presente estudio se demostró que *S. mutans* es capaz de penetrar a través de los materiales de obturación provisional IRM®, Cavit® e ionómero de vidrio GC Fuji I® y a través del material de obturación de los conductos radiculares. En todos los subgrupos se observó microfiltración microbiana. Al comparar estos resultados con los del estudio de Barthel *et al.* (12) se observó que los resultados fueron similares en cuanto al IRM® y al Cavit®, sin embargo, el cemento de ionómero de vidrio no mostró microfiltración, quizás debido a que el estudio se realizó en 30 días(12) y el presente trabajo en 90 días, iniciándose la microfiltración de las muestras selladas con ionómero de vidrio en el día 35. La presencia de microfiltración coronaria aun en presencia de materiales de obturación provisional, podría alertar al clínico en cuanto a la necesidad de una restauración definitiva lo antes posible después de la obturación del sistema de conductos radiculares. (11) Se pudiera sugerir la utilización de selladores adhesivos que pudieran jugar un importante papel en la disminución de la microfiltración microbiana.(44) Pareciera que los cementos de ionómero de vidrio y sistemas de resinas adhesivas son materiales prometedores para prevenir la microfiltración microbiana.(11)Podría especularse que *in vitro* los estudios sobre microfiltración microbiana pueden no dar una imagen exacta del tiempo requerido para la contaminación, comparado con situaciones clínicas.(9) Podría además pensarse que las defensas del cuerpo pueden eliminar bajo número de bacterias sin desencadenar una inflamación severa.(71) Es importante señalar que en este estudio *in vitro* no se pretende ni se puede duplicar las condiciones tan complejas que se producen en la cavidad bucal y en el diente.

VI. CONCLUSIONES

En base a las condiciones en las cuales se realizó esta investigación podemos concluir lo siguiente:

1. Los tres materiales de obturación provisional evaluados (IRM®, Cavit® y GC Fuji I®) permitieron la microfiltración de *S. mutans*. La microfiltración ocurrió a través de los materiales de obturación provisional y a través del material de obturación de los conductos radiculares.
2. Al comparar, en un periodo de 90 días, el número de muestras filtradas por *S. mutans*, en cada subgrupo experimental ("IRM", "CAVIT" y "FI"), se encontró que hubo diferencia estadísticamente significativa entre ellos. El porcentaje de muestras filtradas en el subgrupo "IRM" fue de un 100%, en el subgrupo "CAVIT" fue de un 60% y en el subgrupo "FI" fue de un 40%.
3. Al comparar los tres subgrupos experimentales ("IRM", "CAVIT" y "FI") en relación al día en que ocurrió la filtración de *S. mutans*, se encontró que no hubo diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, al comparar los subgrupos dos a dos, en cuanto al día en que ocurrió la filtración, hubo diferencia estadísticamente significativa entre los subgrupos "IRM" y "FI". El promedio de días de la filtración fue de 25,4 días para el subgrupo "IRM", 28,67 días para el subgrupo "CAVIT" y 56,75 días para el subgrupo "FI".

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la realización de estudios *in vitro* en los cuales, al preparar las muestras para comparar la capacidad de sellado de los materiales de obturación provisional, no solo sean sometidos a termociclado sino también a cargas cíclicas, así como también tratar de evitar la exposición de dentina al estandarizar la longitud de las muestras.
2. Dada la imposibilidad para reproducir las condiciones clínicas tan complejas de la cavidad bucal en un estudio *in vitro*, se recomienda la realización de estudios *in vivo*.

VIII. REFERENCIAS

1. Imura N, Otani SM, Campos MJA, Jardim EG, Zuolo ML. Bacterial penetration through temporary restorative materials in root-canal-treated teeth *in vitro*. International Endodontic Journal 1997; 30: 381- 385.
2. Swanson K, Madison S. A evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part I. Time periods. Journal of Endodontics 1987; 13 (2): 56- 59.
3. Magura ME, Kafrawy AH, Brown CE. Human saliva coronal microleakage in obturated root canals: an *in vitro* study. Journal of Endodontics 1991; 17 (7): 324- 331.
4. Torabinejad M, Kettering JD. *in vitro* bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. Journal of Endodontics 1990; 16 (12): 566- 569.
5. Grossman L. A study of temporary fillings as hermetic sealing agents. Journal of Dental Research 1939; 18: 67- 71.
6. Roghanizad N, Jones JJ. Evaluation of coronal microleakage after endodontic treatment. Journal of Endodontics 1996; 22 (9): 471- 473.
7. Uranga A, Blum J-Y, Esber S, Parahy E, Prado C. A comparative study of four coronal obturation materials in endodontic treatment. Journal of Endodontics 1999; 25 (3): 178- 180.
8. Marosky JE, Patterson SS, Swartz M. Marginal leakage of temporary sealing materials used between endodontic appointments and assessed by calcium 45-an *in vitro* study. Journal of Endodontics 1977; 3 (3): 110- 113.
9. Barthel CR, Zimmer S, Wussogk R, Roulet JF. Long-term bacterial leakage along obturated roots restored with temporary and adhesive fillings. Journal of Endodontics 2001; 27 (9): 559- 562.
10. Blaney TD, Peters DD, Sellerstrom J, Bernier WE. Marginal sealing quality of IRM and Cavit as assessed by microbial penetration. Journal of Endodontics 1981; 7 (10): 453- 457.
11. Tselnik M, Baumgartner JC, Marshall JG. Bacterial leakage with mineral trioxide aggregator a resin-modified glass ionomer used a coronal barrier. Journal of Endodontics 2004; 30 (11): 782- 784.
12. Barthel CR, Strobach A, Briedigkeit H, Gobel UB, Roulet JF. Leakage in roots coronally sealed with different temporary filling. Journal of Endodontics 1999; 25(11): 731- 734.
13. Chailertvanitkul P, Saunders WP, Saunders EM, Mackenzie D. An evaluation of microbial coronal leakage in the restored pulp chamber of root-canal treated multirooted teeth. International Endodontic Journal 1997; 30: 318- 322.
14. Mavec JC, McClanaban SB, Minab GE, Johnson JD, Blundell RE. Effects of an intracanal glass ionomer barrier on coronal microleakage in teeth with post space. Journal of Endodontics 2006; 32 (2): 120- 122.

15. Bobotis HG, Anderson RW, Pashley DH, Pantera EA. A microleakage study of temporary restorative materials used in endodontics. *Journal of Endodontics* 1989; 15 (12): 569- 572.
16. Derkson GD, Pashley DH, Derkson ME. Microleakage measurement of selected restorative materials: a new *in vitro* method. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1986; 56 (4): 435- 440.
17. CVCM Centro Venezolano de Colección de Microorganismos. Catálogo 2000. 4ta ed. Ediciones CVCM. Caracas, Venezuela.
18. Chailertvanitkul P, Saunders WP, Mackenzie D. The effect of smear layer on microbial coronal leakage of guta-percha root fillings. *International Endodontic Journal* 1996; 29: 242- 248.
19. Chailertvanitkul P, Saunders WP, Mackenzie D, Weetman DA. An *in vitro* study of the coronal leakage of two root canal sealers using an obligate anaerobe microbial marker. *International Endodontic Journal* 1996; 29: 249- 255.
20. Shipper G, Trope M. *in vitro* microbial leakage of endodontically treated teeth using new and standard obturation techniques. *Journal of Endodontics* 2004; 30 (3): 154- 158.
21. Krakow AA, deSoppelaar JD, Gron P. *in vivo* study of temporary filling materials used in endodontics in anterior teeth. *Oral Surgery* 1977; 43 (4): 615- 620.
22. Balto H. An assessment of microbial coronal leakage of temporary filling materials in endodontically treated teeth. *Journal of Endodontics* 2002; 28 (11): 762- 764.
23. Noguera AP, McDonald NJ. A comparative *in vitro* coronal microleakage study of new endodontic restorative materials. *Journal of Endodontics* 1990; 16 (11): 523- 527.
24. Mortensen DW, Boucher NE, Ryge G. A method of testing for marginal leakage of dental restorations with bacteria. *Journal of Dental Research* 1965; 44 (1): 58- 63.
25. Shipper G, Orstavik D, Batesta F, Trope M. An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). *Journal of Endodontics* 2004; 30 (5): 342- 347.
26. Alves J, Walter R, Drake D. Coronal leakage: endotoxin penetration from mixed bacterial communities though obturated post-prepared root canals. *Journal of Endodontics* 1998; 24 (9): 587- 591.
27. Guerra JA, Skribner JE, Lin LM. Influence of a base on coronal microleakage of post-prepared teeth. *Journal of Endodontics* 1994; 20 (12): 589-591.
28. Wolanek GA, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, Volkmann KR. *in vitro* bacterial penetration of endodontically treated teeth coronally sealed with a dentin bonding agent. *Journal of Endodontics* 2001; 27 (5): 354- 357.
29. Deveaux E, Hildelbert P, Neut C, Romond C, Charles R. Bacterial microleakage of Cavit, IRM, TERM, and Fermit: a 21-day *in vitro* study. *Journal of Endodontics* 1999; 25 (10): 653- 659.
30. Webber RT, del Rio CE, Brady JM, Segall RO. Sealing quality of a temporary filling material. *Oral Surgery* 1978; 46 (1): 123- 130.
31. Beach CW, Calhoun JC, Bramwell JD, Hutter JW, Miller GA. Clinical evaluation of bacterial leakage of endodontic temporary filling materials. *Journal of Endodontics* 1996; 22(9): 459- 462.
32. Timpawat S, Amornchat C, Triuwa W. Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. *Journal of Endodontics* 2001; 27 (1): 36-39.
33. Hansen SR, Montgomery S. Effect of restoration thickness on the sealing ability of Term. *Journal*

- of Endodontics 1993; 19 (9): 448- 452.
34. Tamse A, Ben-Amar A, Gover A. Sealing properties of temporary filling materials used in endodontics. *Journal of Endodontics* 1982; 8 (7): 322- 325.
 35. Pai S-F, Sue W-L, Chuch L-H, Rivera EM. Microleakage between endodontic temporary restorative materials place at defferent times. *Journal of Endodontics* 1999; 25 (6): 453- 456.
 36. Wilcox LR, Diaz-Arnol A. Coronal microleakage of permanent lingual access restorations in endodontically treated anterior teeth. *Journal of Endodontics* 1989; 15 (12): 584- 587.
 37. Goldman LB, Goldman M, Kronman JH, Letourneau JM. Adaptation and porosity of poly-Hema in a model system using two microorganismos. *Journal of Endodontics* 1980; 6 (8): 683- 686.
 38. Siqueira JF, Rocas IN, Lopes HP, Uzeda M. Coronal leakage of two root canal sealers containing calcium hydroxide after exposure to human saliva. *Journal of Endodontics* 1999; 25 (1): 14- 16.
 39. Khayat A, Lee S-J, Torabinejad M. Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. *Journal of Endodontics* 1993; 19 (9): 458- 461.
 40. Barnes DM, Blank LW, Gingell JC, Gilner PP. A clinical evaluation of a resin-modified glass ionomer restorative material. *Journal of the American Dental Association* 1995; 126: 1245- 1253.
 41. Felix L, Seijas Z. Investigación por muestreo. 2da ed. Caracas: Ediciones Faces/UCV; 1995. p. 75-132.
 42. Ferrán M. SPSS para windows. Analisis estadístico. 2da ed. España: Editorial Mc GrawHill; 2001. p.77-83.
 43. Visauta V. SPSS para windows. Estadística básica. 2da ed. España: Editorial McGraw-Hill; 2000.
 44. Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endodontics and Dental Traumatology* 1994; 10: 105-108.
 45. Madison S, Swanson K, Chiles SA. An evaluation of coronal microleakage in end odontically treated teeth. Part II. Sealer types. *Journal of Endodontics* 1987; 13 (3): 109- 112.
 46. Gish SP, Drake DR, Walton RE, Wilcox L. Coronal leakage: bacterial penetration through obturated canals following post preparation. *Journal of the American Dental Association* 1994; 125: 1369- 1372.
 47. Carman JE, Wallace JA. An *in vitro* compararison of microleage of restorative materials in the pulp chambers of human molar teeth. *Journal of Endodontics* 1994; 20 (12): 571- 575.
 48. Wu M-K, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology application and relevance. *Intrnational Endodontic Journal* 1993; 26: 37- 43.
 49. Deveaux E, Hildelbert P, Neut C, Bonifasce B, Romond C. Bacterial microleakage of Cavit, IRM, and TERM. *Oral Suegery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1992; 74 (5): 634- 643.
 50. Keller DL, Peters DD, Setterstrom J, Bernier WE. Microleakage of softened temporary restorations as determined by microorganism penetration. *Journal of Endodontics* 1981; 7 (9): 413- 417.
 51. Leonardo MR, da Silva LAB, Filho MT, Bonifacio KC, Ito IY. *in vitro* evaluación of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *Journal of Endodontics* 2000; 26 (7); 391-

- 394.
52. Kaplan AE, Ormaechea FM, Picca M, Canzobre MC, Ubios MA. Rheological properties and biocompatibility of endodontic sealers. *International Endodontic Journal* 2003; 36: 527- 532
 53. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiology and Immunology* 1992; 7: 257-262.
 54. Pathomvanich S, Edmunds DH. Variation in the microleakage produced by four different techniques in root filling in a simulated root canal model. *International Endodontic Journal* 1996; 29: 159- 162.
 55. Karagöz-Kücükay I, Bayirli. An apical leakage study in the presence and absence of the smear layer. *International Endodontic Journal* 1994; 27: 87- 93.
 56. Saunders WP, Saunders EM. Influence of smear layer on the coronal leakage of Termafil and laterally condensed gutta-percha root fillings with a glass ionomer sealer. *Journal of Endodontics* 1994; 20 (4): 155- 158.
 57. Taylor JK, Jeansonne BG, Lemon RR. Coronal leakage: effects of smear layer, obturation technique, and sealer. *Journal of Endodontics* 1997; 23 (8): 508- 512.
 58. Saunders WP, Saunders EM. The effect of smear layer upon the coronal leakage of gutta-percha root fillings and a glass ionomer sealer. *International Endodontic Journal* 1992; 25: 245- 249.
 59. Cobankara FK, Adanir N, Belli S. Evaluation of the influence of smear layer on the apical and coronal sealing ability of two sealers. *Journal of Endodontics* 2004; 30 (6): 406- 409.
 60. Qvist V. The effect of mastication on marginal adaptation of composite restorations *in vivo*. *Journal of Dental Research* 1983; 62 (8): 904- 906.
 61. Fox K, Gutleridel DL. An *in vitro* study of coronal microleakage in root canal-treated teeth restored by the post and core technique. *International Endodontic Journal* 1997; 30: 361-368.
 62. Jacquot BM, Panighi MM, Eteinmtz P, G'sell C. Evaluation of temporary restorations microleakage by means of electrochemical impedance measurements. *Journal of Endodontics* 1996; 22 (11): 586- 589.
 63. Jacquot BM, Panighi MM, G'sell C. Microleakage of Cavit, Cavit W, Cavit G and IRM by impedance spectroscopy. *International Endodontic Journal* 1996; 29: 256- 261.
 64. Anderson RW, Powell BJ, Pashley DH. Microleakage of IRM® used to restore endodontic access preparations. *Endodontics and Dental Traumatology* 1990; 6: 137- 141.
 65. Parris L, Kapsimalis P. The effect of temperature change on the sealing properties of temporary filling materials. Part I. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1960; 13 (8): 982- 989.
 66. Gilles JA, Huget EF, Stone RC. Dimensional stability of temporary restoratives. *Oral Surgery* 1975; 40 (6): 796- 800.
 67. Edelberg MH. Ionómeros vítreos y compómeros. En Mooney JB. *Operatoria dental*. 3era ed. Buenos Aires: Medico-Panamericana; 1999. p. 635- 654.
 68. Charbeneau GT, Bozell RR. Clinical evaluation of a glass ionomer cement for restoration of cervical erosion. *Journal of the American Dental Association* 1979; 98: 936- 939.
 69. Tanzer JM. Microbiology of dental caries. En Slots J, Taubman M. *Contemporary oral*

microbiology and immunology. St. Louis Missouri: Mosby Year Book; 1992. p.377- 423.

70. Miyazaki M, Iwasaki K, Soyamura T, Onose H, Moore BK. Resin-modified glass ionomers: dentin bond strength versus timen. Operative Dentistry 1998; 23: 144- 149.
71. Friedman S, Torneck CD, Komorowski R, Ouzounian Z, Syrtash P, Kaufman A. *in vivo* model for assessing the functional efficacy of endodontic filling materials and techniques. Journal of Endodontics 1997; 23 (9): 557- 561.