
CORONAL MICROLEAKAGE OF *ENTEROCOCCUS FAECALIS* IN THREE TYPES OF ENDODONTIC FILLING (WARM VERTICAL COMPACTION, LATERAL COMPACTION, AND SINGLE CONE)

MICROFILTRACIÓN CORONAL DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* EN TRES TIPOS DE OBTURACIÓN ENDODÓNTICA (COMPACTACIÓN VERTICAL CALIENTE, COMPACTACIÓN LATERAL Y CONO ÚNICO)

JAIME ALBERTO RENDÓN GÓMEZ¹, PATRICIA BERMÚDEZ REYES²,

JOSÉ DANIEL CANO PÉREZ³, MIGUEL ÁNGEL URREGO ARAQUE⁴

ABSTRACT. Introduction: the adequate sealing of endodontic fillings is critical for a successful treatment, as it prevents the entry of microorganisms and/or their growth in case they persist within the root system. The purpose of this study was to determine bacterial microleakage time in root canals filled with the lateral compaction, warm vertical compaction, and single cone techniques. **Methods:** 30 single-rooted teeth extracted from humans were randomly distributed into three experimental groups (n = 8); positive and negative controls were also used (n = 6). Teeth were prepared with the corono-apical ProTaper Universal technique and obturations were performed using lateral compaction, warm vertical compaction (System B – Obtura II) and single cone. Top Seal resin-based cement was used in the three groups. *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) microleakage was assessed every 24 hours for 30 days using the dual chamber model, with the lower chamber containing a pH indicator in the culture medium, which showed bacterial microleakage time. The data were statistically analyzed using one-way Anova test and Bonferroni and Tukey's post-tests. **Results:** the single-cone technique showed the highest level of bacterial microleakage of *E. faecalis* as a function of time, while lateral compaction and warm vertical compaction showed better results, with no statistically significant differences between them, being the techniques with the best sealing results against *E. faecalis* microleakage. **Conclusions:** under the conditions of this study, it can be concluded that the single-cone technique is not suitable for root canal sealing, as it does not prevent bacterial microleakage of *E. faecalis* compared to the other two techniques.

Key words: lateral compaction, warm vertical compaction, single cone, *Enterococcus faecalis*, microleakage

RESUMEN. Introducción: un adecuado sellado de la obturación endodóntica es crucial para el éxito del tratamiento, ya que impide la entrada de microorganismos y/o el crecimiento de los mismos en caso de persistir en la anatomía radicular. El propósito de este estudio fue determinar el tiempo de microfiltración bacteriana en conductos obturados con condensación lateral, condensación vertical caliente y cono único. **Métodos:** 30 dientes unirradiculares extraídos de humanos se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos experimentales (n = 8); adicionalmente, se usaron controles positivos y negativos (n = 6). Los dientes fueron conformados con técnica coronoapical ProTaper universal y las obturaciones se realizaron usando compactación lateral, compactación vertical caliente (System B - Obtura II) y cono único. Para los tres grupos se utilizó cemento resinoso Top Seal. La microfiltración con *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) se evaluó cada 24 horas por 30 días usando el modelo de doble cámara, donde la cámara inferior presentaba un indicador de pH en el medio de cultivo, el cual indicaba el momento de microfiltración bacteriana. Los datos fueron analizados estadísticamente usando el test de Anova de una vía y los postests de Bonferroni y Tukey. **Resultados:** la técnica de cono único presentó la mayor microfiltración bacteriana de *E. faecalis* en función del tiempo, mientras que las técnicas de compactación lateral y compactación vertical caliente presentaron mejores resultados, aunque entre ellas no presentaron diferencias estadísticamente significativas, siendo estas dos últimas técnicas las que mejores resultados presentaron a nivel de sellado contra la microfiltración de *E. faecalis*. **Conclusiones:** bajo las condiciones de este estudio, se puede concluir que la técnica de cono único no es adecuada para el sellado de conductos radiculares, ya que no impide la microfiltración bacteriana de *E. faecalis* en comparación con las otras técnicas.

Palabras clave: compactación lateral, compactación vertical caliente, cono único, *Enterococcus faecalis*, microfiltración.

Rendón JA, Bermúdez P, Cano-Pérez JD, Urrego-Araque MA. Coronal microleakage of *Enterococcus faecalis* in three types of endodontic filling (warm vertical compaction, lateral compaction, and single cone) [Microfiltración coronal de *Enterococcus faecalis* en tres tipos de obturación endodóntica (compactación vertical caliente, compactación lateral y cono único)]. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2017; 28(2): 278-291. DOI: 10.17533/udea.rfo.v28n2a3 URL: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n2a3>

1 DMD, CES University. Endodontist, CES University. Master's Degree in Microbiology and Bioanalysis, Universidad de Antioquia. Email: jaim0978@gmail.com

2 DMD, Universidad Central de Venezuela. Specialist in Comprehensive Dentistry for Children and Adolescents, Universidad Santa María (Caracas, Venezuela), Master's Degree in Epidemiology, CES University

3 Dental student, Universidad Cooperativa de Colombia

1 Odontólogo del CES. Endodoncista del CES. Magíster en Microbiología y Bioanálisis, Universidad de Antioquia. Correo electrónico: jaim0978@gmail.com

2 Odontólogo de la Universidad Central de Venezuela, Especialista en estomatología integral del niño y el adolescente, Universidad Santa María (Caracas, Venezuela), Magíster en epidemiología del CES.

3 Estudiante de Odontología de la Universidad Cooperativa de Colombia.

INTRODUCTION

Microorganisms are the main etiologic agent for pulp and periapical disease; therefore, one of the main objectives of the endodontic therapy is the three-dimensional sealing of the root canal with biocompatible materials¹⁻³ to prevent the entry of new microorganisms or their reproduction in the canal system. The success of the endodontic treatment depends largely on the sealing of all routes of filtration of microbial irritators, preventing reinfection within the canal system.¹ It has been reported that 40% to 60% of endodontic failures are due to poor obturations that cause microleakage.⁴

Various obturation techniques are currently available to ensure the effective sealing of root canals. However, there has been controversy around traditional techniques such as lateral compaction and warm vertical compaction, since they do not provide an airtight sealing but offer predictable outcomes.¹ Lateral compaction does not meet the requirement of providing homogeneous sealing of the root canal, unlike the warm vertical compaction technique, which provides homogeneous sealing allowing adaptation of material to the walls, and even sealing root canal irregularities.^{5, 6} The cold single-cone technique, on the contrary, is being widely used nowadays due to its simplicity and low cost, even though it does not provide a three-dimensional sealing of the root canal, in contrast to the evidence, which has demonstrated that this technique has high failure rates due to poor sealing.⁷⁻¹⁰ Dye penetration and microbial filtration are the two most common methods to evaluate microleakage of endodontic obturations,¹¹ but microbial filtration is the most relevant method, since it fits clinical conditions. This study used the dual chamber technique, a method that was first introduced by Torabinejad et al¹² (Figure 1).

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son el principal agente etiológico de la enfermedad pulpar y periapical; por lo tanto, uno de los objetivos principales de la terapia endodóntica consiste en sellar de forma tridimensional, con materiales biocompatibles, el conducto radicular,¹⁻³ para así evitar el ingreso de nuevos microorganismos o la replicación de los que quedan en el sistema de conductos. El éxito del tratamiento endodóntico depende en gran medida de la manera como se sellen todas las rutas de filtración de irritantes microbianos, impidiendo la reinfección dentro del sistema de conductos.¹ La literatura ha reportado que entre un 40 y 60% de los fracasos endodónticos se deben a deficiencias en la obturación, lo cual lleva a la microfiltración.⁴

Actualmente existen diversas técnicas de obturación para garantizar un sellado eficaz del conducto radicular. Sin embargo, las técnicas tradicionales, como la compactación lateral y la compactación vertical caliente, han sido objeto de controversia, ya que no proporcionan un sellado hermético, pero con ellas se obtiene un resultado predecible.¹ La compactación lateral no cumple el requisito de generar un sellado homogéneo del conducto radicular, contrario a la técnica de compactación vertical caliente, la cual logra un sellado homogéneo que permite la adaptación del material a las paredes, sellando incluso las irregularidades en el conducto.^{5, 6} La técnica de cono único en frío, por el contrario, está siendo ampliamente usada en nuestro medio debido a su facilidad y bajos costos, sin importar que se logre o no el sellado tridimensional del conducto radicular, lo cual va en contraposición a la evidencia, que ha demostrado que esta técnica presenta altos índices de fracaso debido a su falta de sellado.⁷⁻¹⁰ La filtración con tintes y la filtración microbiana son los dos métodos más comunes para evaluar la microfiltración de obturaciones endodónticas,¹¹ pero la filtración microbiana es el método más relevante, ya que se ajusta a las condiciones clínicas. En nuestra investigación se usó la técnica de doble cámara, método que fue introducido por primera vez por Torabinejad y colaboradores¹² (Figura 1).

Enterococcus faecalis is a Gram+ facultative anaerobe microorganism that has been widely studied in endodontics. This microorganism is linked to endodontic failure due to its morphological characteristics and virulence which allow it to survive in extreme conditions within the root canal.^{13, 14}

The purpose of this study was to evaluate bacterial microleakage of *E. faecalis* in three endodontic obturation techniques: lateral compaction, warm vertical compaction (System B and Obtura II), and single cone, searching for the technique that provides patients with the best possible root canal sealing.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of samples

Thirty caries-free premolars extracted for orthodontic reasons were used in this study. The teeth were immersed in 5.25% sodium hypochlorite (NaOCl) for 15 min to remove organic tissue from the root surface, and any remnants were removed with sterile gauze pads. The teeth were later rinsed and stored in sterile saline solution; digital x-rays were taken (Radiovisiografo Gendex, VixWin Platinum) to verify that the teeth were single-rooted and free from internal or external resorptions or calcifications. The external surface of roots was observed with a microscope to verify the absence of fractures (Medical Zumax, Jiangsu, China).

The teeth's crowns were removed with diamond discs (Miltex, Germany) and roots were standardized to a length of 10 mm. The working length was defined as 1 mm shorter with respect to the point in which the 10 K-file (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland) appeared through the apical foramen.

Enterococcus faecalis es un microorganismo Gram+ anaerobio facultativo que ha sido ampliamente estudiado en el área endodóntica. Dicho microorganismo está principalmente relacionado con los casos de fracaso endodóntico, ya que presenta características morfológicas y factores de virulencia que le permiten sobrevivir en condiciones extremas dentro del conducto radicular.^{13, 14}

El propósito de este estudio fue evaluar la microfiltración bacteriana de *E. faecalis* en tres técnicas de obturación endodóntica: la compactación lateral, la compactación vertical caliente (System B y Obtura II) y la técnica de cono único, buscando la técnica que proporcione mejor sellado del conducto radicular para nuestros pacientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los especímenes

En este estudio se utilizaron treinta dientes premolares libres de caries, extraídos por motivos ortodónticos. Los dientes se sumergieron en hipoclorito de sodio al 5,25% (NaOCl) durante 15 min para remover el tejido orgánico de la superficie radicular, y en los casos en los que quedó tejido remanente, éste se removió utilizando gases estériles. Posteriormente, los dientes fueron lavados y almacenados en solución salina estéril; además se les tomaron radiografías digitales (Radiovisiografo Gendex, VixWin Platinum), para verificar que tuvieran conducto único y que no presentaran reabsorciones internas, externas o calcificaciones. Se observó con microscopio la superficie externa de las raíces, para verificar que no presentaran fracturas (Zumax Medical, Jiangsu, China).

Las coronas de los dientes fueron removidas con discos de diamante (Miltex, Alemania) y las raíces fueron estandarizadas a una longitud de 10 mm. Se definió que la longitud de trabajo sería 1 mm más corta con respecto al punto en el cual la lima número 10 K-file (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland) aparecía por el foramen apical.

Preparation and obturation

All teeth were prepared with the ProTaper Universal (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland) corono-apical rotary technique up to file F3. During preparation, the samples were irrigated between one file and the other with 2 mL of 5.25% NaOCL. Next, the samples were irrigated with 2 mL of 17% EDTA (MDCleanser™, MetaBiomed Co. Ltd., Cheongju City, Chungbuk, Korea) for 3 minutes, followed by 5 mL of 5.25% NaOCL to remove smear layer. The root canals were finally rinsed with 5 mL of sterile saline solution and dried with sterile paper tips ProTaper F3 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). All preparations and obturations were performed by a single operator (an endodontist).

The teeth were randomly divided into three experimental groups (n = 8 each), three negative and three positive control groups (n = 6). The obturations were made in a laminar flow cabinet, under aseptic conditions, and the same sealing cement was used in all the experimental groups (Top Seal - Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland).

Lateral compaction technique

Teeth from the first group were filled using the lateral compaction technique. A ProTaper F3 cone was used as master cone and brought to the working length with sealing cement Top Seal. Lateral compaction was made using standardized digital spacers (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland), corresponding to 2% taper gutta-percha cones (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Obturations were considered complete when the spacer did not enter the root canal area (10 mm).

Vertical compaction technique

The System B (Analytic Endodontics) and Obtura II (Obtura II; Obtura Corp., Fenton, MO)

Conformación y obturación

Todos los dientes fueron preparados con técnica rotatoria corono apical Protaper Universal (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland) hasta la lima F3. Durante la conformación, se realizó irrigación entre lima y lima con 2 mL de NaOCL al 5,25%. Al concluir la conformación, se irrigó con 2 mL de EDTA al 17% (MDCleanser™, MetaBiomed Co. Ltd., Cheongju City, Chungbuk, Korea) durante 3 min, seguido por 5 mL de NaOCL al 5,25% para remover el barro dentinario. Los conductos fueron finalmente lavados con 5 mL de solución salina estéril y secados con puntas de papel estériles ProTaper F3 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Todas las preparaciones y obturaciones fueron realizadas por un solo operador (endodoncista).

Los dientes fueron divididos aleatoriamente en tres grupos experimentales (n = 8 c/u), tres grupos control positivos y tres negativos (n = 6). La obturación de los dientes se hizo en cámara de flujo laminar, bajo condiciones asépticas, y para todos los grupos experimentales se utilizó el mismo cemento sellador Top Seal (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland).

Técnica de compactación lateral

En el primer grupo, los dientes fueron obturados usando la técnica de compactación lateral; un cono Protaper F3 fue usado como cono maestro y llevado a la longitud de trabajo con cemento sellador Top Seal. La compactación lateral fue realizada utilizando espaciadores digitales estandarizados (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland), correspondientes a conos de gutapercha del 2% de conicidad (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Switzerland). La obturación fue considerada completa cuando el espaciador no logró entrar en el espacio del conducto (10 mm).

Técnica de compactación vertical

Se utilizó la técnica de compactación vertical caliente System B (Analytic Endodontics) y Obtura II (Obtura II;

warm vertical compaction technique was used. A ProTaper F3 cone was used as master cone and brought to the working length with sealing cement. Then, System B was used for obturation of the 3 apical millimeters, removing the heat source and conducting vertical compaction with a manual compactor (Machtou's heat-carrier pluggers; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Finally, obturation of the middle and coronal third was completed with the gutta-percha injection system Obtura II up to 10 mm of root length.

Single-cone technique

A ProTaper F3 cone was used as master cone and brought to the working length with sealing cement; it was sectioned at 10 mm, by the site of root end. Three teeth were used for the negative control, which were prepared but did not receive any type of obturation neither were inoculated with the microorganism; three teeth were also used for the positive control, and these were prepared but did not receive any type of obturation and were inoculated with the microorganism.

All teeth were stored at 37 °C and 100% humidity for 8 hours as recommended by the manufacturer to achieve hardening of the Top Seal sealing cement prior to the experiment.

Microleakage test

Preparation of the sample

The dual chamber technique was used for microleakage testing. Plastic tubes were selected for this model. The plastic tubes were chemically sterilized with Alkacime for 30 min and ultraviolet light for 30 min. They were later thoroughly rinsed with sterile saline solution to avoid remnants of Alkacime. In addition, the teeth were sterilized in an autoclave, in individual packages at 121 °C for

Obtura Corp., Fenton, MO). Un cono Protaper F3 fue usado como cono maestro y llevado a la longitud de trabajo con cemento sellador. Luego se utilizó el System B para realizar la obturación de los 3 mm apicales, se removió la fuente de calor y se realizó compactación vertical con un compactador manual (Machtou's heat-carrier pluggers; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Finalmente, se hizo la obturación del tercio medio y coronal con el sistema de inyección de gutapercha Obtura II hasta llegar a los 10 mm de longitud de la raíz.

Técnica de cono único

Un cono Protaper F3 fue usado como cono maestro y fue llevado a la longitud de trabajo con cemento sellador; se hizo el recorte de este a 10 mm, sitio donde terminaba la raíz. Para los controles negativos se usaron tres dientes, los cuales fueron conformados pero no recibieron ninguna obturación y tampoco fueron inoculados con el microorganismo; para el control positivo también se usaron tres dientes, los cuales fueron conformados en sus conductos, pero no recibieron ninguna obturación y fueron inoculados con el microorganismo.

Todos los dientes se almacenaron a 37 °C y 100% de humedad durante 8 horas, como recomienda el fabricante para lograr el fraguado del cemento de obturación Top Seal antes de realizar el experimento.

Prueba de microfiltración

Preparación de la muestra

La técnica de doble cámara fue utilizada para hacer la prueba de microfiltración. Para el desarrollo del modelo, se seleccionaron tubos plásticos, los cuales fueron esterilizados químicamente con Alkacime por 30 minutos y luz ultravioleta por 30 minutos. Posterior al Alkacime, fueron lavados abundantemente con solución salina estéril, para evitar que quedaran residuos de esta sustancia; adicionalmente, los dientes fueron esterilizados en autoclave, en paquetes individuales a 121 °C por

50 min. Epoxy resin was used to seal the periphery of teeth, except for the last 3 mm, to avoid microleakage through sites other than the apical third.

Bacterial filtration technique

Teeth were placed in plastic tubes, using the lower and upper chamber method (Figure 1). The periphery of the union of tooth and vial was sealed with acrylic to prevent microfiltration. Before inserting each tooth, the vial's lower chamber was filled with 4.8 ml of BHI broth (Merck Eurolab, Darmstadt, Germany), which contained phenol red marker and covered the 3 apical millimeters of samples. An ATCC 29212 *E faecalis* strain was used as microleakage marker. The strain was isolated in Tryptic Soy Agar (TSA), preparing suspensions in BHI, which were adjusted by spectrophotometer to 0.5 McFarland (1.5×10^8 UFC/mL). Based on this suspension, and after 5 hours, to get a microorganism in its most active phase and verify sterility of vials and teeth, 2 ml were inoculated in the upper chamber and teeth were incubated at 37 °C. The culture medium of the upper chamber was changed every 48 hours until showing signs of microfiltration, so samples were evaluated visually every 24 hours.

Microleakage was assessed based on color change of the medium in the lower chamber from red to yellow. The entire process of culture mediums assembly and union of teeth to vials was conducted in a laminar flow cabinet to ensure aseptic conditions.

This project was submitted to the Universidad Cooperativa de Colombia Bioethics Committee, which considered it a low-risk project according to Resolution 8430 of 1993, also because this School is equipped with microbiology laboratories that comply with the technical standards for the management of the type of microorganisms used in the study.

50 min. Se utilizó resina epóxica para sellar la periferia de los mismos, excepto los 3 últimos mm, para así evitar la microfiltración por sitios diferentes al tercio apical.

Técnica de filtración bacteriana

Los dientes se colocaron en tubos plásticos, donde se generaba el modelo de cámara superior e inferior (Figura 1). La unión del diente al frasco se selló con acrílico en su periferia para evitar microfiltración. Previo a la colocación del diente, se llenó la cámara inferior del frasco con 4,8 ml de caldo BHI (Merck Eurolab, Darmstadt, Germany), el cual contenía marcador rojo fenol y cubría los 3 mm apicales de los especímenes. La cepa *E faecalis*, fue una cepa de referencia ATCC 29212, la cual se usó como marcador de microfiltración. La cepa fue aislada en agar tripticasa soya (ATS), y se prepararon suspensiones en BHI, las cuales se ajustaron por medio de espectrofotómetro al 0,5 de Mcfarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). A partir de esta suspensión, y luego de 5 horas, para obtener un microorganismo en su fase más activa y para verificar esterilidad de los frascos y dientes, se inocularon 2 ml en la cámara superior y los dientes se incubaron a 37 °C. El medio de cultivo de la cámara superior fue cambiado cada 48 horas hasta presentar signos de microfiltración, para esto los especímenes se evaluaron visualmente cada 24 horas.

El indicativo de microfiltración se evaluó mediante el cambio de color del medio de la cámara inferior de rojo a amarillo. Todo el proceso de montaje de los medios de cultivo y unión de los dientes a los frascos se realizó en cámara de flujo laminar para asegurar condiciones asépticas.

El proyecto fue sometido al Comité de Bioética de la Universidad Cooperativa de Colombia, y fue considerado un proyecto de bajo riesgo según la Resolución 8430 de 1993, ya que además la facultad cuenta con laboratorios de microbiología que cumplen con las normas técnicas para el manejo del tipo de microorganismos utilizados en el estudio.



Figure 1. Assembly of tube (upper and lower chamber) and marker of bacterial presence (phenol red) in lower chamber

Figura 1. Ensamblaje del tubo (cámara superior e inferior) y marcador de presencia bacteriana (rojo fenol) en cámara inferior

RESULTS

The samples were observed for 21 days. All positive control samples showed filtration by the second day of incubation. The negative control samples showed no filtration throughout the experimental period.

The results were processed using version 21 of the SPSS software. Descriptive statistical analysis of filtration time was conducted, finding out an average of 18.25 microfiltration time for the lateral compaction group, while for the warm vertical compaction group this average was 19.38, and 1.88 for the single cone group (Table 1).

RESULTADOS

Las muestras fueron observadas durante 21 días. Todas las muestras en el control positivo mostraron filtración al segundo día de incubación. Las muestras del control negativo no mostraron filtración durante todo el período experimental.

Los resultados fueron procesados mediante el programa SPSS versión 21. Se realizó la estadística descriptiva de la variable tiempo de filtración, y se observó un valor promedio del tiempo de microfiltración de 18,25 para el grupo de compactación lateral, mientras que para el grupo compactación vertical caliente este valor fue de 19,38, y para el grupo de cono único fue de 1,88 (Tabla 1).

Table 1. Summary, average filtration time, means comparison, and multiple comparisons test

	Obturation technique	Microfiltration	95% confidence interval	
		Average in days	Lower limit	Upper limit
Filtration time in days	Lateral compaction	18.25	16.65	19.85
	Vertical compaction	19.38	18.38	20.37
	Single cone	1.88	1.18	2.57
Significance				
ANOVA test for mean differences		0.000		
Bonferroni test for multiple comparisons to establish which groups present differences.		Technique	vs. Technique	Significance
		Lateral compaction	Single cone	0.000
		Vertical compaction	Single cone	0.000
		Lateral compaction	Vertical compaction	0,357

Tabla 1. Resumen, promedio de tiempo de filtración, comparación de medias y prueba de comparaciones múltiples

	Técnica de obturación	Microfiltración	Intervalo de confianza 95%	
		Media en días	Límite inferior	Límite superior
Tiempo de filtración en días	Compactación lateral	18,25	16,65	19,85
	Compactación vertical	19,38	18,38	20,37
	Cono único	1,88	1,18	2,57
Significancia				
Prueba ANOVA para diferencia de medias	0,000			
Prueba Bonferroni de comparaciones múltiples para establecer entre cuáles grupos hay diferencias.		Técnica	Vs. técnica	Significancia
		Compactación lateral	Cono único	0,000
		Compactación vertical	Cono único	0,000
		Compactación lateral	Compactación vertical	0,357

A Shapiro-Wilk normality test was conducted, finding out that all study groups showed normal distribution. For comparison among groups, a one-way ANOVA test was conducted with a 95% confidence level ($p = 0.000$) (see table 1) finding out statistically significant differences among groups. A post-test was conducted using Bonferroni and Tukey's test (Table 1) for multiple comparisons, and as a result both the warm vertical compaction group and the lateral compaction group showed statistically significant differences in comparison to the single-cone group. However, there were no statistically significant differences between the warm vertical compaction group and the lateral compaction groups.

The results showed that the single-cone group had a shorter filtration time compared to the other two groups. Figure 2 shows microfiltration distribution time according to technique.

Se realizó una prueba de normalidad Shapiro-Wilk, y se descubrió que todos los grupos de estudio presentaron distribución normal. Para la comparación entre los grupos, se llevó a cabo un test ANOVA de una sola vía con un nivel de confianza del 95% ($p = 0,000$) (ver tabla 1) y se encontró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. Se realizó un postest con la prueba de Bonferroni y Tukey (Tabla 1) para comparaciones múltiples, con la cual tanto el grupo de compactación vertical caliente como el de compactación lateral mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo de cono único. Sin embargo, entre el grupo de compactación vertical caliente y el de compactación lateral no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Los resultados demostraron que el grupo de cono único filtró en menor tiempo en comparación con los otros dos grupos. En la figura 1 se muestra la distribución del tiempo de microfiltración según la técnica.

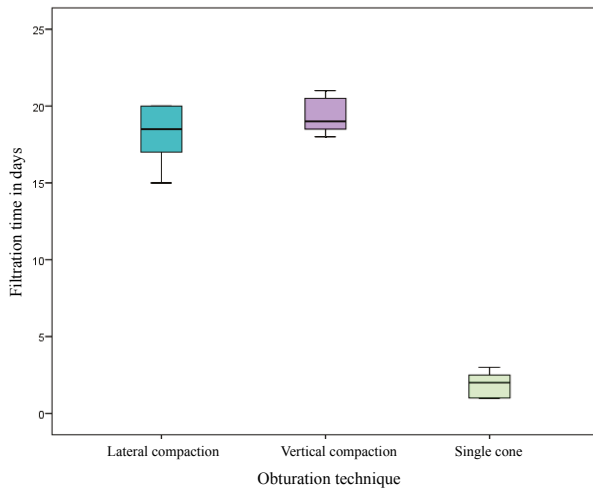


Figure 2. Microfiltration time distribution per technique

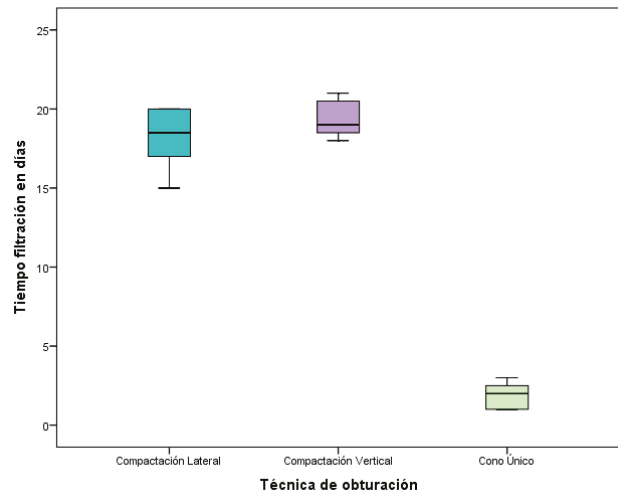
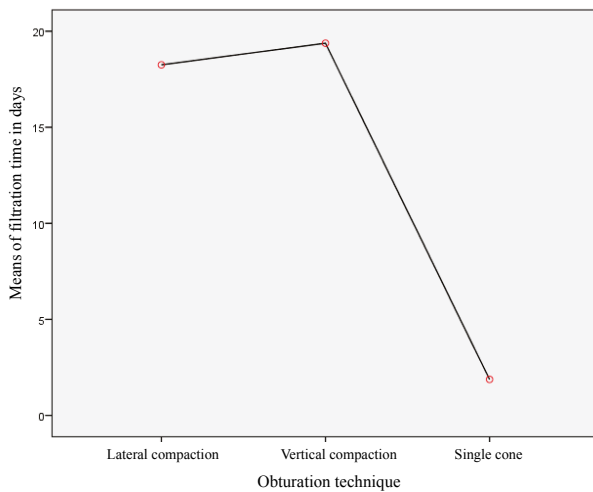


Figura 1. Distribución del tiempo de microfiltración según la técnica



Graphic 1. Average microfiltration time per obturation technique

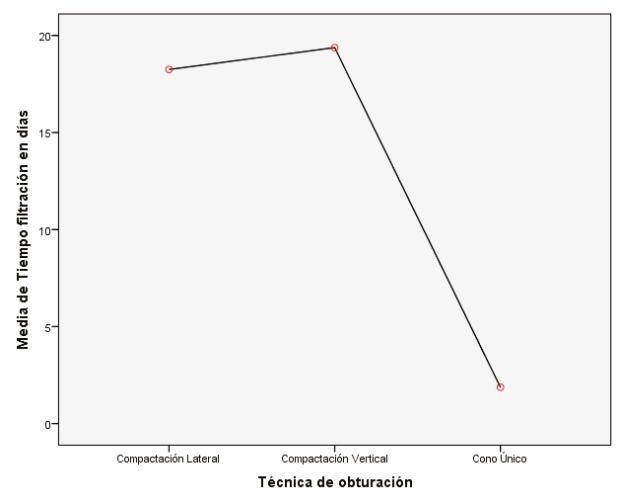


Gráfico 1. Tiempo promedio de microfiltración según la técnica de obturación.

DISCUSSION

Several techniques are currently available to evaluate microleakage in endodontics. Gómez et al¹⁵ grouped microfiltration techniques as follows: air and pressure, microbiological studies, studies with radioisotopes, neutron activation analysis, electrochemical studies, studies with electron scanning microscope, studies with chemical markers, and dye penetration studies.

DISCUSIÓN

Actualmente existen diversas técnicas que permiten evaluar la microfiltración en endodoncia. Gómez et al¹⁵ agrupan las técnicas de microfiltración de la siguiente manera: aire y presión, estudios microbiológicos, estudios con radioisótopos, análisis de la activación de neutrones, estudios electroquímicos, estudios con microscopio electrónico de barrido, estudios con marcadores químicos y estudios de penetración de colorantes.

The authors note that air and pressure studies and electrochemical studies are obsolete; other studies are not easily available since they are too sophisticated, such as neutron activation analysis or studies with radioisotopes. Other studies are more similar to clinical conditions, such as microbiological studies and dye penetration studies, which were the most commonly used in the past because of their availability and simplicity. We used the bacterial microleakage technique in our study using the *E. faecalis* microorganism, which is highly resistant to root canal disinfection processes.

The results of this study are similar to other studies that have concluded that no material can completely seal the root canal and that no obturation technique completely avoids the microfiltration of microorganisms to the periapex.¹⁶⁻¹⁸ These studies, like ours, observed the samples for a specific period of time, but did not quantify the number of microorganisms that entered the radicular apex.

The single-cone ProTaper technique has reported problems related to gutta-percha adaptation to root canal walls, due to its inability to adapt to irregularities. In our study, this technique was the one with the highest microleakage time, with 1.88 days in average. This result differs from that by Mercês et al,¹⁷ who compared microleakage in two obturation techniques (active lateral compaction and single cone), prior preparation with the ProTaper rotary technique, and using ProTaper cones for the obturations, finding out that the samples filled with the single-cone technique had 67 days of microleakage in average.¹⁷ In comparison to the lateral compaction technique, microleakage averaged 87 days, while in our study the average microleakage for the lateral compaction technique was 18.25 days.

In a 2009 microleakage study, Muñoz-Bolaños¹⁹ showed, as did the present study, the inability of the vertical compaction and lateral compaction techniques to seal after 25 days,

Los autores señalan que los estudios con aire y presión y los electroquímicos están en desuso; otros no están a nuestro alcance por sofisticados, como los estudios con radioisótopos o los análisis de activación de neutrones. Otros son más similares a las condiciones clínicas, como los estudios microbiológicos y los estudios de penetración de colorantes, que anteriormente eran los más utilizados por ser los más disponibles y sencillos. En nuestro estudio recurrimos a la técnica de microfiltración bacteriana, utilizando el microorganismo *E. faecalis*, el cual es altamente resistente a los procesos de desinfección en endodóncia.

Los resultados del presente estudio son similares a los de otros estudios que han concluido que ningún material puede sellar completamente el conducto radicular y que ninguna técnica de obturación logra evitar la microfiltración de microorganismos al periápice.¹⁶⁻¹⁸ Estos estudios, al igual que el nuestro, permitieron observar las muestras durante un periodo de tiempo específico, pero no permiten cuantificar el número de microorganismos que sobrepasaron el ápice radicular.

Se han reportado problemas de la técnica del cono único ProTaper en relación con la adaptación de la gutapercha a las paredes de los conductos, debido a su incapacidad de adaptarse a las irregularidades. En nuestro estudio, dicha técnica fue la que exhibió mayor grado de microfiltración, con un promedio de 1,88 días; resultado que difiere del obtenido por Mercês et al,¹⁷ quienes compararon la microfiltración en dos técnicas de obturación (condensación lateral activa y cono único), previa preparación con técnica rotatoria ProTaper, y utilizando conos ProTaper para las obturaciones, donde las muestras obturadas con la técnica de cono único tuvieron un promedio de microfiltración de 67 días.¹⁷ En relación con la técnica de compactación lateral, el promedio de microfiltración fue de 87 días; mientras que en nuestro estudio el promedio de microfiltración para la técnica de compactación lateral fue de 18,25 días.

Muñoz-Bolaños, en un estudio de microfiltración en 2009,¹⁹ demostró, al igual que en el presente estudio, la incapacidad de las técnicas de compactación vertical y condensación lateral para sellar después de 25 días,

obtaining an average microleakage time of 23.4 days for the lateral compaction technique and 23.1 days for the vertical compaction technique. It should be noted, however, that in our study we evaluated the sealing capacity to *E. faecalis*, while Muñoz-Bolaños used *Streptococcus salivarius*.

In 2015, Mathur et al²⁰ assessed microleakage with dye penetration and bacterial microleakage for a period of 21 days and, like in the present study, demonstrated the inability of the lateral compaction and vertical compaction techniques to properly seal against microorganisms. These techniques, as well as in the present study, did not show statistically significant differences; however, the sealing values were more favorable for the vertical compaction technique. It is important to note that the microorganism Mathur et al used in their study was *Proteus vulgaris*.

In 2010, Ito et al assessed bacterial microleakage in three root canal obturation techniques (lateral compaction, warm vertical compaction, and single cone), finding out that there was no *E. faecalis* microleakage in 24 samples filled with lateral and vertical compaction, but there were 2 samples out of 14 that showed filtration with the single-cone technique by days 22 and 23.²¹ These results are inconsistent with our study, but this difference may be due to discrepancies in methodology.²²

Pinheiro et al²³ used the bacterial microleakage technique to assess the sealing capacity of various cements used in endodontic sealers, concluding that none of the tested cements (AH Plus, Epiphany, Acroseal, Endofill, and Polifi) prevented the microleakage of *E. faecalis* into the root apex. In the present study, we used the TopSeal resin-based cement, which also failed to prevent microleakage of the microorganism in the samples.

By contrast, Hernández-Valerín et al,²⁴ in a 2009 study comparing microleakage of *E. faecalis*

obteniendo como promedio de microfiltración para la técnica de compactación lateral 23,4 días y para la compactación vertical 23,1 días. Aunque se debe considerar que en nuestra investigación evaluamos la capacidad de sellado frente a *E. faecalis*, mientras que Muñoz-Bolaños lo hizo frente a *Streptococcus salivarius*.

Mathur et al, en el 2015,²⁰ evaluaron la microfiltración con tintes y la microfiltración bacteriana por un periodo de 21 días, al igual que el presente estudio, y demostraron la incapacidad de las técnicas de compactación lateral y compactación vertical para hacer un sellado adecuado contra microorganismos. Dichas técnicas, al igual que en el presente estudio, no presentaron diferencias estadísticamente significativas; sin embargo, los valores de sellado fueron más favorables para la técnica de compactación vertical. Es importante mencionar que el microorganismo usado en el estudio de Mathur et al fue *Proteus vulgaris*.

Ito et al, en el año 2010, evaluaron la microfiltración bacteriana en tres técnicas de obturación de conductos (compactación lateral, compactación vertical caliente y cono único), y encontraron que no hubo microfiltración de *E. faecalis* en 24 muestras obturadas con compactación lateral y vertical, pero sí evidenciaron que 2 muestras, de un total de 14, filtraron en la técnica de cono único a los 22 y 23 días.²¹ Dichos resultados no concuerdan con los de nuestro estudio, pero esta diferencia se pudo dar porque los investigadores utilizaron una metodología diferente a la nuestra.²²

Pinheiro et al²³ evaluaron la capacidad de sellado mediante la técnica de microfiltración bacteriana de varios cementos selladores utilizados en endodoncia, y concluyeron que ninguno de los cementos evaluados (AH Plus, Epiphany, Acroseal, Endofill y Polifi) logró evitar la microfiltración de *E. faecalis* hacia el ápice radicular. En el presente estudio, el cemento sellador utilizado fue el cemento resinoso TopSeal, el cual tampoco logró evitar la microfiltración del microorganismo en las muestras.

Por el contrario, Hernández-Valerín, en el 2009,²⁴ en un estudio en el cual compararon la microfiltración de *E. faecalis*

in root canals filled with gutta-percha using TopSeal cement and the Resilon-Epiphany obturation system, and observing the samples for 60 days, found out that samples filled with gutta-percha and TopSeal cement showed greater resistance to bacterial filtration, with an average filtration time of 12.6 days, but overall failed to block filtration. This result is similar to the one in our study, in which microleakage of the microorganism could not be avoided with any of the three techniques plus the TopSeal cement.

Our study showed a difference in microleakage between warm vertical compaction and lateral compaction, being more favorable to the warm vertical compaction technique, but with no statistically significant differences. This result, slightly favorable to the warm vertical compaction technique, may be due to the fact that—as reported by the literature—thermoplasticized gutta-percha can easily reach the root canal irregularities, which cannot be achieved with lateral compaction, since irregularities and curvatures become a difficulty for this technique. The warm compaction techniques produce greater amount of gutta-percha in comparison to lateral compaction techniques. Therefore, improving gutta-percha homogeneity and adaptation to the surface was a necessity, and thus thermoplasticized obturation was introduced in the clinical practice.²⁵⁻²⁶

CONCLUSIONS

In conclusion, the present study showed that none of the three obturation techniques used was able to avoid the microleakage of *E. faecalis* towards the root apex, and the warm vertical compaction and lateral compaction techniques showed the greatest resistance to microleakage, with no statistically significant differences; in numerical terms, however, the vertical compaction technique showed a slightly better performance. In contrast, the single-cone technique showed an almost

en conductos obturados con gutapercha y utilizando el cemento sellador TopSeal y el sistema de obturación Resilon-Epiphany, observando las muestras durante 60 días, encontraron que las muestras obturadas con gutapercha y cemento TopSeal mostraron mayor resistencia a la filtración bacteriana, teniendo como promedio de filtración 12,6 días, pero que no lograron inhibir la filtración. Dicho resultado es similar al de este estudio, en el cual no se logró evitar la microfiltración del microorganismo con ninguna de las tres técnicas utilizadas acompañadas del cemento TopSeal.

Nuestro estudio mostró una diferencia en la microfiltración entre la compactación vertical caliente y la compactación lateral, siendo más favorable para la compactación vertical caliente, pero sin diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Este resultado, ligeramente favorable para la técnica de compactación vertical caliente, se puede deber a que los estudios han mostrado que la gutapercha termoablandada puede llegar fácilmente a las irregularidades del conducto, lo que no se puede lograr con la compactación lateral, ya que las irregularidades y las curvaturas se dificultan con esta técnica. Las técnicas de compactación calientes producen mayor cantidad de gutapercha en comparación con las técnicas de compactación lateral, lo que ha permitido una mejor homogeneidad y adaptación de la gutapercha a la superficie, como una necesidad para el área de la endodoncia.^{25, 26}

CONCLUSIONES

En conclusión, en el presente estudio se demostró que ninguna de las tres técnicas de obturación utilizadas logró evitar la microfiltración de *E. faecalis* hacia el ápice radicular, y que las técnicas de compactación vertical caliente y compactación lateral fueron las que mostraron mayor resistencia a la microfiltración, sin diferencias significativas, estadísticamente hablando, aunque, en términos numéricos, la técnica de compactación vertical mostró un comportamiento ligeramente mejor. En contraste con las anteriores, la técnica de cono único mostró

complete inability to prevent microleakage, which happened in less than two days.

Due to different methodologies described in the literature to evaluate microleakage, and the disparity in results, it is suggested to perform new studies to try to establish a universal methodology for the study of microleakage, in order to make comparisons that allow to evaluate more rigorously used in endodontic obturation techniques.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare not having any conflict of interest.

CORRESPONDING AUTHOR

Dr. Jaime Rendón
Universidad Cooperativa de Colombia
(+574) 444 60 65
jaime0978@gmail.com
Carrera 42 No. 49-95, Bloque 8
Medellín, Colombia

una incapacidad casi absoluta para impedir la microfiltración, ya que esta se presentó en menos de dos días.

Debido a las diversas metodologías descritas en la literatura para evaluar la microfiltración, y a la disparidad en los resultados, se sugiere realizar nuevos estudios para tratar de establecer una metodología universal para el estudio de la microfiltración, y así poder realizar comparaciones que permitan evaluar con mayor rigurosidad las técnicas de obturación utilizadas en endodoncia.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

CORRESPONDENCIA

Dr. Jaime Rendón
Universidad Cooperativa de Colombia
(+574) 444 60 65
jaime0978@gmail.com
Carrera 42 No. 49-95, Bloque 8
Medellín, Colombia

REFERENCES / REFERENCIAS

1. Cohen S, Burns RC. Vías de la pulpa. 8 ed. Madrid: Elsevier Mosby; 2002.
2. Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol* 1995; 11(1): 6-9.
3. Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20(5): 289-295. DOI: 10.1111/j.1399-302X.2005.00227.x URL: <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2005.00227.x>
4. HM Eriksen, LL Kirkevang, K Petersson. Endodontic epidemiology and treatment outcome: general considerations. *Endod Topics* 2002; 2(1): 1-9
5. Tagger M, A. Flow of various brands of gutta-percha cones under in vitro thermomechanical compaction. *J Endod* 1988; 14(3): 115-120. DOI: 10.1016/S0099-2399(88)80210-3 URL: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(88\)80210-3](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(88)80210-3)
6. Ansari BB, Umer F, Khan FR. A clinical trial of cold lateral compaction with Obtura II technique in root canal obturation. *J Conserv Dent* 2012; 15(2): 156-160. DOI: 10.4103/0972-0707.94591 URL: <https://dx.doi.org/10.4103/0972-0707.94591>
7. Anantula K, Ganta AK. Evaluation and comparison of sealing ability of three different obturation techniques - Lateral condensation, Obtura II, and GuttaFlow: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2011; 14(1): 57-61 DOI: 10.4103/0972-0707.80748 URL: <https://doi.org/10.4103/0972-0707.80748>

8. Wu MK, Van-der-Sluis LW, Wesselink PR. A 1-year follow-up study on leakage of single-cone fillings with RoekoRSA sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101(5): 662–667. DOI: 10.1016/j.tripleo.2005.03.013 URL: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.03.013>
9. Inan U, Aydin C, Tunca YM, Basak F. In vitro evaluation of matched-taper single-cone obturation with a fluid filtration method. *J Can Dent Assoc* 2009; 75(2): 123
10. Punia SK, Nadig P, Punia V. An in vitro assessment of apical microleakage in root canals obturated with gutta-flow, resilon, thermafil and lateral condensation: a stereomicroscopic study. *J Conserv Dent* 2011; 14(2): 173–177. DOI: 10.4103/0972-0707.82629 URL: <https://doi.org/10.4103/0972-0707.82629>
11. Wu MK, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *Int Endod J* 1993; 26(1): 37-43
12. Torabinejad M, Ung B, Kettering JD. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod* 1990; 16(12): 566-569. DOI: 10.1016/S0099-2399(07)80198-1 URL: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(07\)80198-1](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(07)80198-1)
13. Ricucci D, Russo J, Rutberg M, Burleson JA, Spångberg LS. A prospective cohort study of endodontic treatments of 1,369 root canals: results after 5 years. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011; 112: 825-842. DOI: 10.1016/j.tripleo.2011.08.003 URL: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.08.003>
14. Strateva T, Atanasova D, Savov E, Petrova G, Mitov I. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates collected in Bulgaria. *Braz J Infect Dis* 2016; 20(2): 127–133. DOI: 10.1016/j.bjid.2015.11.011 URL: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.11.011>
15. Gómez S, Miguel A, De-la-Macorra JC. Estudio de la microfiltración: modificación a un método. *Av Odontostomatol* 1997; 13(4): 265-271
16. Irala-Almeida MA, Adorno CG, Djalma-Pecora J, Perdomo M, Pereira-Ferrari PH. Evaluación de la filtración bacteriana en conductos radiculares sellados por tres diferentes técnicas de obturación. *Endodoncia* 2010; 28(3): 127-134.
17. Mercés MA, Aguiar CM, Shinohara NKS, Camara AC, Figueiredo JAP. Comparison of root canals obturated with ProTaper gutta-percha master point using the active lateral condensation and the single-cone techniques: a bacterial leakage study. *Braz J Oral Sci* 2011; 10(1): 37-41.
18. Aminsobhani M, Ghorbanzadeh A, Bolhari B, Shokouhinejad N, Ghabraei S, Assadian H, Aligholi M. Coronal microleakage in root canals obturated with lateral compaction, warm vertical compaction and guttaflow system. *Iran Endod J* 2010; 5(2): 83-87.
19. Muñoz-Bolaños ID. Microfiltración apical en dos técnicas de obturación: condensación lateral y el sistema Obtura II. *Rev Nal Odo UCC* 2009; 5(8): 21-29
20. Mathur R, Sharma M, Sharma D, Raisingani D, Vishnoi S, Singhal D et al. Evaluation of coronal leakage following different obturation techniques and in vitro evaluation using Methylene Blue Dye preparation. *J Clin Diagn Res* 2015; 9(12): ZC13-17. DOI: 10.7860/JCDR/2015/15796.6931 URL: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/15796.6931>
21. Ito DL, Shimabuko DM, Aun CA, Brum TB. Evaluation of bacterial leakage in techniques of root canal obturation. *Rev Odontol Univ Cid São Paulo* 2010; 22(3): 198-215.
22. Gómez-Montoya PA. Cementos selladores en endodoncia. *UstaSalud Odontología* 2004; 3(2): 100-107
23. Pinheiro CR, Guinesi AS, de-Camargo EJ, Pizzolitto AC, Filho IB. Bacterial leakage evaluation of root canals filled with different endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108(6): e56-e60. DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.08.008 URL: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.08.008>
24. Hernández-Valerín R, Cruz-González A, del-Mar-Gamboa M. Comparación de la filtración bacteriana en raíces obturadas con Resilon-Epiphany y gutapercha. *Estudio in vitro. Odovtos Int J Dent Sc* 2009; 11
25. Gençoğlu N. Comparison of six different guttapercha techniques (part II): thermafil, JS quick fill, soft core, microseal, system B and lateral condensation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio Endod* 2003; 96(1): 91-95. DOI: 10.1067/moe.2003.S107921040291704X URL: <https://doi.org/10.1067/moe.2003.S107921040291704X>
26. Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Reddy GK, Hannah R, Arathi G, Roohi R. Comparison of laterally condensed, vertically compacted thermoplasticized, cold free flow GP obturations - A volumetric analysis using spiral CT. *J Conserv Dent* 2009; 12(4): 145-149. DOI: 10.4103/0972-0707.58334 URL: <https://doi.org/10.4103/0972-0707.58334>