
ANÁLISIS A TRAVÉS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE DOS DIENTES CON TRATAMIENTO ENDODÓNCICO SOMETIDOS A ALTAS TEMPERATURAS. ESTUDIO PILOTO

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY ANALYSIS OF TWO ENDODONTICALLY TREATED TEETH SUBJECTED TO HIGH TEMPERATURES. A PILOT STUDY

FREDDY MORENO GÓMEZ¹, CARLOS MEJÍA PAVONY²

RESUMEN. Introducción: el objetivo fue describir los cambios físico-químicos que ocurren en los tejidos y materiales dentales empleados en un tratamiento endodóncico convencional, al ser sometidos a altas temperaturas, a través de microscopía electrónica de barrido (MEB).

Métodos: in vitro, se sometieron dos dientes premolares humanos a 200 y 400 °C respectivamente, con el fin de estandarizar una técnica para la observación de los cambios físicos y químicos en los tejidos dentales (esmalte y dentina) y de los materiales de uso odontológico empleados comúnmente en endodoncia (gutapercha y cemento endodóncico a base de resina epóxica). **Resultados:** tanto los tejidos como los materiales dentales observados en este estudio piloto, presentaron gran resistencia a las altas temperaturas sin variar considerablemente su macroestructura, de tal manera que los cambios físicos (estabilidad dimensional, fisuras, grietas, fracturas, textura, carbonización) y químicos (elementos químicos constituyentes) pueden llegar a ser identificables y asociarse a cada rango de temperatura específico a través del análisis MEB y espectrofotométrico. **Conclusiones:** los tejidos y los materiales dentales presentan gran resistencia a la acción de altas temperaturas sin alterar su macroestructura de forma significativa. Del mismo modo, presentan cambios físicos y químicos que pueden contribuir con el proceso de identificación de un cadáver o restos humanos quemados, incinerados o carbonizados.

Palabras clave: odontología forense, identificación humana, tejidos dentales, materiales de uso endodóncico, altas temperaturas, microscopía electrónica de barrido (MEB), fotoespectrometría.

Moreno F, Mejía C. Análisis a través de microscopía electrónica de barrido de dos dientes con tratamiento endodóncico sometidos a altas temperaturas. Estudio piloto. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2011; 23(1): 22-36.

ABSTRACT. Introduction: the objective of this study was to describe the physicochemical changes occurring in dental tissues and materials used in a conventional endodontic treatment when subjected to high temperatures, by means of scanning electron microscopy (SEM) **Methods:** in vitro, two human premolar teeth were subjected to temperatures of 200°C and 400°C respectively, with the purpose of standardizing a technique for the observation of physical and chemical changes in dental tissues (enamel and dentin) and dental materials commonly used in endodontic treatment (root canal gutta-percha and epoxy resin-based endodontic cement). **Results:** both the tissues and the dental materials analyzed in this pilot study presented great resistance to high temperatures without significantly changing their macrostructure; therefore, the physical changes (dimensional stability, cracks, crevices, fractures, texture, carbonization) and the chemical ones (constituent chemical elements) may turn out to be identifiable and associated with each specific temperature range by means of SEM and spectrophotometric analysis. **Conclusions:** dental tissues and materials display great resistance to the action of high temperatures, without significantly altering their macrostructure. Similarly, they experience physical and chemical changes that may contribute to the process of identification of a corpse or human remains that have been burned, incinerated or charred.

Key words: forensic dentistry, human identification, dental tissues, dental material of endodontic use, high temperatures, scanning electron microscopy (SEM), spectrophotometry.

Moreno F, Mejía C. Scanning electron microscopy analysis of two endodontically treated teeth subjected to high temperatures. A pilot study. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2011; 23(1): 22-36.

-
- 1 Odontólogo, profesor Escuela de Odontología, Universidad del Valle; estudiante de Maestría en Ciencias Biomédicas, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle; Grupo de Investigación Cirugía Oral y Maxilofacial, Escuela de Odontología, Facultad de Salud, Universidad del Valle.
 - 2 Odontólogo, magister en Morfología Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle; profesor Escuela de Odontología de la Universidad del Valle; Grupo de Investigación Tejidos Blandos y Mineralizados, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle.

-
- 1 Dentist. Professor at the Escuela de Odontología of Universidad del Valle. Student of the MA on Biomedical Sciences at Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle. Research Group on Oral and Maxillofacial Surgery, Escuela de Odontología, Facultad de Salud, Universidad del Valle.
 - 2 Dentist. Magister on Morphology. Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle. Professor at the Escuela de Odontología of Universidad del Valle. Research Group on Soft and Mineralized Tissues, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle.

RECIBIDO: NOVIEMBRE 16/2010-ACEPTADO: AGOSTO 30/2011

SUBMITTED: NOVEMBER 16, 2010-ACCEPTED: AUGUST 30, 2011

INTRODUCCIÓN

En la literatura especializada son varios los estudios que han descrito los cambios de los dientes al ser sometidos a altas temperaturas con fines forenses. Entre estos estudios sobresalen los llevados a cabo por la Unidad de Materiales Dentales del Departamento de Odontostomatología de la Universidad de Pavia, Italia;¹⁻³ los hechos por el Laboratorio de Odontología Forense del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia, Venezuela;⁴⁻⁶ las pruebas *in vitro* en materiales a base de resina sometidos a altas temperaturas llevadas a cabo por el Departamento de Odontología Restaurativa de la Escuela de Medicina Dental de la Universidad de Buffalo en Nueva York;⁷⁻⁹ además del nuevo conocimiento generado por el Grupo de Investigación Cirugía Oral y Maxilofacial de la Escuela de Odontología de la Universidad del Valle, Colombia, en el que se ha venido trabajando en el estudio macroscópico, estereomicroscópico, microscópico, radiográfico y tomográfico del comportamiento de los tejidos dentales y de los materiales de uso odontológico al ser sometidos a altas temperaturas. De esta forma, son diferentes los reportes que describen los cambios físicos macro- y microestructurales, los cuales incluyen estabilidad dimensional, fisuras, grietas, fracturas, textura, color y carbonización e incineración de los tejidos dentales en dientes intactos,¹⁰ de algunos materiales empleados en operatoria dental¹¹ y de uso endodóncico.¹²

Sin embargo, se hace necesario hacer nuevos estudios que empleen diferentes tipos de análisis a partir de la histología, la microscopía de fuerza atómica, la fotoespectrometría y la microscopía electrónica de barrido, entre otros, que logren explicar los cambios macroestructurales a partir de los cambios microestructurales; de acuerdo con lo anterior, resulta pertinente analizar el comportamiento de las interfases entre los tejidos dentales (esmalte-dentina, esmalte-cemento y dentina-cemento), entre los materiales de uso odontológico (amalgamación de vidrio, resina-ionómero de vidrio y cemento de obturación-gutapercha) y entre los tejidos dentales y los materiales de uso odontológico (esmalte-amalgama, esmalte-resina, dentina-amalgama, dentina-resina, cemento de obturación-dentina), para lo cual es necesario estandarizar los procedimientos de aplicación de la temperatura y de observación a través de microscopía electrónica de barrido.

INTRODUCTION

Several studies among the specialized literature have described the changes of teeth when subjected to high temperatures with forensic purposes. Some of the most relevant studies are the ones carried out by the Unit of Dental Materials of the University of Pavia's Department of Odontostomatology (Italy);¹⁻³ the ones performed by the Laboratory of Forensic Dentistry of the Universidad de Zulia's School of Dentistry Research Institute (Venezuela);⁴⁻⁶ the *in vitro* studies on resin-based materials subjected to high temperatures, carried out by the Department of Restorative Dentistry of the State University of New York at Buffalo's School of Dental Medicine,⁷⁻⁹ as well as the recent findings by the Research Group on Oral and Maxillofacial Surgery from the Universidad del Valle's Facultad de Odontología (Colombia), which has been focusing on the macroscopic, stereomicroscopic, microscopic, radiographic, and tomographic studies on the behavior of dental tissues and materials when subjected to high temperatures. Thus, several reports describe the macro- and microstructural physical changes, which include dimensional stability, cracks, crevices, fractures, texture, color, carbonization, and incineration of dental tissues in intact teeth,¹⁰ as well as some materials used in dental operations,¹¹ and of endodontic use.¹²

Nevertheless, it is necessary to conduct new studies using different kinds of analysis including histology, atomic force microscopy, spectrophotometry, scanning electron microscopy, and the like, which would explain the macrostructural changes based on the microstructural ones; accordingly, it would be appropriate to analyze the behavior of the interfaces between dental tissues (enamel-dentin, enamel-cementum, and dentin-cementum), between the materials of dental use (amalgam-glass ionomer, resin-glass ionomer, and obturation cement-gutapercha), and between dental tissues and materials of dental use (enamel-amalgam, enamel-resin, dentin-amalgam, dentin-resin, obturation cement-dentin), for which it would be necessary to standardize the procedures of temperature application and observation, by means of scanning electron microscopy.

Por ello describir los cambios físicos y químicos que ocurren en los tejidos y en los materiales dentales empleados en un tratamiento endodóncico convencional al ser sometidos a altas temperaturas a través de microscopía electrónica de barrido (MEB), se constituye en importante punto de partida para hacer investigaciones que incluyan una muestra mayor, diferentes materiales de uso odontológico y diferentes rangos de temperatura, con el objetivo de demostrar que el análisis a través de microscopía electrónica de barrido y de fotoespectrometría podrá contribuir a la generación de nuevo conocimiento en el campo de la identificación, dentro del accionar judicial, clínico, técnico y científico de la odontología forense.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este es un estudio piloto experimental *in vitro* sobre el comportamiento de la acción de altas temperaturas en los tejidos dentales (esmalte y dentina) y de algunos materiales de uso odontológico (amalgama de plata *GS80® SDI®*, resina *Point 4® Kerr®*, ionómero de vidrio *Fuji® GC América®*, gutapercha *Maillefer Dentsply®*, cemento endodóncico a base de resina epóxica *Top Seal® Dentsply®* y cemento endodóncico a base de óxido de zinc eugenol *Grossfar® Eufar®*). Para ello fueron escogidos por conveniencia dos premolares unirradiculares (un primer premolar inferior izquierdo —diente 1— y un primero premolar inferior derecho —diente 2—) recién extraídos por motivos ortodóncicos, que no presentaran caries, restauraciones, tratamientos de endodoncia, patología pulpar y malformaciones congénitas.

Las variables tenidas en cuenta en este estudio obedecen a los cambios microscópicos observados en los tejidos dentales y en los materiales dentales empleados para obturar los conductos pulpares y la cavidad de acceso durante un tratamiento de endodoncia a través de microscopía electrónica de barrido, correlacionados con los cambios macroscópicos descritos a través de fotografía digital. Dichos cambios serán agrupados, para facilitar la discusión, de acuerdo con los tejidos y los materiales dentales y con el rango de temperatura, teniendo en cuenta: 1) la desadaptación de los materiales de obturación; 2) las fisuras, grietas, aspecto cuarteado y fracturas; 3) los cambios en la textura; y 4) los niveles de carbonización e incineración.

Describing the physical and chemical changes of tissues and dental materials used for conventional endodontic treatments when subjected to high temperatures, by means of scanning electron microscopy, this would also establish an important starting point for investigations that include larger samples, different materials of dental use, and different temperature ranges, in order to demonstrate that scanning electron microscopy analysis and spectrophotometry may contribute to the generation of new knowledge in the field of identification in the legal, clinical, technical, and scientific activity of forensic dentistry.

MATERIALS AND METHODS

This is an *in vitro* experimental pilot study on the behavior of the influence of high temperatures on dental tissues (enamel and dentin) and some materials of dental use (*GS80® SDI®* silver amalgam, *Point 4® Kerr®* resin, *Fuji® GC America®* glass ionomer, *Maillefer Dentsply®* gutta-percha, *Top Seal® Dentsply®* endodontic epoxy resin, and *Grossfar® Eufar®* oxide of zinc eugenol-based endodontic cement). For this purpose, two single-rooted premolars (a first lower left premolar —tooth 1— and a first lower right premolar —tooth 2—) were conveniently chosen as being recently extracted for orthodontic reasons, and not having cavities, restorations, endodontic treatments, pulpal pathologies, or congenital malformations.

The variables used in this study correspond to the microscopic changes observed, by means of scanning electron microscopy, in both dental tissues and materials used to obturate the pulpal canal and the access cavity during an endodontic treatment, in correlation to the macroscopic changes identified by means of digital photography. In order to make the discussion easier, these changes will be classified according to tissues, dental materials, and temperature ranges, having into account: 1. Maladaptation of obturation materials; 2. Cracks, crevices, fractures, and a broken aspect; 3. Texture changes, and 4. Levels of carbonization and incineration.

Recolección de la muestra

Los dos dientes fueron obtenidos dentro del marco del estudio "Análisis macroscópico in vitro de los tejidos dentales y de algunos materiales dentales de uso en endodoncia, sometidos a altas temperaturas con fines forenses", el cual fue avalado por el Comité Institucional de Revisión de Ética Humana de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle de acuerdo con el artículo 11 de la Resolución N.º 008430 del Ministerio de Protección Social¹³ y con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos indicados por la Asociación Médica Mundial en la Declaración de Helsinki;¹⁴ y previa autorización de las directivas de la Escuela de Odontología y firma del consentimiento informado por los pacientes, se procedió a obtener la muestra a partir de los dientes extraídos en la Clínica de Cirugía Oral de la Escuela de Odontología de la Universidad del Valle que cumplieran con los criterios de inclusión.

Manejo y conservación de la muestra

Inmediatamente después de ser extraídos los dientes, se procedió a lavarlos con agua no estéril para eliminar residuos de sangre y se introdujeron en un recipiente oscuro con solución fijadora cloramina T al 5% (100 g tosilcloramida sódica diluida en 2 l de agua destilada), durante una semana. Después se colocaron los dientes en solución salina a temperatura de 37 °C con humedad relativa de 100%, y se cambió la solución salina cada dos semanas según las normas Icontec 4882\2000¹⁵ e ISO/TS 11405/2003,¹⁶ hasta iniciar los procedimientos en las muestras.

Preparación de las cavidades

Un solo operador puso en una base de cera cada uno de los dientes y procedió a hacerles una cavidad oclusal tipo I, de acuerdo con las indicaciones de acceso según la literatura endodóncica con una profundidad que permitiera la exposición de la cámara pulpar a través de una pieza de alta velocidad (*NSK*[®]) con refrigeración constante y fresas de diamante de grano medio-fino en forma de pera (*Diatech*[®]). Una vez hecha la cavidad, a cada diente se le efectuó una profilaxis con agua oxigenada para desinfectar la cavidad y disminuir la tensión superficial de la dentina a fin de optimizar las propiedades adhesivas de la resina compuesta.¹⁷

Sample collection

The two teeth were obtained during the project "In vitro macroscopic analysis of dental tissues and some dental materials of endodontic use subjected to high temperatures for forensic purposes", which was endorsed by the Institutional Committee of Human Ethics Revision of Universidad del Valle's School of Health, following Article 11 of Resolution N° 008430 of the Ministerio de la Protección Social (Colombia),¹³ and the ethical principles for medical research specified by the World Medical Association at the Helsinki Declaration.¹⁴ Once the authorization of the School of Dentistry's, Administration was granted, as well as a letter of consent signed by the patients, the sample was obtained from the teeth extracted at the Clinic of Oral Surgery of the Universidad del Valle's School of Dentistry, provided that they met the terms of inclusion.

Handling and conservation of the sample

Right after extracting the teeth, they were washed with non-sterile water in order to eliminate blood deposits, and they were placed in a dark recipient with fixing solution 5% Chloramine T (100 gr Tosyl Chloramide sodium dissolved in 2 liters of distilled water) for a week. The teeth were then stored in a saline solution at a temperature of 37°C with a relative humidity of 100%; the saline solution was changed every two weeks, following ICONTEC standards 4882/2000¹⁵ and ISO/TS 11405/2003,¹⁶ until the procedures were initiated.

Preparation of the cavities

A single operator placed each of the teeth in a wax base, and proceeded to make an occlusal cavity Type I on them, following the access indications provided by the endodontic literature, with a depth that would allow pulp chamber display, by using a high speed handpiece (*NSK*[®]) with constant refrigeration and pear diamond burs of medium to fine grain (*Diatech*[®]). Once the cavities had been made, each tooth was cleansed with oxygenated water to disinfect the cavities and to reduce dentine superficial tension, in order to optimize the resin composite adhesive properties.¹⁷

Tratamiento de endodoncia

Se hizo un tratamiento de endodoncia convencional de acuerdo con la técnica telescópica. Una vez localizado el conducto, se procedió a ubicar la lima maestra apical y se tomó la conductometría aproximadamente a 2 mm del foramen apical. Se inició con la instrumentación del conducto mediante limas de la primera serie, una por una en su respectivo orden, disminuyendo la longitud de trabajo para cada lima 2 mm con respecto del ápice e irrigando con hipoclorito de sodio y recapitulando con la lima maestra apical entre cada lima. Una vez terminada la preparación biomecánica del conducto, se hizo la conometría con un cono de gutapercha del mismo diámetro y longitud de trabajo determinada por la última lima con la cual se instrumentó, y finalmente se inició la obturación del conducto mediante técnica de condensación con conos de gutapercha y cemento de obturación. Una vez verificada la obturación se cortó el penacho de los conos a 2 mm por debajo de la línea amelocementaria y se selló con ionómero de vidrio *Fuji® GC América®*.

Obturación de las cavidades

Esta se hizo con relación al material de uso odontológico empleado para obtener la cavidad:

Diente 1

Se le hizo el tratamiento endodóncico ya descrito, cuyo conducto fue obturado con gutapercha *Maillefer Dentsply®* y cemento de resina epóxica *Top Seal® Dentsply®*, y sellado con ionómero de vidrio *Fuji® GC América®*. La cavidad se obturó con resina *Point 4® Kerr®* por medio de la técnica de grabado ácido del esmalte por 15 s y acondicionamiento de la dentina por 10 s con ácido fosfórico al 37,5% (*Gel Etchant® Kerr®*); se le aplicó adhesivo (*OptiBond Solo Plus® Kerr®*) con microcepillo en dos capas dejando impregnar la primera 20 s mediante chorro de aire indirecto por cinco segundos para que el adhesivo penetrara los túbulos dentinales y una segunda capa para homogeneizar la superficie evitando zonas secas, y se polimerizó el agente adhesivo por 40 s con una lámpara de fotopolimerización (*Spectrum 800® Dentsply®*); por último se empacó la resina compuesta (*Point 4® Kerr®*) mediante técnica por incrementos oblicuos, que se polimerizaron, cada uno de ellos, por 40 s con la misma lámpara de fotopolimerización hasta obtener por completo la cavidad.

Endodontic treatment

A conventional endodontic treatment was performed consistent with the telescopic technique. Once the canal was found, the master apical file was located and conductometry was conducted at approximately 2 mm of the apical foramen. Instrumentation of the canal started with files of the first series, one by one in their right order, decreasing the working length for each file 2 mm in relation to the apex, irrigating with sodium hypochlorite, and reiterating with the master apical file between each file. Once the canal biomechanical preparation had been completed, a conometrical measurement was performed with a gutta-percha cone of the same diameter and working length, determined by the last file with which it had been instrumented; finally, obturation of the canal was initiated by using the technique of gutta-percha cone condensation and obturation cement. Once obturation had been verified, the cone crests were cut 2 mm under the cemento-enamel junction line, and a *Fuji® GC America®* glass ionomer seal was applied.

Obturation of the cavities

This was done according to the dental material used for filling the cavity:

Tooth 1

This tooth was endodontically treated as described, and its canal was obturated with *Maillefer Dentsply®* gutta-percha and *Top Seal Dentsply®* epoxy resin cement; it was sealed with *Fuji® GC América®* glass ionomer. The cavity was filled with *Point 4® Kerr®* resin by means of the enamel acid etching technique for 15 seconds and dentine conditioning for 10 seconds with 37,5% phosphoric acid (*Gel Etchant® Kerr®*). An adhesive (*OptiBond Solo Plus® Kerr®*) was applied with a microbrush in two layers: the first one was left to impregnate for 20 seconds by an indirect jet of air for 5 seconds, so that the adhesive would penetrate the dentinal tubules, and the second one was used to smooth the surface avoiding dry zones. The adhesive agent was polymerized for 40 seconds with a photo-polymerization lamp (*Spectrum 800® Dentsply®*). Finally, the composite resin (*Point 4® Kerr®*) was packed by means of the oblique layering technique; each oblique layer was polymerized for 40 seconds with the same photo-polymerization lamp until completely filling the cavity.

Se finalizó con el pulido y brillo de la restauración para eliminar la capa inhibida superficial con los sistemas *Hiluster Plus*[®] y *Oclubrush*[®]

Diente 2

Se le hizo el tratamiento endodóncico ya descrito, cuyo conducto fue obturado con gutapercha *Maillefer Dentsply*[®] y cemento de óxido de zinc eugenol *Eufar*[®], y sellado con ionómero de vidrio *Fuji GC América*[®]. La cavidad se obturó con amalgama de plata *GS80 SDI*[®] por medio de la técnica convencional de empaquetado, condensado, bruñido y pulido de la restauración.

Aplicación de altas temperaturas

Una vez hechas las obturaciones, ambos dientes se llevaron a bandejas individuales confeccionadas con material de revestimiento refractario (*Cera-Fina Whipmix*[®]) para facilitar su manipulación de acuerdo con el prototipo patentado por la Unidad de Materiales Dentales del Departamento de Odontología de la Universidad de Pavia (Italia); y se sometieron al calor directo dentro de un horno tipo mufla (*Thermolyne*[®]) previamente calibrado a dos temperaturas (primero a 200 °C —diente 1— y luego a 400 °C —diente 2—) con una tasa de ascenso de 10 °C / min desde una temperatura inicial de 34 °C (temperatura ambiente) hasta alcanzar cada una de las temperaturas propuestas. Terminada la aplicación de la temperatura específica, se retiraron los dientes del horno. Una vez fríos, se rociaron con laca para cabello con el fin de conferirles cierto grado de resistencia y facilitar su manipulación.¹⁸

Observación macroscópica

Un examinador observó y describió los cambios macroestructurales de los tejidos dentales y los materiales de obturación mediante visión directa de la muestra, con ayuda de fotografías digitales a 20x (cámara digital *Sony Cyber-Shot DSC-H50* de 8,1 megapíxeles y lente *Carl Zeiss* de 35 mm) de acuerdo con las variables de este estudio. Posteriormente los especímenes fueron embebidos en acrílico transparente (*New Esthetic*[®]) y se les hizo un desgaste (recortadora *WhipMix*[®]) en sentido sagital para exponer el tratamiento endodóncico y observar los cambios en los tejidos y materiales dentales de forma macroscópica.

The process was finished by polishing and brightening the restoration, in order to eliminate the obstructed superficial layer, with the *Hiluster Plus*[®] and *Oclubrush*[®] systems.

Tooth 2

This tooth was endodontically treated as described, and its canal was filled with *Maillefer Dentsply*[®] gutta-percha and *Eufar*[®] zinc oxide eugenol cement; it was sealed with *Fuji GC America*[®] glass ionomer. The cavity was obturated with *GS80 SDI*[®] silver amalgam by means of the conventional technique of packing, condensing, burnishing and polishing the restoration.

Application of high temperatures

Once the obturations had been completed, both teeth were taken to individual trays made of refractory lining material (*Cera Fina Whipmix*[®]) in order to easily manipulate them according to the prototype patented by the Unit of Dental Materials of the University of Pavia's Department of Odontology (Italy); they were also subjected to direct heat inside a muffle furnace (*Thermolyne*[®]), which was previously calibrated to two temperatures (initially 200°C—tooth 1—and then 400°C—tooth 2—with an increase rate of 10°C per minute, initiating with a temperature of 34°C (room temperature) until reaching each of the indicated temperatures. Once the specific temperatures had been applied, the teeth were removed from the furnace. When they cooled down, they were sprinkled with hairspray in order to provide them with some level of resistance and to facilitate their handling.¹⁸

Macroscopic observation

One of the examiners observed and described the macrostructural changes of dental tissues and obturation materials by direct observation of the sample and by using digital photographs of 20x (digital camera *Sony Cyber Shot DSC-H50* of 8.1 megapixels and a 35 mm *Carl Zeiss* lens), in accordance with the variables used for this study. The samples were later embedded in transparent acrylic (*New Esthetic*[®]) and they were scoured (*WhipMix*[®] trimmer) in a sagittal direction, in order to display the endodontic treatment and to observe the changes of tissues and dental materials in a macroscopic way.

Observación microscópica

Los cortes fueron recubiertos con una película de oro y observados a través de microfotografía electrónica de barrido (MEB) o SEM por su nombre en inglés (*Scanning Electron Microscopy*), mediante un microscopio JEOL® JSM 6490 LV®, de la Escuela de Ingeniería de Materiales (EIMAT) de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Valle, cuya fuente de electrones es un filamento de tungsteno W y con un rango de aceleración de voltaje desde 0,3 kV hasta 30 KV. La resolución en modo de operación de alto vacío, alcanzó valor de 3 nm a alta aceleración de voltaje en modo de electrones secundarios y de 4 nm para modo de electrones retro-dispersados en bajo vacío. Asimismo se empleó el espectrómetro del MEB para análisis químico puntual del esmalte y de los materiales de obturación endodóncica.

RESULTADOS

A los 200 °C la corona de ambos dientes se tornan de un color pardo con el borde incisal blanco. En el corte sagital, la interfase de unión entre el esmalte y la dentina en toda la extensión de la corona se torna pardo, situación que le confiere ese color a la corona al ser el esmalte traslúcido (figuras 1A y 1B). En cuanto a los materiales de uso odontológico, a los 200 °C la resina se torna de un color pardo claro y presenta desadaptación marginal y fisuras y grietas superficiales. En los cortes sagitales, el cemento de obturación con base en óxido de zinc eugenol se observa entre los conos de gutapercha sin cambios significativos y la gutapercha derretida por el calor se filtra por el agujero apical y conserva su color original (figuras 1A y 2B).

En las microfotografías del diente 1 obtenidas con el microscopio electrónico de barrido se puede observar en detalle el aspecto derretido de la gutapercha en el tercio coronal de la raíz y en el tercio medio radicular, en donde se alcanza a diferenciar del cemento de obturación (figuras 1C a 1F).

A los 400 °C la corona adquiere una tonalidad más oscura, la placa bacteriana remanente se carboniza, mientras que el esmalte se fisura en toda la corona y se estalla en la zona cervical. La dentina es de color negro debido a la carbonización y se nota una separación entre el esmalte y la dentina debido a fracturas internas, principalmente en el tercio cervical (figuras 2A y 2B).

Microscopic observation

The incisions were coated with a gold layer and observed by Scanning Electron Microscopy (SEM), using a JEOL® JSM 6490 LV® microscope belonging to the Escuela de Ingeniería de Materiales (EIMAT) of the Universidad del Valle's Facultad de Ingeniería, which source of electrons is a tungsten W filament with a voltage acceleration ranging from 0,3 kV to 30 KV. At a high-vacuum operation mode it reached a resolution of 3 nm with high voltage acceleration in secondary electron mode, and 4 nm at a backscattered electron mode with low-vacuum. Similarly, the SEM's spectrometer was used for a detailed chemical analysis of the enamel and the endodontic obturation materials.

RESULTS

At a temperature of 200°C the crowns of both teeth turn brownish, with a white incisal edge. In the sagittal section, the bond interface between the enamel and the dentin all along the crown turns brownish; the crown takes this color because of the enamel being translucent (figures. 1A and 1B). In relation to the materials of dental use, at a temperature of 200°C the resin takes a light brown color and displays marginal maladaptation, as well as superficial fissures and cracks. In the sagittal sections, the oxide of zinc eugenol-based obturation cement can be seen between the gutta-percha cones without significant changes; and the gutta-percha, melted by the heat, seeps through the apical hole and keeps its original color (figures. 1A and 2B).

The microphotographs of tooth 1, obtained with the scanning electron microscope, clearly show the melted aspect of the gutta-percha in the root's coronal third and in the middle radicular third, where the obturation cement can be recognized (figures. 1C to 1F).

At a temperature of 400°C the crown takes a darker tone, the remaining bacterial plaque carbonizes, and the enamel of the entire crown cracks and blasts at the cervical zone. The dentin turns black due to carbonization, and enamel-dentin separation occurs due to internal fractures, especially in the cervical third (figures. 2A and 2B).

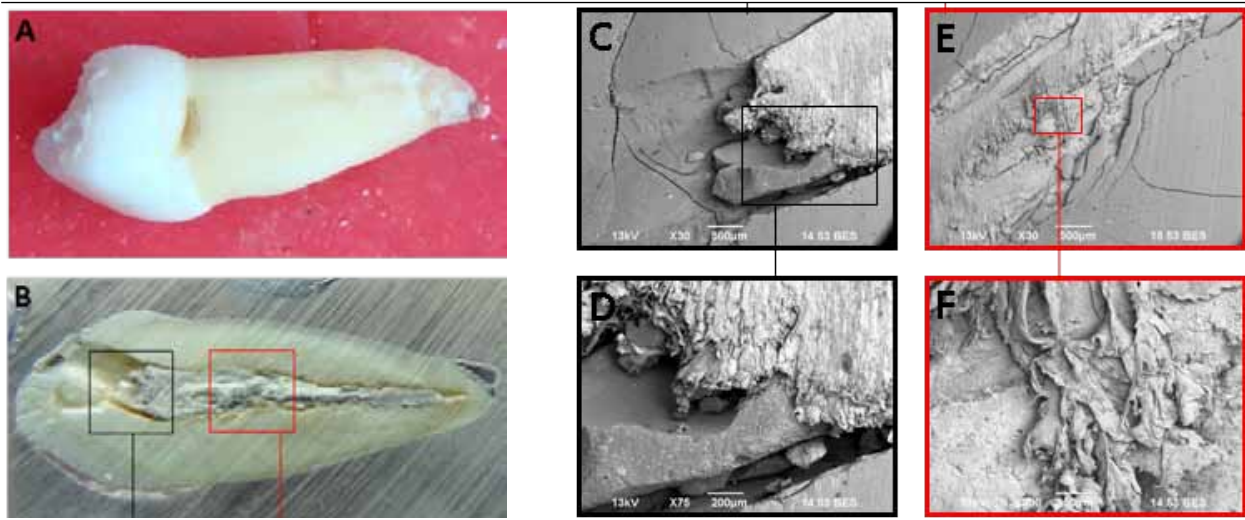
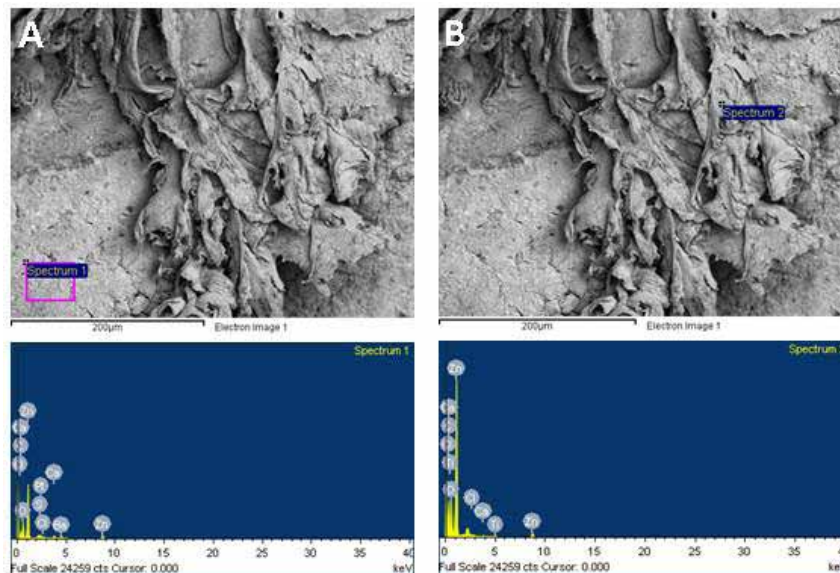


Figura 1A. Fotografía digital del diente 1 sometido a 200 °C en el que se observan la desadaptación marginal del material de obturación de la cavidad (resina compuesta); B. Fotografía digital del corte longitudinal del diente 1 en la que se observan los tejidos dentales, la cavidad de la obturación desalojada y los materiales empleados en el tratamiento endodóncico; C y D. Microfotografías electrónicas de barrido en las que se aprecia un fragmento del material de obturación de la cavidad (resina compuesta) y el material de obturación del conducto (gutapercha y cemento a base de resina epóxica); E y F. Microfotografías electrónicas de barrido en las que se aprecian los materiales de obturación del conducto radicular (gutapercha y cemento de obturación de óxido de zinc eugenol)

Figure 1. A. Digital photograph of tooth 1 subjected to 200°C, showing marginal maladaptation of the cavity's obturation material (composite resin); B. Digital photograph of the longitudinal incision of tooth 1, showing dental tissues, the obturation cavity removed, and the materials used during endodontic treatment; C and D. Scanning electron microphotographs displaying a fragment of the cavity's obturation material (composite resin) as well as the canal's obturation material (gutta-percha and epoxy resin cement); E and F. Scanning electron microphotographs showing the obturation material of the radicular canal (gutta-percha and zinc oxide eugenol obturation cement).



Figuras 2A y 2B. Espectrofotometría de los materiales obturación del diente 1 a través del microscopio electrónico de barrido en el cual se detectaron altas concentraciones puntuales de zinc y calcio, elementos compatibles con los componentes de la matriz inorgánica de la dentina y del cemento de obturación a base de cemento de resina epóxica. Del mismo modo se detectaron trazas de zinc, platino, bario y titanio, metales compatibles con los componentes de la gutapercha, los cuales le confieren las propiedades de radiopacidad

Figures 2A and 2B Spectrophotometry of tooth 1's obturation materials through a scanning electron microscope, which revealed high specific concentrations of zinc and calcium, two elements which are compatible with inorganic components of the dentine matrix and with epoxy resin-based obturation cement. Similarly, residues of zinc, platinum, barium and titanium were detected, which are compatible with gutta-percha components and provide it with radiopacity properties.

En esta temperatura, la amalgama sufre desadaptación marginal, se torna opaca y rugosa al formarse en su superficie nódulos por evaporación del mercurio. El cemento de obturación y la gutapercha, ambos de color blanco, se incineran y no es posible diferenciarlos macroscópicamente.

A los 200 °C y 400 °C el ionómero de vidrio se observa intacto pero separado del material de obturación y de la gutapercha (figuras 3A y 3B). También se puede corroborar el deterioro longitudinal y transversal de los túbulos dentinales (figuras 3C a 3F).

Del mismo modo, a través de las microfotografías electrónicas de barrido, es posible determinar los diferentes elementos químicos que conforman ambos materiales; en las figuras 3A y 3B se evidencian altas concentraciones de zinc y calcio, elemento químico compatible con la matriz inorgánica de la dentina y con el cemento de obturación de resina epóxica; y concentraciones significativas de trazas de zinc, platino, bario y titanio, metales compatibles con los componentes de la gutapercha, los cuales le confieren las propiedades de radiopacidad. Además del análisis químico por fotoespectrometría evidencia grandes concentraciones de elementos químicos como el calcio, el magnesio, el sodio, el cloro y el potasio, iones propios de la matriz inorgánica del esmalte (figura 4).

At this temperature, the amalgam suffers marginal maladaptation and becomes opaque and rough because of the formation of nodules in its surface due to mercury evaporation. Both the obturation cement and the gutta-percha, both white, incinerate and it is not possible to differentiate them macroscopically.

At 200°C and 400°C the glass ionomer remains intact but detached from the obturation material and the gutta-percha (figures 3A and 3B). Longitudinal and transversal deterioration of the dentinal tubules may also be verified (figures. 3C to 3F).

Similarly, by means of scanning electron microphotographs it is possible to determine the diverse chemical elements that compose both materials; figures 3A and 3B show high concentrations of calcium, a chemical element compatible with the dentin's inorganic matrix and with epoxy resin obturation cement, as well as zinc, platinum, barium, and titanium, which are compatible with gutta-percha components and provide it with radiopacity properties. Also, the spectrophotometric chemical analysis proves big concentrations of chemical elements such as calcium, magnesium, sodium, chlorine, and potassium, which are distinctive ions of the enamel's inorganic matrix (figure 4).

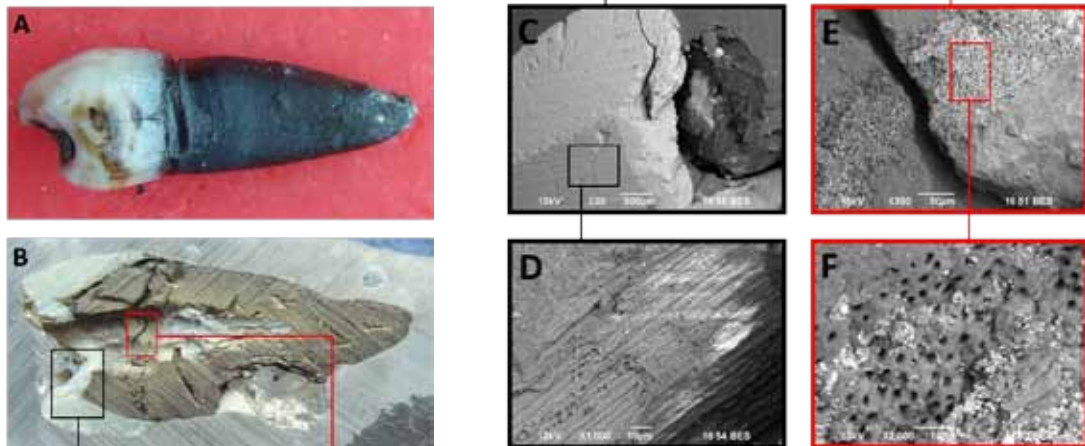


Figura 3A. Fotografía digital del diente 2 sometido a 400 °C en el que se observan la desadaptación marginal y cambio de color del material de obturación de la cavidad (amalgama); B. Fotografía digital del corte longitudinal del diente 2 en el que se observa el cambio de color de la dentina (debido a la carbonización de la matriz orgánica), la cavidad de la obturación desalojada y los materiales empleados en el tratamiento endodóntico (gutapercha y cemento de obturación de óxido de zinc eugenol); C. Microfotografía electrónica de barrido en la que se aprecia un segmento de la dentina; D. Microfotografía electrónica de barrido en la que se aprecia el recorrido transversal de los túbulos dentinales; E y F. Microfotografías electrónicas de barrido en las que se aprecia el corte transversal de los túbulos dentinales

Figure 3A. Digital photograph of teeth 2 subjected to 400 °C, in which marginal maladaptation and color change of the cavity's obturation material (amalgam) may be observed; B. Digital photograph of tooth 2's longitudinal incision, in which dentine color change may be observed (due to carbonization of the organic matrix); it also shows the obturation cavity removed and the materials used for endodontic treatment (gutta-percha and oxide of zinc eugenol-based obturation cement); C. Scanning electron microphotograph showing a segment of the dentine; D. Scanning electron microphotograph showing the transversal trajectory of the dentinal tubules; E and F. Scanning electron microphotograph showing the transversal section of the dentinal tubules.

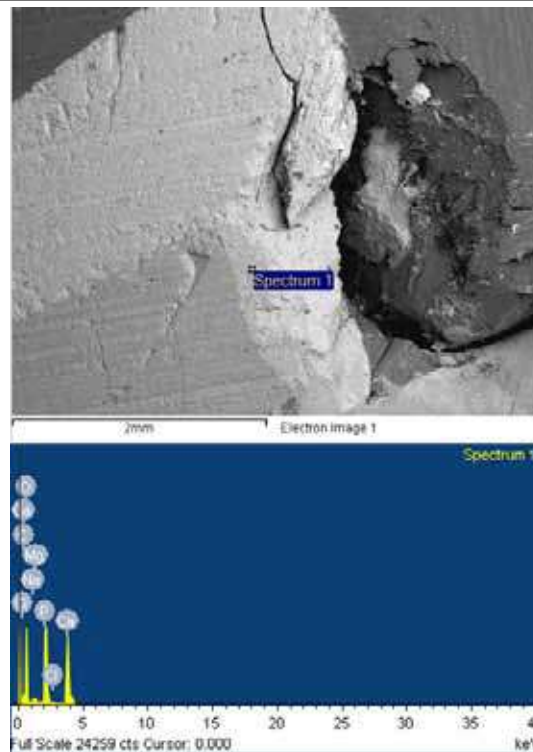


Figura 4. Espectrofotometría del esmalte del diente 2 a través del microscopio electrónico de barrido en el cual se detectaron altas concentraciones puntuales de calcio, magnesio, sodio, cloro y potasio, iones propios de la matriz inorgánica del esmalte

Figure 4. Spectrophotometry of tooth 2's enamel through the scanning electron microscope, which proved high specific concentrations of calcium, magnesium, sodium, chloride, and potassium, which are distinctive ions of the enamels' inorganic matrix.

DISCUSIÓN

Este estudio piloto *in vitro* pone en evidencia cómo los tejidos dentales y los materiales de uso odontológico empleados resisten la acción de las altas temperaturas y presentan cambios específicos en cada temperatura a los que fueron sometidos. Es importante mencionar que *in vivo* estos cambios pueden variar según factores extrínsecos como tiempo de exposición al ataque térmico, naturaleza de la causa del fuego, participación de sustancias combustibles, curva de elevación de la temperatura y sustancias empleadas para extinguir el fuego; y factores intrínsecos como el coeficiente térmico de expansión de los tejidos y los materiales, además del punto de fusión de estos últimos. Sin embargo, *in situ*, los dientes no se exponen de manera directa al fuego (sobre todo los dientes posteriores), ya que se encuentran protegidos por los tejidos periorales, la musculatura facial y para el caso de la raíces, por todo el periodonto de protección y las corticales óseas de los huesos basales, maxilar y mandíbula.¹⁹⁻²²

DISCUSSION

This *in vitro* pilot study demonstrates how dental tissues and materials of dental use resist the action of high temperatures and undergo specific changes under each of the temperatures to which they were subjected. It is important to point out that these changes may vary *in vivo* due to extrinsic factors such as time of exposure to the thermic attack, nature of the cause of the fire, involvement of combustion substances, temperature elevation curve, and the substances used to extinguish the fire, as well as intrinsic factors such as the thermal expansion coefficient of tissues and materials, and the point of fusion of the later. *In situ*, however, teeth (especially the posterior ones) are not directly exposed to fire because they are protected by perioral tissues, facial musculature and, in the case of roots, by all the protective periodontium and the osseous cortical layers of basal, maxillary and mandibular bones.¹⁹⁻²²

Cambios en los tejidos dentales

Uno de los cambios más característicos de los tejidos dentales es el estallido del esmalte en la región cervical. Este fenómeno sucede porque la dentina, con alto contenido orgánico y 12% de agua,²³ se contrae por la deshidratación al ser sometido a altas temperaturas lo que le confiere cierto grado de resistencia respecto al esmalte, el cual tiene alto contenido inorgánico (de 96 a 99%) representado en una estructura mineral conformada por gran cantidad de fosfato de calcio en forma de cristales de apatita,²⁴ lo que hace que este tejido al ser sometido a altas temperaturas pierda el poco contenido de agua y colágeno, lo que ocasiona una fuerte contracción que genera fisuras, grietas y fracturas. Esta discrepancia en la estabilidad dimensional ocasiona que en el tercio cervical el esmalte se fracture a los 200 °C y que se separe de la dentina a los 400 °C. Todos estos cambios fueron reportados en los estudios de Günther y Schmidt —citados por Röttscher y colaboradores,²⁵ Merlati y colaboradores¹ y Moreno y colaboradores—. ¹⁰

En cuanto a las fisuras, grietas, aspecto cuarteado y fracturas de los tejidos dentales, a los 400 °C surgen fisuras en el esmalte que se profundizan hasta la dentina coronal. Este patrón de fisuras y grietas, longitudinales y transversales, hace que la superficie del esmalte y el cemento adquieran un aspecto cuarteado, tal como lo describieron Merlati y colaboradores¹ y Moreno y colaboradores. ¹⁰

Cambios en los materiales dentales

En el caso de la resina, a los 200 °C, inicia el proceso de carbonización por combustión de la matriz acrílica. Este cambio fue reportado por Merlati y colaboradores¹ y Moreno y colaboradores. ¹⁰ En cuanto a la amalgama, los cambios de la textura superficial y de su estructura se encuentran relacionados con los puntos de fusión de los metales que conforman la aleación. A los 400 °C la amalgama presenta la superficie oclusal rugosa asociada a la aparición de nódulos que surgen al evaporarse el mercurio a través de burbujas gaseosas, las cuales al disminuir la temperatura por acción de la presión ambiental agrupan los materiales arrastrados por el mercurio en estos nódulos. Esta condición también fue informada por Merlati y colaboradores,¹ Moreno y colaboradores¹¹ y Günther y Schmidt —citados por Röttscher y colaboradores,²⁵ y Patidar y colaboradores—. ²⁶

Changes in dental tissues

One of the most distinctive changes of dental tissues is the enamel shattering at the cervical region. This phenomenon happens because the dentin, having abundant organic contents and 12% of water,²³ shrinks because of dehydration when subjected to high temperatures. This provides it with certain level of resistance in comparison to the enamel, which has abundant inorganic content (between 96 and 99%), expressed in a mineral structure composed by a great amount of calcium phosphate in the form of apatite crystals;²⁴ therefore, when this tissue is subjected to high temperatures, it loses its small amount of water and collagen, producing a strong contraction that generates fissures, cracks and fractures. This discrepancy in the dimensional stability causes enamel fractures in the cervical third at 200°C and dentin separation at 400°C. All these changes were reported by Günther and Schmidt—cited by Röttscher et al,²⁵ Merlati et al,¹ and Moreno et al—. ¹⁰

In terms of fissures, cracks, fractures and a broken aspect of dental tissues, some fissures appear in the enamel at 400°C, which go as deep as the coronal dentin. This pattern of longitudinal and transversal fissures and cracks makes both the enamel surface and the cementum take a broken aspect, just as Merlati et al¹ and Moreno et al described it. ¹⁰

Changes in dental materials

At 200°C, the resin starts the process of carbonization by combustion of the acrylic matrix. This change was reported by Merlati et al¹ and Moreno et al. ¹⁰ In terms of the amalgam, the changes on its surface texture and its structure are related to the melting points of the metals that make part of the alloy. At 400°C the occlusal surface of the amalgam becomes bumpy due to the emergence of nodules because of mercury evaporating through gaseous bubbles. When temperature decreases due to the action of atmospheric pressure, these bubbles gather the materials dragged by the mercury in the nodules. This condition was also reported by Merlati et al,¹ Moreno et al,¹¹ Günther and Schmidt —cited by Röttscher et al—,²⁵ and Patidar et al.²⁶

El ionómero de vidrio evidencia los mismos cambios reportados por Moreno y colaboradores,¹¹ los cuales no resultan evidentes en todas las muestras debido en gran parte al grosor de película del material de acuerdo con sus funciones como protector pulpar, base cavitaria y selle coronal del tratamiento endodóncico.

En cuanto los materiales de obturación endodóntica, no se encontraron reportes en la literatura que discutan el comportamiento de los cementos endodóncicos empleados en este estudio. Por lo tanto la discusión se centra en la gutapercha. Este material termoplástico se caracteriza por tener una consistencia blanda entre los 25 °C y 30 °C y fluida a partir de los 60 °C, características que se pueden observar *in vitro*; sin embargo, López y colaboradores²⁷ indican que *in vivo* la gutapercha es capaz de resistir temperaturas externas elevadas, lo cual concuerda con el estudio de Savio y colaboradores.³

Fotoespectrometría

El tratamiento endodóncico convencional consiste en la obturación tridimensional del (los) conducto(s) radicular(es) con materiales biocompatibles, insolubles, termoplásticos y radiopacos, que logre aislar el medio externo (tejidos periodontales) del medio interno (conducto radicular). Para ello, se emplean la gutapercha —la cual es un polímero de isopreno constituido por gutapercha (20%), ceras (3%), óxido de zinc (66%), metales pesados (11%) y colorantes— y diferentes cementos a base de óxido de zinc o de resina.²⁸

Para el caso de individuos cuyo cadáver o restos resulten quemados, carbonizados o incinerados, los tejidos periorales (epidermis, dermis y músculos faciales), los tejidos periodontales (encía, hueso alveolar y ligamento periodontal) y los tejidos dentales (esmalte, dentina y cemento) se comportan como agentes aislantes o factores protectores de los materiales empleados en la obturación de los conductos durante un tratamiento de endodoncia, ante las altas temperaturas, lo cual permite obtener valiosa información, sobre un tratamiento endodóncico a partir de la descripción física y de los componentes químicos, que puede llegar a ser empleada en el cotejo entre los registros posmórtem y la información recopilada antemórtem durante un procedimiento de identificación odontológica.

Bonavilla y colaboradores²⁹ hicieron un estudio a través de microscopía electrónica de barrido y fotoespectrometría,

The glass ionomer suffers the same changes reported by Moreno et al,¹¹ but they do not occur in all the samples due in part to the thickness of the material according to its functions as pulpal protector, cavity base and coronal seal of the endodontic treatment.

In terms of endodontic obturation materials, the literature does not include reports discussing the behavior of the kinds of endodontic cement used in this study. That's why the discussion will focus on gutta-percha. This thermoplastic material is characterized for having a soft consistency between 25°C and 30°C, and a fluid one from 60°C on. These characteristics can be observed *in vitro*; nevertheless, López et al²⁷ indicate that gutta-percha can resist high external temperatures *in vivo*, and this agrees with the study by Savio et al.³

Spectrophotometry

A standard endodontic treatment consists of a tridimensional obturation of the radicular conduct(s) with biocompatible, insoluble, thermoplastic and radiopaque materials in order to separate the external environment (periodontal tissue) from the internal one (radicular canal). This is done by using gutta-percha —an isoprene polymer composed of gutta-percha (20%), waxes (3%), zinc oxide (66%), heavy metals (11%), and coloring— as well as different zinc oxide or resin cements.²⁸

In the case of individuals whose corpse or human remains have been charred, carbonized or incinerated, when subjected to high temperatures the perioral tissues (epidermis, dermis, facial muscles), periodontal tissues (enamel, alveolar bone, periodontal ligament) and dental tissues (enamel, dentin, cementum) behave as insulating agents or protective factors of the materials used for canals obturation during an endodontic treatment. This offers valuable information about the endodontic treatment based on both physical description and chemical components, which may be used during the comparisons between postmortem records and the antemortem information collected during a process of dental identification.

Bonavilla et al²⁹ conducted a study by means of scanning electron microscopy and spectrophotometry,

en el que examinaron los materiales de obturación de dientes humanos tratados endodónticamente sometidos a altas temperaturas, en el que encontraron concentraciones significativas de metales pesados como bario, zinc, iterbio, estroncio y silicatos, todos ellos componentes de la gutapercha y cuya función es brindarle a este material las características radiopacas que se requieren para su uso clínico.

De igual forma en este estudio piloto, se encontró en el diente sometido a 400 °C, la presencia de trazas significativas de zinc, platino, bario y titanio, metales compatibles con los componentes de la gutapercha empleada y que le confieren las propiedades de radiopacidad.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Tanto los tejidos dentales (esmalte, dentina y cemento) como los diferentes materiales de uso odontológico empleados en el tratamiento endodóncico y de operatoria de los dientes, evidencian una serie de cambios específicos en cada temperatura (textura, fisuras, grietas, fracturas, fragmentación), por lo cual su comportamiento macroscópico y microscópico brinda valiosa información sobre los grados de temperatura analizados.

El análisis químico de ambos dientes sometidos a altas temperaturas *in vitro*, a través de espectrofotometría, permite identificar los componentes de los materiales de uso odontológico posterior a la exposición de las altas temperaturas, lo cual se puede constituir en una valiosa herramienta de uso forense durante los procedimientos de identificación odontológica en el caso de cadáveres quemados, carbonizados e incinerados.

Los resultados preliminares de este estudio piloto, el cual hace parte de la Línea de Investigación Antropología Dental y Odontología Forense del Grupo de investigación Cirugía Oral y Maxilofacial de la Escuela de Odontología de la Universidad del Valle en una alianza estratégica con fines de cooperación científica con el Grupo de Investigación Tejidos Blandos y Mineralizados de la Escuela de Ciencias Básicas de la Universidad del Valle, evidencian la necesidad de hacer un estudio más detallado con mayor número de muestra y en rangos mayores de temperatura, que permita analizar los tejidos dentales y los materiales de uso odontológico, a través de microscopía electrónica de barrido y espectrofotometría de masa (dado que el área de campo espectrofotométrico del microscopio electrónico de barrido empleado es muy pequeño y preciso).

in which they examined the obturation materials of endodontically treated human teeth subjected to high temperatures, finding out extensive concentrations of heavy metals such as barium, zinc, ytterbium, strontium, and silicates, all of which are components of gutta-percha and provide it with the radiopaque characteristics that are required for its clinical use.

Similarly, in this pilot study significant remnants of zinc, platinum, barium, and titanium were found in the teeth subjected to 400° C. All of these metals are compatible with components of the gutta-percha used and provide it with its radiopaque properties.

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

Both dental tissues (enamel, dentin and cementum) and the diverse materials used in endodontic treatment and in dental operations undergo a series of specific changes under each temperature (texture, fissures, cracks, fractures, fragmentation); therefore, their macro- and microscopic behavior offer valuable information about the temperature ranges analyzed.

The chemical analysis of both teeth subjected to high temperatures *in vitro*, by means of spectrophotometry, allows identification of the components of the materials of dental use after exposition to higher temperatures. This may become a valuable tool of forensic use during the procedures of dental identification of charred, carbonized or incinerated corpses.

The preliminary findings of this pilot study, which makes part of the research field of Dental Anthropology and Forensic Dentistry of the Research Group on Oral and Maxillofacial Surgery of Universidad del Valle's Escuela de Odontología, in a strategic alliance of scientific cooperation with the Research Group on Soft and Mineralized Tissues of the Universidad del Valle's Escuela de Ciencias Básicas, express the need of more detailed studies with a greater amount of samples and higher temperature ranges that would allow an analysis of dental tissues and materials of dental use by means of scanning electron microscopy and mass spectrophotometry (since the scanning electron microscope spectrophotometric depth field is too small and too specific).

No obstante, se presenta la estandarización de la técnica para manipular y observar dientes humanos en estudios *in vitro* de altas temperaturas.

Nevertheless, standardization of the technique to manipulate and observe human teeth in *in vitro* studies with high temperatures has been presented here.

CORRESPONDENCIA

Freddy Moreno Gómez
PBX: 554 24 69. Fax: 558 19 41
Celular: 311 307 0410
Correo electrónico: freddymg@univalle.edu.co
Universidad del Valle
Escuela de Odontología
Calle 4B N.º 36-00 Edificio 132 Oficina 308
Cali, Colombia

CORRESPONDING AUTHOR

Freddy Moreno Gómez
PBX: 554 24 69 - Fax: 558 19 41
Cell phone #: 311 307 0410 311 307 0410
E-mail address: freddymg@univalle.edu.co
Universidad del Valle
Escuela de Odontología
Calle 4B No. 36-00 Edificio 132 Oficina 308
Cali-Colombia

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Merlati G, Savio C, Danesino P, Fassina G, Menghini P. Further Study of restored and unrestored teeth subjected to high temperatures. *J Forensic Odontostomatol* 2004; 22: 17-24.
2. Mazza A, Merlati G, Savio C, Fassina G, Menghini P, Danesino P. Observations on dental structures when placed in contact with acids: Experimental studies to aid identification processes. *J Forensic Sci* 2005; 50: 406-410.
3. Savio C, Merlati G, Danesino P, Fassina G, Menghini P. Radiographic evaluation of teeth subjected to high temperatures: Experimental study to aid identification processes. *Forensic Sci Int* 2006; 158: 108-116.
4. Espina A, Barrios F, Ortega A, Mavarez M, Espina O, Ferreira J. Cambios estructurales en los tejidos dentales duros por acción del fuego directo, según edad cronológica. *Cien Odontol* 2004; 1: 38-51.
5. Ferreira JL, Espina AL, Barrios FA, Mavarez MG. Conservación de las estructuras orales y faciales del cadáver quemado. *Cien Odontol* 2005; 2: 58-65.
6. Ferreira JL, Espina de Ferreira A, Ortega AI. Methods for the analysis of hard dental tissues exposed to high temperatures. *Forensic Sci Int* 2008; 178: 119-124.
7. Bush MA, Bush PJ, Miller RG. Detection and classification of composite resins in incinerated teeth for forensic purposes. *J Forensic Sci* 2006; 51(3): 636-642.
8. Bush MA, Miller RG, Prutsman-Pfeiffer J, Bush PJ. Identification through X-ray fluorescence analysis of dental restorative resin materials: A comprehensive study of non-cremated, cremated, and processed-cremated individuals. *J Forensic Sci* 2007; 52(1): 157-165.
9. Bush MA, Miller RG, Norrlander AL, Bush PJ. Analytical survey of restorative resins by SEM/EDS and XRF: databases for forensic purposes. *J Forensic Sci* 2008; 53(2): 419-425.
10. Moreno S, León ME, Marín L, Moreno F. Comportamiento de los tejidos dentales y de algunos materiales de obturación dental sometidos a altas temperaturas con fines forenses. *Colomb Med* 2008; 39(1): 28-46.
11. Moreno S, Marín L, Merlati G, Savio C, Moreno F. Effects of high temperatures on different dental restorative systems: experimental study to aid identification processes. *J Forensic Dent Sci* 2009; 1(1): 17-23.
12. Vázquez L, Rodríguez P, Moreno F. Análisis macroscópico *in vitro* de los tejidos dentales y de algunos materiales dentales de uso en endodoncia, sometidos a altas temperaturas con fines forenses. *Rev Odont Mex* 2010 (en prensa).
13. Colombia. Ministerio de la Protección Social. Resolución N.º 008430/1993 de octubre 4. Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud [fecha de acceso febrero de 2009] URL disponible en <http://www.minproteccionsocial.gov.co/vbecontent/library/documents/DocNewsNo267711.pdf>.
14. Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Declaración de Helsinki. Finlandia, junio de 1964 [fecha acceso febrero de 2009] URL disponible en <http://www.wma.net/s/policy/b3.htm>.
15. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Materiales odontológicos: Ensayo de la adhesión a la estructura dental. Bogotá: Icontec 4882; 2000.
16. International Organization of Standardization. Dental materials: Testing of adhesion to tooth structure. ISO/TS 11405: 2003.
17. Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. 8.ª ed. St. Louis: Mosby; 2002.
18. Delattre VF. Burned beyond recognition: Systematic approach to the dental identification of charred human remains. *J Forensic Sci* 2000; 45: 589-596.

19. Moya V, Roldán B, Sánchez JA. Odontología legal y forense. Barcelona: Masson; 1994.
20. Norrlander AL. Burned and incinerated remains. En: Bowers CM, Bell GL, Eds. Manual of forensic odontology. 3.^a ed. Colorado Springs: American Society of Forensic Odontology; 1997. p. 16-18.
21. Bohnert M, Rost T, Pollak S. The degree of destruction of human bodies relation to the duration of the fire. Forensic Sci Int 1998; 95:11-21.
22. Delattre VF. Burned beyond recognition: Systematic approach to the dental identification of charred human remains. J Forensic Sci 2000; 45: 589-596.
23. Torneck CD. El complejo pulpodentinario. En: Ten Cate AR, ed. Histología oral: desarrollo, estructura y función. 2.^a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1986. p. 190-235.
24. Eisenmann DR. Estructura del esmalte. En: Ten Cate AR, Editor Histología oral: desarrollo, estructura y función. 2.^a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1986. p. 252-273.
25. Röttscher K, Grundmann C, Benthaus S. The effects of high temperatures on human teeth and dentures. Int Poster J Dent Oral Med 2004; 6: Póster 213.
26. Patidar KA, Parwani R, Wanjari S. Effects of high temperature of different restorations in forensic identification: dental samples and mandible. J Forensic Dent Sci 2010; 2(1): 37-43.
27. López L, Arimany J, Prieto L, Martínez M. Importancia de la endodoncia en la identificación de cadáveres carbonizados. A propósito de un caso. Tercera Jornada Catalana de Actualización en Medicina Forense. España. Barcelona: Departamento de Justicia de Cataluña; 1995. p. 215-223.
28. Friedman CE, Sandrik JL, Heuer MA, Rapp GW. Composition and physical properties of gutta-percha endodontic filling materials. J Endod 1977; 3: 304-308.
29. Bonavilla JD, Bush MA, Bush PJ, Pantera EA. Identification of incinerated root canal filling materials after exposure to high heat incineration. Forensic Sci 2008; 53(2): 412-408.