

Penetración de cementos biocerámicos en túbulos dentinales en tres técnicas de termoplastificación

Penetration depth of bioceramics sealers into dentinal tubules in three warm guttapercha obturation techniques

Titulillo: Biocerámicos en dentina

Fabiana Iveth López Jiménez

Odontóloga, Universidad de Costa Rica. Residente de segundo año en Endodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. lopezjfabianai@javeriana.edu.co

Soo Nam Jang Jaramillo

Odontólogo, Universidad Internacional del Ecuador. Residente de segundo año en Endodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. soo.jang@javeriana.edu.co

Adriana Rodríguez Ciodaro

Bacterióloga, Magistra en Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana. Profesora Asociada, Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. aciodaro@gmail.com

Catalina Méndez de la Espriella

Odontóloga, Colegio Odontológico Colombiano. Especialista en Endodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. Profesora Asistente, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. catalina.mendez@javeriana.edu.co

RESUMEN

Antecedentes: Los cementos selladores biocerámicos han mostrado propiedades adecuadas cuando son analizados bajo pruebas en condiciones estándar, pero existe poca información sobre

su desempeño bajo técnicas de obturación que involucren calor. **Objetivo:** Evaluar la capacidad de penetración en túbulos dentinales, del cemento biocerámico BioRoot™ RCS (Septodont, USA), en tres técnicas de obturación con calor: condensación híbrida mixta (CHM), Guttacore® (G) y condensación vertical de Schilder (CV). **Métodos:** Estudio *in vitro* con una muestra total de setenta dientes unirradiculares humanos divididos aleatoriamente de acuerdo a la técnica de obturación en tres grupos experimentales (n=10), dos grupos controles (n=10) y dos grupos de estandarización (n=10), obturados con BioRoot™ RCS marcado con Rodamina B. Los dientes fueron seccionados al mm 1 y 5 desde el ápice, analizados bajo microscopía confocal láser de barrido, midiendo su penetración máxima de profundidad. Se realizó un test de Tukey ($p < 0,05$) y modelo estadístico doblemente generalizado gamma. **Resultados:** La máxima penetración tubular estadísticamente significativa más alta fue alcanzada en el grupo de obturación de CHM, seguido de Guttacore®, CV, cono único, y compactación lateral. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control positivo y control negativo. **Conclusión:** La penetración en túbulos dentinales del cemento sellador BioRoot™ RCS es mayor en las técnicas de obturación que involucran calor.

ABSTRACT

Background: Bioceramic sealers have shown adequate properties when analyzed under standard conditions, only a few studies analyze the performance of the sealers with filling techniques involving heat. **Purpose:** To evaluate the penetration capability of BioRoot™ RCS (Septodont, USA) bioceramic sealer into the dentinal tubules, using it in three heat involved filling techniques: mixed-hybrid condensation (CHM), Guttacore®, and vertical condensation (CV). **Methods:** An *in vitro* study with a total sample of seventy human single-rooted teeth divided according to the filling technique into three experimental groups (n = 10), two control groups (n = 10) and two standardization groups (n = 10), filled with BioRoot™ RCS marked with Rhodamine B. The teeth were sectioned at 1 and 5 mm from the apex, analyzed under confocal scanning laser microscopy and maximum penetration depth determined. A Tukey test ($p < 0.05$) and a double generalized gamma statistical model were performed. **Results:** The highest tubular penetration was achieved in the CHM obturation group with statistical significance, followed by Guttacore®, CV, single cone, and lateral compaction. No statistically significant differences were observed between the

positive control and negative control groups. **Conclusion:** Penetration into dentinal tubules of BioRoot™ RCS sealer is greater in filling techniques that involve heat.

Palabras clave: cemento de silicato de calcio; dentina; endodoncia; material de obturación radicular; microscopía confocal; obturación de conductos radiculares; permeabilidad dentinal; rodamina B.

Key words: calcium silicate sealer; dentin; dentinal permeability; endodontics; confocal microscopy; rhodamine B; root canal filling material; root canal obturation.

INTRODUCCIÓN

Lograr una obturación completa del sistema de conductos radiculares utilizando los diferentes materiales de obturación disponibles actualmente, es complejo debido a la anatomía misma, como a los cambios dimensionales y a la falta de adhesión que presenta la gutapercha. La falla en el selle hermético, sea por fallas adhesivas o cohesivas de la gutapercha o del cemento sellador, además del selle en coronal, es el factor primario que influencia la microfiltración y la reinfección del canal radicular, reduciendo el pronóstico del tratamiento realizado. En busca de esto, se han introducido en los últimos años, los cementos biocerámicos tales como el BioRoot™ RCS (Septodont, USA), mostrándose como materiales ideales con excelente radiopacidad, sin contracción dimensional, insolubles e hidrofílicos, además de presentar acción antimicrobiana, en presentación premezclada e inyectable (1). Estos cementos biocerámicos, logran un excelente hermetismo por la excelente adhesión a la dentina de los conductos radiculares, debido a la difusión tubular de sus partículas, la infiltración del contenido mineral del cemento, y la reacción de los silicatos de calcio con la humedad de la dentina, lo que da como resultado la formación de hidroxiapatita a lo largo de la zona de infiltración mineral (2).

No se encuentra reportado en la literatura, restricción alguna en el uso de cementos selladores biocerámicos en endodoncia. Están indicados como cementos selladores en obturación de conductos radiculares, en reparación de perforaciones, en retro-obturaciones, en pulpotomías, en resorciones, en apexificaciones, y en endodoncia regenerativa, independientemente de la técnica utilizada (3). Los cementos selladores biocerámicos han mostrado propiedades adecuadas cuando son observados bajo pruebas en condiciones estándar, pero existe poca información sobre su

desempeño bajo técnicas de obturación que involucren calor. Qu *et al.* (4), mostraron una influencia de la técnica de compactación vertical en el tiempo de fraguado, la fluidez y la porosidad de distintos cementos selladores. Encontrando que hubo una reducción del tiempo de fraguado y la fluidez de cementos selladores a base de silicona y a base de silicato de calcio, con el aumento de la temperatura en la compactación vertical.

Tomando en cuenta esta posible influencia del calor de la técnica de obturación utilizada, sobre las propiedades físicas del cemento sellador biocerámico, se pretende con esta investigación evaluar la capacidad de penetración en túbulos dentinales, del cemento biocerámico BioRoot™ RCS (Septodont, USA), en tres técnicas de obturación que incluyen calor, la técnica de condensación híbrida mixta (CHM), el Guttacore® (G) y la técnica de condensación vertical de Schilder (CV). Y surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la capacidad de penetración en túbulos dentinales, del BioRoot™ RCS (Septodont, USA), con las técnicas de obturación condensación híbrida mixta, Guttacore® y condensación vertical de Schilder?

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de penetración en túbulos dentinales, del cemento biocerámico BioRoot™ RCS (Septodont, USA), en tres técnicas de obturación con calor: condensación híbrida mixta, Guttacore® y condensación vertical de Schilder.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con aprobación del Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana - CIEFOPUJ, se realizó un estudio de tipo experimental *in vitro*, con una muestra total de 70 dientes uniradiculares humanos extraídos y almacenados en solución salina e hipoclorito de sodio. Los dientes con fracturas radiculares verticales u horizontales, caries radicular, tratamiento endodóntico previo, ápice abierto, resorciones internas, resorciones externas, y/o resorciones apicales fueron excluidos del estudio

Cada diente fue decoronado y estandarizado a 16mm con pieza de baja velocidad y disco de carburo. Se introdujo una lima tipo K #10 (Dentsply Maillefer, Suiza) para establecer la permeabilidad del conducto; una vez la lima alcanzó el nivel del foramen mayor se restó -0.5 mm para establecer la longitud de trabajo definitiva. Se realizó la preparación biomecánica con limas de movimiento recíprocante Wave One Gold® Primary (25 7%) (Dentsply/Sirona, Suiza)

utilizando un motor eléctrico X-Smart Plus® (Dentsply/Sirona, Suiza), con las indicaciones del fabricante. La irrigación durante la instrumentación fue llevada a cabo con un total de 15 ml de hipoclorito de sodio al 5,25%. Se realizó activación del irrigante por medio de activación sónica con Endoactivator® (Dentsply Maillefer, USA). Como protocolo de irrigación final se utilizó EDTA al 17% (Eufar, Medellín, Colombia) 5 ml por un minuto y posteriormente 5 ml de solución salina para lavar y neutralizar. Se secó el conducto con puntas de papel estériles Wave One Gold® Primary. Posteriormente, 50 de los 70 dientes fueron distribuidos aleatoriamente en 5 grupos:

- **Grupo 1 experimental:** técnica de obturación condensación híbrida mixta (CHM), con cemento biocerámico BioRoot™ RCS (n=10 dientes).
- **Grupo 2 experimental:** técnica de obturación Guttacore® (G), con cemento biocerámico BioRoot™ RCS (n=10 dientes).
- **Grupo 3 experimental:** técnica de obturación de condensación vertical de Schilder (CV), con cemento biocerámico BioRoot™ RCS y cono de gutapercha Wave One Gold® (n=10 dientes).
- **Grupo control 1:** técnica de obturación de compactación lateral (CL), con cemento biocerámico BioRoot™ RCS (n=10 dientes).
- **Grupo control 2:** técnica de obturación de cono único (CU), con cemento biocerámico BioRoot™ RCS (n=10 dientes).

Previo a realizar la obturación el cemento sellador BioRoot™ RCS fue marcado con Rodamina B, $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$, a una concentración aproximada de 0,1% para permitir el análisis de estas muestras bajo el microscopio confocal láser de barrido (CLSM). El cemento sellador fue llevado al conducto radicular por medio de una punta de papel para barnizar las paredes del conducto y llevar a cabo la técnica de obturación dependiendo del grupo experimental o grupo control. Una vez terminada la obturación todos los dientes se sellaron en el orificio de entrada del conducto a nivel cervical, con ionómero de vidrio Vitrebond™ (3M, USA) para evitar la contaminación hasta el momento de procesar la muestra. Posteriormente se fabricaron bases estandarizadas en acrílico para cada una de las muestras y se mantuvieron en un ambiente húmedo y sin exposición a la luz por un mínimo de 72 horas.

Se obtuvieron dos discos de dentina de cada muestra con un espesor de 1mm, entre el milímetro 1-2 y 4-5 con respecto al foramen apical mediante dos cortes transversales, utilizando un micrótopo isomet (Isomet Buehler IL) a 200 rpm en enfriamiento continuo con agua a 5 °C para prevenir el calentamiento por fricción, las cuales fueron almacenadas en un ambiente húmedo y sin exposición a la luz hasta la lectura con el CLSM. Como parte del proceso de estandarización y para tener una aproximación de la lectura con el microscopio confocal, se utilizaron los 20 dientes adicionales así: control positivo (n=10 dientes), se les realizó el mismo procedimiento de preparación de las muestras anteriormente descrito y se les obturó por completo con el cemento BioRoot™ RCS (Septodont, USA) previamente marcado con Rodamina B a una concentración aproximada de 0,1% y mezclado de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Control negativo (n=10 dientes), fueron obturados de igual forma pero sin una previa preparación biomecánica. En ambos grupos controles positivo y negativo, se llevó el cemento al conducto por medio de un léntulo #25 (Dentsply, Maillefer) en un micromotor de baja velocidad.

Análisis de las imágenes

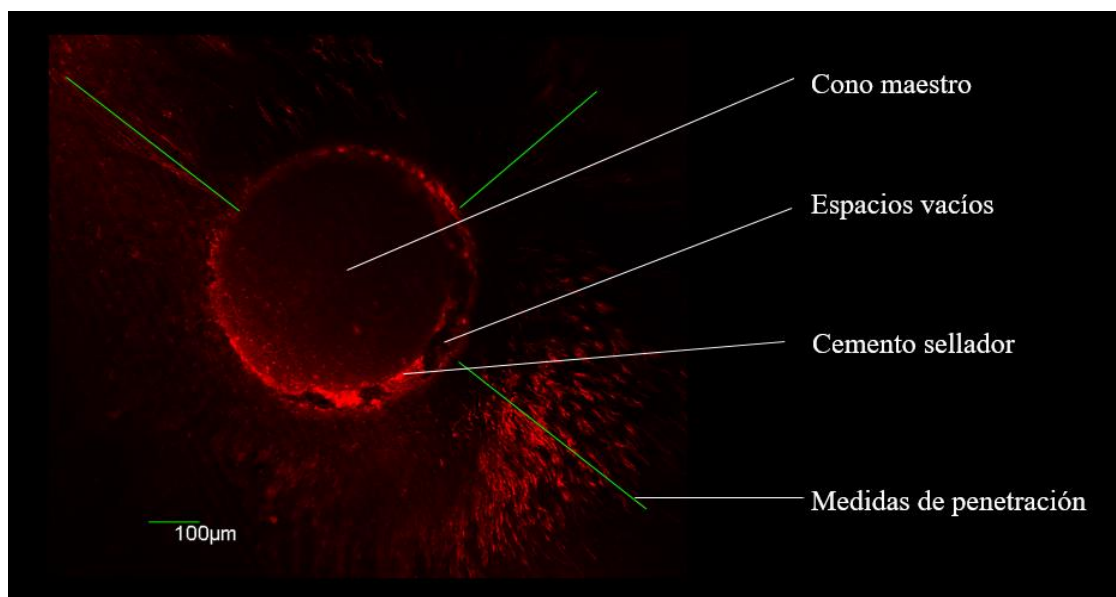


Figura 1. Imagen ilustrativa de disco de dentina tomada con CLSM, utilizado para el análisis de la profundidad de penetración máxima en micrómetros (μm) medida en 3 puntos. Se señala la ubicación del cono maestro, los espacios vacíos y el cemento sellador.

El procedimiento de análisis por microscopía confocal fue realizado en un microscopio confocal (Olympus FV100) en la Facultad de Ciencias Básicas de la Pontificia Universidad Javeriana. Se usaron las longitudes de onda de absorción y emisión de la Rodamina B a 540/590 nanómetros, a un aumento de 60X, haciendo cortes secuenciales en 30 secciones de 0,3 mm aproximadamente. Las imágenes obtenidas fueron analizadas por medio del software Fiji Is Just Image J (Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos). Se evaluó el promedio de la profundidad de la penetración seleccionando 3 puntos y midiendo en micrómetros hasta el punto máximo de penetración de la rodamina, de estos puntos se obtuvo un promedio (Figura 1).

Análisis de la información

Inicialmente se realizó la prueba de Kolmogorov Smirnov para conocer el comportamiento de la variable. Seguido por el test de Tukey para la comparación entre pares de muestra. Se considera significativo $p < 0,05$ con un nivel de significancia del 95%. Tipo de diseño: Diseño en bloques, utilizado para minimizar el efecto de la variabilidad cuando se asocia con unidades discretas. Modelo estadístico: modelo doblemente generalizado gamma.

RESULTADOS

De las 5 técnicas evaluadas y los 2 grupos controles, se examinó un total de 140 discos de dentina a los niveles 1 y 5 mm del ápice radicular donde se comparó la capacidad de penetración de túbulos dentinales del cemento BioRoot™ RCS con CLSM. Al comparar la igualdad de varianzas entre los tratamientos se pudo identificar que la variabilidad entre ellos fue heterogénea causando dispersión de los datos al interior de cada uno, con una varianza relativa para cada uno, conllevando a un comportamiento atípico de lo esperado.

El diagrama de caja (Box-Plot) demuestra que en el 50% de los discos de dentina observados, la penetración máxima en el grupo de CHM y Guttacore® es mayor, comparado con los grupos de obturación de CL, CU y CV de Schilder; los cuales, tienen un comportamiento más paralelo, y en donde el control negativo y positivo presentan gran dispersión en su comportamiento. Por otra parte, en el grupo de cono único hay 3 datos extremos que si se tienen en cuenta determinan un recorrido total de la distribución mayor en este grupo (Figura 2). En consecuencia, esta primera aproximación gráfica, no permite llegar a ninguna conclusión.

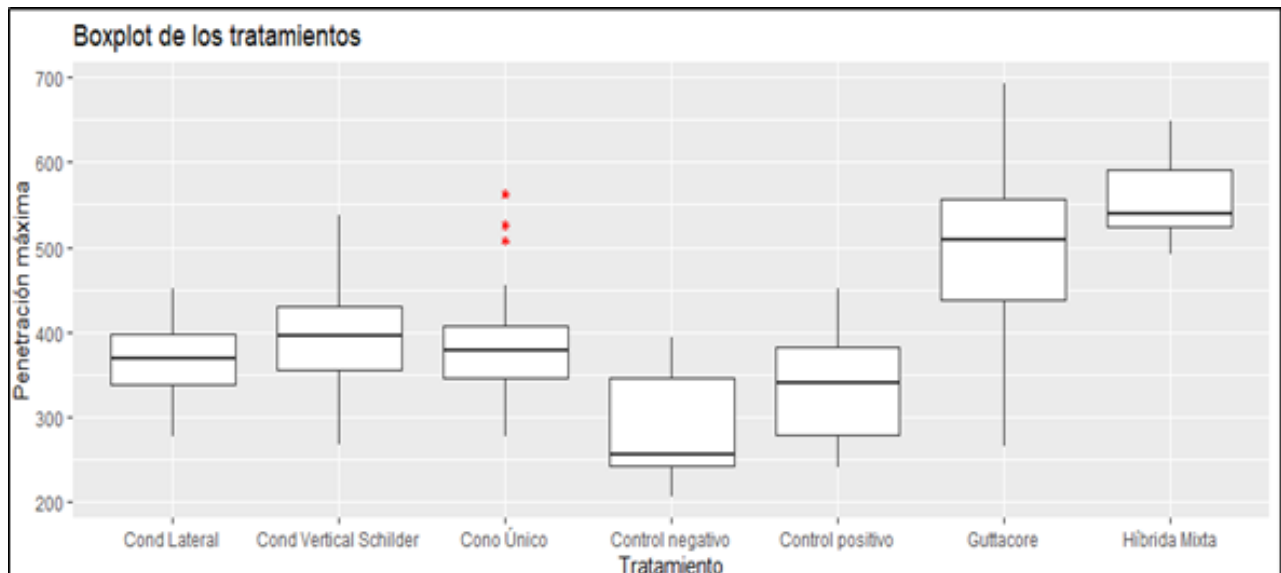


Figura 2. Diagrama de caja (Box-Plot) por técnica de tratamiento endodóntico.

Con base en la información señalada, se construye un modelo lineal generalizado (GLM) gamma, adicional a ello se modeló la varianza de los datos, conllevando aplicar un modelo doblemente generalizado gamma. Mediante la prueba de Tukey y la prueba de Dunnett se emparejó el comportamiento por pares para identificar cuál de las técnicas de obturación presenta la mayor penetración intratubular, y se confirmó que existe varianza dispersa entre los tratamientos siendo significativa por debajo del 0,05. Con la prueba de Tukey se identificó la capacidad máxima de penetración por grupo, por lo cual, se concluye que entre las 5 técnicas de obturación y los 2 controles, el grupo de técnica híbrida mixta presentó la mayor capacidad de penetración de 553,84 μm , seguido de Guttacore® con una penetración máxima de 502,57 μm , condensación vertical de Schilder 398,27 μm , cono único 391,11 μm , compactación lateral 366,94 μm , control positivo 339,50 μm , y por último control negativo 286,36 μm (Tabla 1).

Tabla 1. Penetración de túbulos dentinales en las diferentes técnicas de obturación.

Técnica de tratamiento	Penetración máxima	Desviación estándar	Muestras	Min	Max
CHM	553,84	45,61	20	490,59	647,50
Guttacore®	502,57	99,81	20	266,16	692,83
CV	398,27	59,00	20	267,96	537,14
CU	391,11	74,08	20	277,19	562,62
CL	366,94	50,07	20	276,43	450,46
C+	339,50	62,15	20	241,00	451,10
C-	286,36	63,20	20	205,53	393,64

Por otra parte, todos los grupos evaluados presentaron diferentes profundidades de penetración. Bajo la prueba de Tukey se observó una diferencia significativa entre todos los grupos, excepto entre el grupo control positivo y el grupo control negativo ($p < 0,05$). A través de la prueba de Dunnett se realizó la comparación de las técnicas de obturación contra los grupos controles. Al comparar el control positivo, con las técnicas CHM y Guttacore® se presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2). Por último, al comparar el control negativo se presentaron diferencias estadísticamente significativas con la técnica CHM, Guttacore® y CV de Schilder (Tabla 3).

Tabla 2. Resultados prueba de Dunnett control positivo versus técnicas de tratamiento.

Técnica de tratamiento	Desviación estándar	Error	z value	Pr(> z)
CL - C+ = 0	27,45	27,48	0,999	0,76
CV - C+ = 0	58,78	27,42	2,143	0,121
CU - C+ = 0	51,61	29,84	1,729	0,277
C- - C+ = 0	-53,13	38,67	-1,374	0,49
Guttacore - C+ = 0	163,07	28,37	5,748	<1e-04
CHM - C+ = 0	214,34	23,35	9,182	<1e-04

Tabla 3. Resultados prueba de Dunnett control negativo versus técnicas de tratamiento.

Técnica de tratamiento	Desviación estándar	Error	z value	Pr(> z)
CL - C- = 0	80,58	35,14	2,293	0,06841
CV - C- = 0	111,91	35,09	3,189	0,00568
CU - C- = 0	104,74	37,01	2,83	0,01665
C+ - C- = 0	53,13	38,67	1,374	0,40045
Guttacore - C- = 0	216,21	35,84	6,033	< 0,001
CHM - C- = 0	267,48	32,01	8,357	< 0,001

En las figuras 3, 4 y 5, se observan las imágenes obtenidas de las muestras con CLSM, donde se observa la penetración del cemento sellador BioRoot™ RCS teñido con Rodamina B, en los túbulos dentinales utilizando diferentes técnicas de obturación.

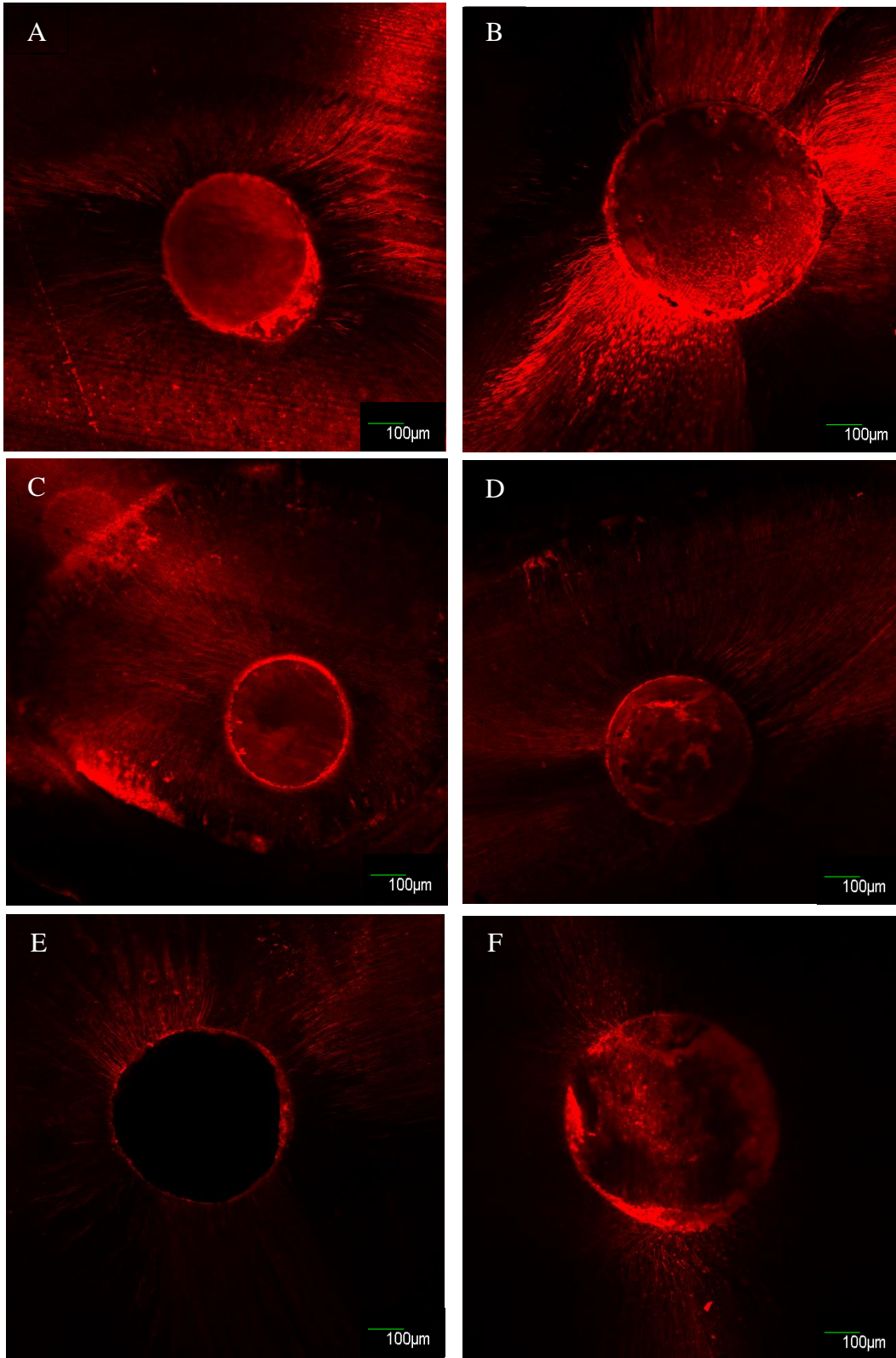


Figura 3. Fotografías con CLSM. (A) CHM 1-2 mm. (B) CHM 4-5 mm. (C) GT 1-2 mm. (D) GT 4-5 mm. (E) CVS 1-2 mm. (F) CVS 4-5 mm.

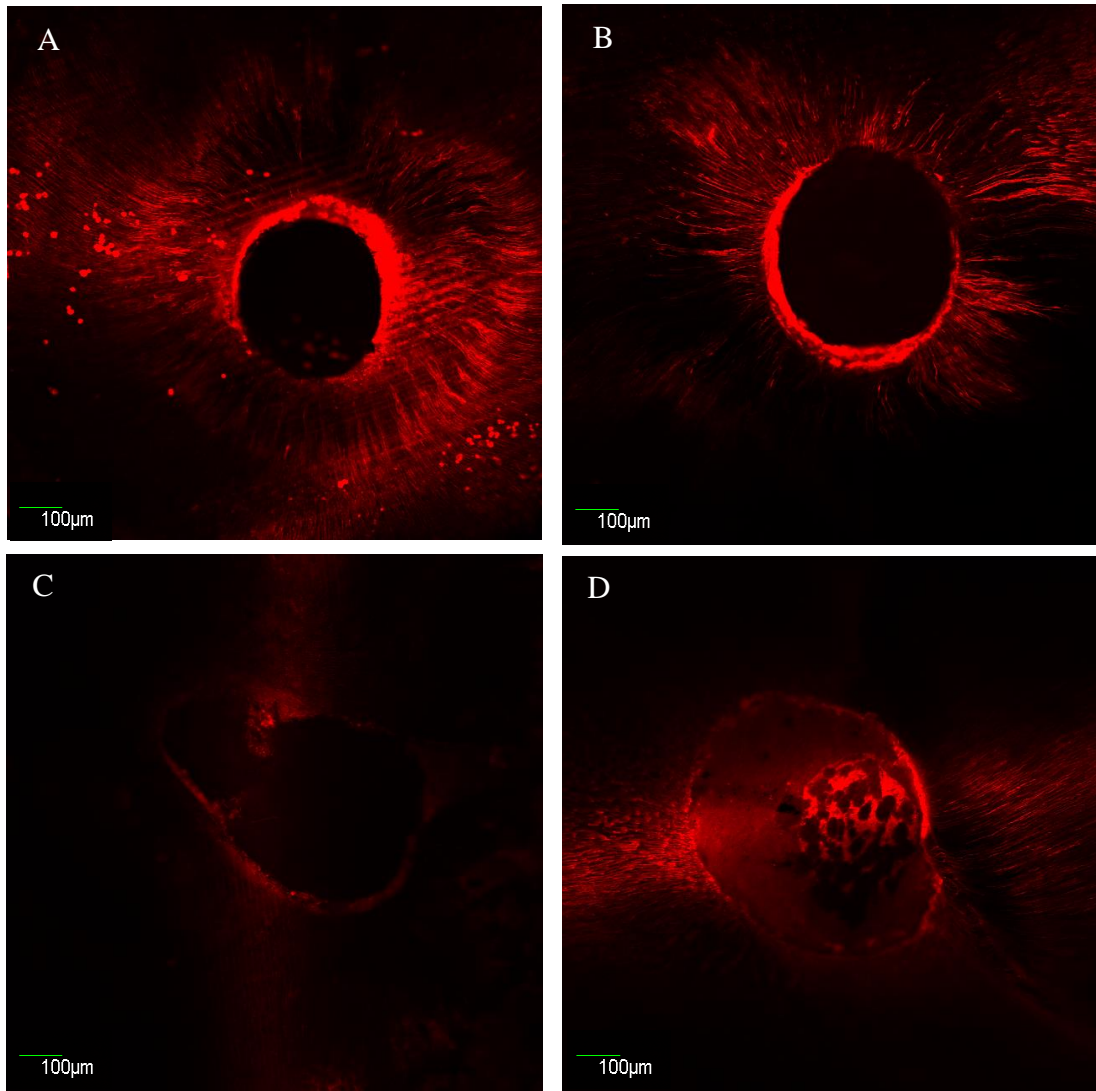


Figura 4. Fotografías con CLSM. **(A)** CU 1-2 mm. **(B)** CU 4-5 mm. **(C)** CL 1-2 mm. **(D)** CL 4-5 mm.

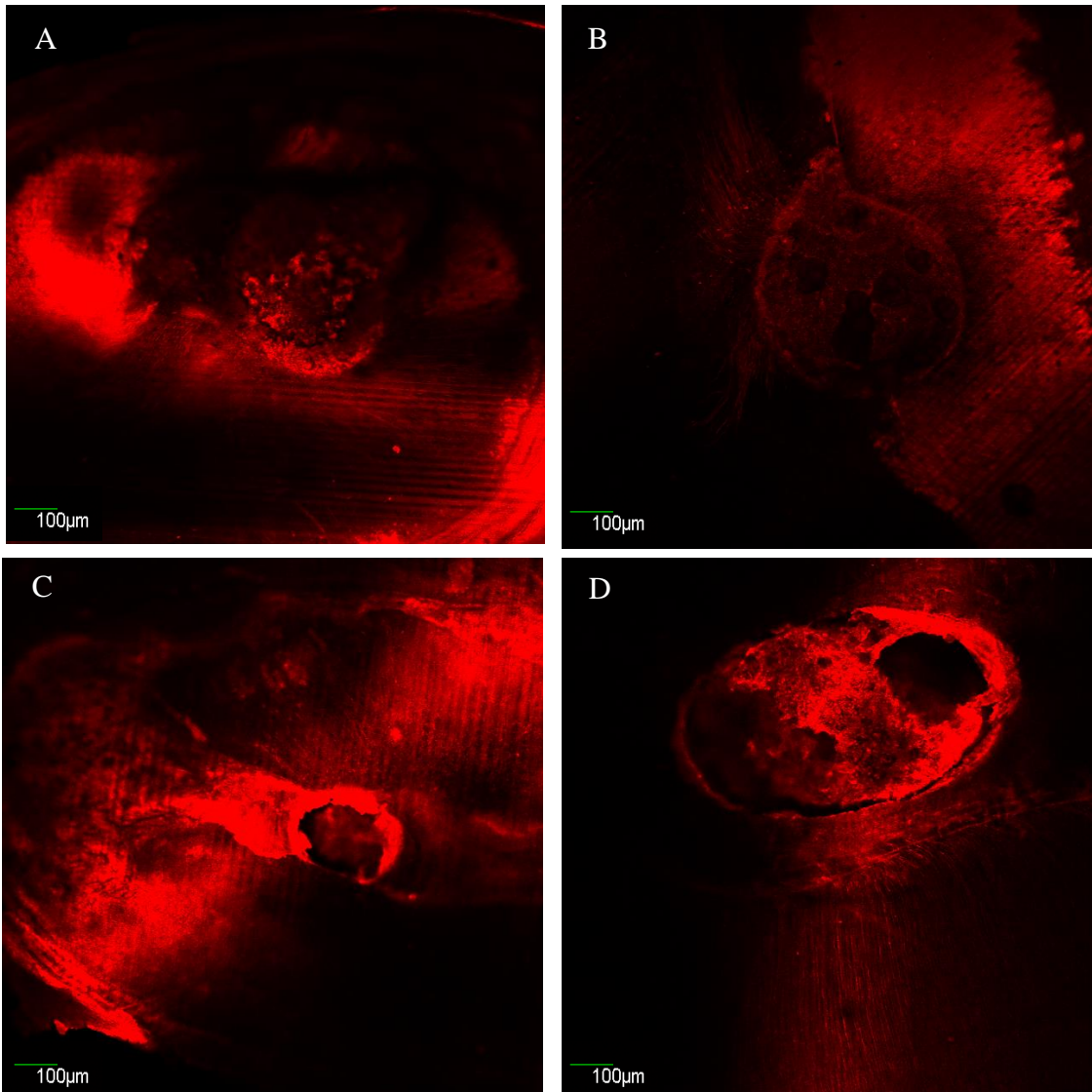


Figura 5. Fotografías con CLSM. **(A)** Control positivo 1-2 mm. **(B)** Control positivo 4-5 mm. **(C)** Control negativo 1-2 mm. **(D)** Control negativo 4-5 mm.

DISCUSIÓN

Para la obturación de los conductos radiculares, los cementos selladores a base de silicato de calcio llaman la atención debido a sus propiedades biocompatibles, bioactividad, capacidad de selle y habilidad oseointuctiva (5). Sin embargo, es esencial que el cemento utilizado en la obturación mantenga un grosor mínimo de la capa adyacente a la pared dentinal para evitar así las fallas adhesivas o cohesivas del mismo, logrando una penetración profunda en los túbulos dentinales a pesar de las irregularidades que pueda presentar el canal radicular (6). La penetración tubular del cemento sellador representa una barrera física para los microorganismos, deja enterrados aquellos

que con la preparación biomecánica no se puedan eliminar y aumenta la retención contra los túbulos dentinales en un aspecto físico; por lo tanto, es muy importante realizar evaluaciones de la penetración tubular con diferentes cementos selladores (7,8). El grado de adhesión y penetración de los cementos selladores dentro de los túbulos dentinales es influenciado por diversos factores como sus propiedades físicas y químicas, la permeabilidad dentinal, la técnica de obturación, y la remoción del barrillo dentinario o smear layer (9).

El cemento BioRoot™ RCS es un cemento sellador a base de silicato de calcio, el cual crea un ambiente favorable para que se lleve a cabo la reparación apical en caso de haber una enfermedad periapical previa, posee propiedades bioactivas, incluyendo la biocompatibilidad, formación de hidroxiapatita, mineralización de la estructura dentinal, pH alcalino y propiedades de selle (10). En la evaluación de sus propiedades físicas ha mostrado una menor fluidez y un mayor grosor de la capa adyacente a la dentina en comparación con el AH Plus® (Dentsply, Maillefer, Ballagues Suiza), y dentro de sus propiedades químicas presenta una mayor liberación de iones de calcio hasta después de 28 días (11). Además de su biocompatibilidad, los cementos selladores a base de silicato de calcio presentan propiedades antimicrobianas contra biopelículas de *Enterococcus faecalis* (12). Esta actividad antibacteriana, ha demostrado ser significativamente mayor en el BioRoot™ RCS, en comparación con otros cementos selladores como en Totalfill BC® (FKG, Suiza) y el AH Plus® (13).

Debido a la popularidad de estos cementos selladores, se ha propuesto el uso con diferentes técnicas de obturación, por lo cual ha sido de interés evaluar el comportamiento de estos en técnicas de obturación que involucren calor. Al evaluar el comportamiento del cemento sellador BioRoot™ RCS frente a la aplicación de calor, Camilleri (14) realizó una evaluación a 100 °C por un minuto, y Aksel *et al.* (15) lo evaluaron a 200 °C por 10 y 30 segundos; y en ambos estudios se reporta que el comportamiento de este cemento sellador frente al calor, es inestable. Influyendo negativamente en el porcentaje de la masa, aumento de la viscosidad y espesor de la película de cemento sellador en la obturación, disminución de la fluidez y disminución del tiempo de fraguado. Estos cambios en la química del cemento sellador se deben a la evaporación del agua, que ocurre a altas temperaturas como las alcanzadas con las técnicas de obturación que involucren calor. Por lo cual recomiendan que el uso de cementos selladores a base de silicato de calcio sea en técnicas de obturación como compactación lateral y cono único (14,15). Evaluando otros cementos selladores

a base de silicato de calcio, Yamauchi *et al.* (16), reportan que al someter a calor a los cementos selladores Endoseal MTA (Maruchi, Wonju, Corea), Well-Root ST (Vericom, Gangwon-Do, Corea), EndoSequence BC Sealer® (Brasseler, Savannah, USA), y EndoSequence BC Sealer® HiFlow (Brasseler, Savannah, USA), estos sufren de la misma forma una disminución en su tiempo de fraguado, disminución de la fluidez, y aumento del espesor del cemento sellador en la obturación. Por lo tanto, estos resultados indican cambios en las propiedades físicas de los cementos selladores a base de silicato de calcio, inducidos por calor, lo cual podría afectar adversamente la calidad de las técnicas de obturación CV, CHM y el Guttacore®. Adicionalmente, al aplicar calor (100°C) durante un minuto en la obturación, se ha visto que el grosor de la capa adyacente a la pared dentinal de los cementos a base de silicato de calcio, aumenta significativamente (16,17).

Mientras que según Hadis *et al.* (18), y Aksel *et al.* (15), al analizar los cementos selladores EndoSequence® HiFlow y AH Plus®, reportaron que la química de ambos cementos selladores se modifica cuando se aplica calor en técnica de CV, disminuyendo su masa al aumentar las temperaturas, sin embargo, no sufren mayor distorsión y ambos se recuperaron cuando se enfriaron. Los transportadores de calor reportan rangos de temperatura alcanzados entre 180 – 230 °C, sin embargo, la temperatura real alcanzada es menor y esta es disipada en el momento que entra en contacto con el diente (18).

Los cementos selladores a base de silicato de calcio presentan altos niveles de hidrofiliidad, y esto sumado al ambiente hidrofílico presente en los conductos radiculares, hace que la absorción de agua y la solubilidad de los cementos selladores sean factores importantes que contribuyen a su estabilidad. Se busca que los cementos selladores muestren una menor microfiltración y una mayor fuerza de adhesión (19). Siboni *et al.* (10) reportan que BioRoot™ RCS demostró una alta absorción de agua inicial después del fraguado; sin embargo, ésta disminuyó 7 días después del fraguado. Mucho se ha discutido sobre estos niveles de humedad residual y cómo afecta la habilidad de selle de los cementos selladores en la obturación, concluyendo que la absorción de agua de los cementos selladores de silicato de calcio promueve una ligera expansión y por lo tanto mejora el sellado (20). Por otra parte, Piazza *et al.* (21), analizaron esta influencia en la penetración y fuerza de adhesión de los cementos a base de resina y silicato de calcio, y demuestran que la

humedad no tuvo ninguna influencia en la penetración tubular ni fuerzas de adhesión de los cementos selladores.

Por otra parte, los cementos selladores a base de resina epóxica son ampliamente utilizados, y muchos estudios han considerado que entre estos, el AH Plus® (Dentsply Sirona, USA) es el cemento sellador gold estándar por sus buenas propiedades fisicoquímicas. El AH Plus® es conocido por su buena estabilidad, alta fuerza de unión a la dentina del conducto radicular, compatibilidad tisular y radiopacidad aceptable. Sin embargo, carece de componentes bioactivos que pueda inducir la mineralización tisular, y pierde sus propiedades antibacterianas después de su reacción de fraguado (22). Los cementos selladores deben ser tolerados por los tejidos periapicales debido a su contacto estrecho con el ligamento periodontal, además deben ser solubles en los fluidos perirradiculares, y ser fagocitados o encapsulados por el tejido conectivo fibroso. Colombo *et al.* (12), evaluar la citotoxicidad del AH Plus® en tejidos periapicales, a las 24 horas observaron que este no muestra ninguna reacción, sin embargo después de 48 horas se presenta una reacción citotóxica moderada. Cabezas *et al.* (23), teniendo en cuenta que la CL tiene una tasa limitada de extrusión apical en comparación con las técnicas de CV, en las que a menudo se observan puff apicales, demostraron que con el uso de un cemento sellador a base de resina epóxica tratada con calor, este cemento sellador no crea ningún efecto adverso en las respuestas celulares, que fueron similares a las observadas con el cemento sellador a temperatura ambiente a lo largo del tiempo.

El CLSM ha sido ampliamente utilizado en el estudio de penetración tubular de varios materiales. En nuestro estudio se eligió utilizar este método de evaluación al lograr realizar cortes de la muestra a profundidades de 20 – 30 μm y su superposición, lo cual provee información sobre la penetración dentinaria de cementos selladores y su distribución dentro de los túbulos dentinales de canales radiculares, al mezclarlos con marcadores fluorescentes como la Rodamina B o Fluo-3 (24). Con el uso de CLSM en el presente estudio, se pudo comprobar que el cemento sellador BioRoot™ RCS posee la capacidad de penetrar los túbulos dentinales independientemente de la técnica utilizada. La mejor técnica de obturación para utilizar con cementos biocerámicos todavía es un tema en discusión.

Un aspecto importante dentro de la investigación de la penetración de los cementos selladores es el tipo de fluoróforo utilizado para el análisis con CLSM. Furtado *et al.* (25), realizaron un estudio

donde se evaluó si la Rodamina B y el Fluo-3 influenciaban la penetración en túbulos dentinales, de cementos selladores a base de resina epóxica y a base de silicato de calcio. Se demostró que la Rodamina B no influencia los resultados con respecto a los cementos selladores a base de resina epóxica, sin embargo, la propiedad hidrofílica de los cementos selladores a base de silicato de calcio genera posibles falsos positivos al ser combinados y analizados con CLSM. La Rodamina B al ser soluble en agua, en combinación con la propiedad hidrofílica de los cementos a base de silicato de calcio puede llevar a una sobreestimación de la penetración de los cementos selladores en los túbulos dentinales. El Fluo-3 aparece como una solución ante este problema al ser utilizado para detectar gradientes de los iones calcio a nivel celular e incrementa su fluorescencia al unirse a los iones de calcio. Por lo tanto recomendamos que en futuros estudios se utilice el Fluo-3 para determinar la penetración de los cementos biocerámicos en los túbulos dentinales.

En la actualidad existen diversos estudios donde se evalúa la penetración tubular de diferentes cementos selladores, los cuales incluyen de igual manera diferentes técnicas de obturación. Es razonable pensar que las técnicas que involucren una mayor presión apical como las técnicas CHM, Guttacore® y CV, resulten en un aumento de la penetración tubular, sin embargo la literatura muestra resultados mixtos, por lo tanto esta suposición no es del todo correcta.

En el presente estudio, se pudo demostrar que las técnicas de obturación que involucran calor como la técnica CHM, Guttacore® y CV de Schilder, presentan una mayor profundidad de penetración tubular comparadas con las técnicas en frío como el CU y la técnica de CL. El pequeño tamaño de las partículas de los cementos selladores a base de silicato de calcio, siendo en el BioRoot™ RCS de un tamaño de 2 – 10 µm, representa una de las razones por las que se produce una penetración profunda de estos cementos selladores incluso con la técnica de cono único (1). Además, su pH básico que desnaturaliza las fibras de colágeno, su alta tasa de viscosidad y su expansión volumétrica, da como resultado una mayor fluidez del cemento sellador en túbulos dentinales, irregularidades anatómicas y gutapercha (26).

Se encuentra reportado en la literatura, con estudios como el de Jeong *et al.* (27), donde al comparar las técnicas de CPoint® (EndoTechnologies, LLC, Shrewsbury, MA), CU y CV, no encontraron diferencia significativa en la penetración de un cemento sellador a base de silicato de calcio en los tres grupos; por lo cual deducen que la expansión higroscópica del CPoint® o la presión extra

realizada en la CV, no mejora o aumenta la profundidad de penetración de estos cementos selladores. McMichael *et al.* (28), evaluaron los cementos selladores MTA Fillapex (Angelus, Londrina, Brasil), BC Sealer® (Brasseler, Savannah, USA), QuickSet2 (Avalon Biomed, Bradenton, FL, USA) y NeoMTA Plus® (Avalon Biomed, Bradenton, FL, USA), con las técnicas de obturación de onda continua y CU, donde se observó que en ambas técnicas de obturación hubo una penetración de túbulos dentinales similar. Wang *et al.* (29), al comparar la penetración en túbulos dentinales del cemento sellador iRoot SP® (Innovative BioCeramix Inc, Vancouver, Canada) y AH Plus®, en obturaciones con técnica de CU y técnica de CV, demostraron que el iRoot SP® presenta más penetración de túbulos dentinales que el AH Plus®, y no hubo diferencia significativa en penetración de acuerdo a la técnica de obturación. Es decir, que la penetración de cementos selladores a base de silicato de calcio ocurre independientemente de la técnica de obturación. Por lo tanto, concluyen que la elección de la técnica de obturación utilizada con cementos selladores a base de silicato de calcio no necesariamente influencia la penetración del cemento.

Reynolds *et al.* (30), reportan que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la penetración de los cementos selladores BC Sealer®, BC Sealer HiFlow®, y el cemento resinoso 2Seal EasymiX® (VDW, Munich, Alemania), sometidos a las técnicas de obturación CU y CV. Sin embargo atribuyen que en sus resultados, juega un rol más significativo el tipo de diente utilizado en el estudio, que el tipo de cemento sellador o la técnica de obturación evaluadas.

Sin embargo, los resultados obtenidos en nuestro estudio, concuerdan con estudios como el de Eid *et al.* (31), donde reportaron una mayor y más profunda penetración de túbulos dentinales con los cementos selladores biocerámicos Bio-C® y HiFlow Brasseler® al utilizar la técnica de CV de Schilder, en comparación a la obturación con técnica de CU. Concluyendo que la aplicación de calor en la técnica de CV mejora la penetración de cementos selladores a base de silicato de calcio en túbulos dentinales.

En la actualidad se encuentra poca información sobre cómo influye la técnica de CHM en la obturación, en comparación con otras técnicas. Sin embargo, nuestro estudio sugiere que la CHM es la técnica de obturación con mayor penetración intratubular en comparación con Guttacore®, CV, CU y CL. Uno de los propósitos de la CL es optimizar el volumen de gutapercha semisólida

en el ápice y minimizar la cantidad de cemento entre la gutapercha y la superficie dentinal. Hirai *et al.* (32), evaluaron la distribución espacial entre gutapercha, cemento sellador y espacios vacíos entre las técnicas de CL y de onda continua por medio de CLSM, donde los porcentajes más altos de espacios vacíos después de la obturación se encuentran en la técnica de CL en comparación con la técnica de onda continua. De esta manera se podría justificar la implementación de calor a la técnica CL.

En la técnica de CHM, se obtura el tercio apical con condensación lateral hasta los últimos 5 mm de la longitud radicular. Seguidamente, a esta longitud se lleva una onda continua de calor a nivel de la unión del tercio apical y medio y se compacta (downpacking), lo que reduce los espacios vacíos en la obturación (33,34). De acuerdo a los resultados obtenidos en nuestro estudio, se demuestra que esta aplicación de calor junto con la compactación vertical realizada en la técnica CHM da como resultado una mayor proporción volumétrica de la gutapercha y promueve la máxima penetración del cemento sellador en túbulos dentinales de todos los grupos experimentales. Esto concuerda con lo demostrado por Ho *et al.* (35), donde al realizar un análisis tridimensional volumétrico de la gutapercha demostraron que la mayor densidad de material obturador se encuentra en las técnicas de obturación que involucran calor.

No se encuentran estudios publicados donde se realice una evaluación de la penetración tubular de cementos selladores al utilizar técnicas de obturación con transportadores como el Guttacore®. En nuestro estudio evaluamos la penetración máxima del BioRoot™ RCS al utilizar la técnica con Guttacore®, donde se demostró que ésta es superior a las técnicas de CV, CU y CL. Es razonable pensar que el calor inducido por la técnica de Guttacore® no alcance una temperatura suficiente para alterar las propiedades físicas del cemento, al punto de afectar su fluidez. Por otro lado, la técnica de obturación Guttacore® produce fuerzas que empujan al cemento hacia las paredes dentinales y conducen al cemento sellador dentro de los túbulos dentinales.

En nuestro estudio se observó que existe una diferencia significativa entre las dos técnicas de obturación en frío, donde la técnica CU mostró una mayor penetración del cemento sellador en los túbulos dentinales que la técnica de CL. Esto puede deberse a que la técnica de CU incluye un paso previo para llevar cemento sellador al conducto radicular con un cono de papel, lo que resulta en una mayor cantidad de cemento sellador en el conducto radicular y en la obturación final, mientras

que la técnica de obturación de CL lleva únicamente el cemento adherido a los conos de gutapercha lo que resulta en una menor cantidad de cemento sellador en la obturación. A diferencia del estudio de Turkyilmaz *et al.* (36), donde analizaron la penetración tubular de cementos selladores a base de resina y un cemento sellador a base de silicato de calcio, utilizando las técnicas CU y CL; donde concluyen que sin influencia del tipo de técnica de obturación en frío, todos los cementos selladores obtuvieron una penetración tubular similar.

En concordancia con nuestro estudio, al realizar una evaluación de la técnica de CL, Arikatla *et al.* (9), evaluaron la penetración de AH Plus®, NeoMTA Plus® y BioRoot™ RCS en túbulos dentinales, donde encontraron una mayor penetración de túbulos dentinales con el AH Plus, cuya fluidez demostró ser mayor debido a la presencia de mayor concentración de resina epóxica en comparación con los cementos biocerámicos. Mientras que al evaluar la técnica de CU, Ackay *et al.* (26), demuestran que los cementos selladores biocerámicos como el iRoot SP®, presentan una mayor área y profundidad de penetración que los otros cementos selladores evaluados, entre ellos el AH Plus®. Esto concuerda con nuestros resultados donde se observó que al evaluar las técnicas de obturación en frío, la penetración con un cemento a base de silicato de calcio fue mayor en la técnica de CU que en CL.

En la evaluación de los grupos controles, estos presentaron la menor penetración máxima de túbulos dentinales, y al realizar una comparación entre ambos, estos presentaron una penetración tubular similar, sin diferencias estadísticamente significativas entre el C+ y el C-. En ambos grupos la colocación del cemento sellador BioRoot™ RCS fue llevada a cabo por medio de un léntulo #25, por lo tanto, concluimos que en estos grupos juega un rol más significativo la forma de colocación del cemento sellador, que la preparación biomecánica o no del conducto radicular. En los grupos experimentales el cemento sellador BioRoot™ RCS fue transportado al conducto radicular por medio de un cono de papel barnizando las paredes del conducto. En la evidencia encontrada en la literatura, existe controversia sobre el método ideal para transportar el cemento sellador al conducto radicular antes de colocar la gutapercha. Dash *et al.* (37), para analizar la penetración tubular de un cemento sellador a base de resina, comparan diferentes técnicas de transporte del cemento sellador, por medio de léntulo, lima bidireccional y ultrasonido; donde concluyen que la profundidad y porcentaje de penetración tubular está directamente influenciada por la forma de transporte del cemento sellador al canal radicular, siendo que por medio de léntulo se observa la

mayor penetración tubular. Por otra parte, Haverroth *et al.* (38), evaluaron al mismo tiempo el transporte de cemento sellador por medio de léntulo, punta de papel, cono maestro de gutapercha, y activación de ultrasonido; y diferentes técnicas de obturación como CU, CU bañado en cloroformo haciendo presión apical, y CU bañado en cloroformo sin hacer presión apical. Se concluye que la técnica de colocación del cemento sellador tiene una menor influencia en los resultados de penetración tubular y calidad de la obturación, que la técnica de obturación propiamente, siendo ésta última más influyente.

Tomando en cuenta que se encuentra reportado en la literatura que la penetración de túbulos dentinales alcanzada por las bacterias *E. faecalis* y *Candida albicans* es de 244 y 184 μm respectivamente (39), resultan beneficiosos los resultados encontrados en nuestro estudio, donde el cemento sellador BioRoot™ RCS mostró valores de penetración mayores que la penetración bacteriana que según se encuentra reportado, es alcanzada por estos microorganismos, lo cual nos hace pensar que el efecto de enterramiento de los patógenos en los túbulos dentinales se cumple con las técnicas de obturación evaluadas.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta las limitaciones del estudio, se concluye que la penetración en túbulos dentinales del cemento sellador BioRoot™ RCS es mayor en las técnicas de obturación que involucran calor, siendo la técnica de condensación híbrida mixta la que obtuvo la mayor penetración tubular de todas las técnicas evaluadas en el presente estudio, seguidas por las técnicas de Guttacore® y la condensación vertical de Schilder. Lo que hace pensar que los conductos radiculares deberían ser obturados técnicas de obturación que involucren calor, más que con técnicas de obturación en frío.

RECOMENDACIONES

En futuros estudios se debe tomar en consideración el correcto uso de los fluoróforos para evitar malinterpretaciones en cuanto a la penetración tubular de los cementos selladores en la dentina, y la implementación del Fluo-3 como fluoróforo para la marcación de cementos a base de silicato de calcio. Por la falta de literatura al respecto, se recomienda la realización de estudios que evalúen la penetración de diferentes cementos selladores con la técnica de Guttacore®.

BIBLIOGRAFÍA

1. Huang Y, Orhan K, Celikten B, Orhan AI, Tufenkci P, Sivimay S. Evaluation of the sealing ability of different root canal sealers: a combined SEM and micro-CT study. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2018;26:1–8. Available from: doi:10.1590/1678-7757-2016-0584
2. Jitaru S, Hodisan I, Timis L, Lucian A, Bud M. The use of bioceramics in endodontics - literature review. *Med Pharm Reports* [Internet]. 2016;89(4):470–3. Available from: doi: 10.15386/cjmed-612
3. Raghavendra, S. Jadhav, G. Gathani, K. Kotadia P. Bioceramics in endodontics - a review. *J Istanbul Univ Fac Dent* [Internet]. 2017;51(3):128–37. Available from: doi: 10.17096/jiufd.63659
4. Qu W, Bai W, Liang YH, Gao XJ. Influence of warm vertical compaction technique on physical properties of root canal sealers. *J Endod* [Internet]. 2016;42(12):1–5. Available from: doi: 10.1016/j.joen.2016.08.014
5. Yang R, Tian J, Huang X, Lei S, Cai Y, Xu Z, et al. A comparative study of dentinal tubule penetration and the retreatability of EndoSequence BC Sealer HiFlow, iRoot SP, and AH Plus with different obturation techniques. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2021; Available from: doi: 10.1007/s00784-020-03747-x
6. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Graeff MSZ, del Carpio Perochena A, Vivian RR, Camargo EJ, et al. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: A confocal laser scanning microscopy study. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2009;108(3):450–7. Available from: doi: 10.1016/j.tripleo.2009.04.024
7. Aktemur Türker S, Uzunoğlu E, Purali N. Evaluation of dentinal tubule penetration depth and push-out bond strength of AH 26, BioRoot RCS, and MTA Plus root canal sealers in presence or absence of smear layer. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* [Internet]. 2018;12(4):294–8. Available from: doi: 10.15171/joddd.2018.046
8. Kim Y, Kim BS, Kim YM, Lee D, Kim SY. The penetration ability of calcium silicate root canal sealers into dentinal tubules compared to conventional resin-based sealer: A confocal laser scanning microscopy study. *Materials (Basel)* [Internet]. 2019;12(3). Available from: doi: 10.3390/ma12030531
9. Arikatla SK, Chalasani U, Mandava J, Yelisela RK. Interfacial adaptation and penetration depth of bioceramic endodontic sealers. *J Conserv Dent* [Internet]. 2018;21:373–7. Available from: doi: 10.4103/JCD.JCD_64_18
10. Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of bioroot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int Endod J* [Internet]. 2017;50(Special Issue 2):e120–36. Available from: doi: 10.1111/iej.12856
11. Khalil I, Naaman A, Camilleri J. Properties of tricalcium silicate sealers. *J Endod* [Internet]. 2016;42(10):1529–35. Available from: doi: 10.1016/j.joen.2016.06.002
12. Colombo M, Poggio C, Dagna A, Meravini M, Riva P, Trovati F. Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. *J Clin Exp Dent* [Internet]. 2018;10(2):120–

6. Available from: doi: 10.4317/jced.54548

13. Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms : a confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology* [Internet]. 2019;107(4):513–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10266-019-00425-7>
14. Camilleri J. Sealers and warm gutta-percha obturation techniques. *J Endod* [Internet]. 2015;41(1):72–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.06.007>
15. Aksel H, Makowka S, Bosaid F, Guardian MG, Sarkar D, Azim AA. Effect of heat application on the physical properties and chemical structure of calcium silicate-based sealers. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2020; Available from: doi: 10.1007/s00784-020-03586-w
16. Yamauchi S, Watanabe S, Okiji T. Effects of heating on the physical properties of premixed calcium silicate-based root canal sealers. *J Oral Sci*. 2021;63(1):65–9.
17. Donnermeyer D, Urban K, Bürklein S, Schäfer E. Physico-chemical investigation of endodontic sealers exposed to simulated intracanal heat application: epoxy resins and zinc oxide–eugenols. *Int Endod J*. 2020;53(5):690–7.
18. Hadis M, Camilleri J. Characterization of heat resistant hydraulic sealer for warm vertical obturation. *Dent Mater* [Internet]. 2020;36(9):1183–9. Available from: doi: 10.1016/j.dental.2020.05.008
19. Lim M, Jung C, Shin D, Cho Y. Calcium silicate-based root canal sealers: a literature review. *Res* [Internet]. 2020;45(3):1–17. Available from: doi: 10.5395/rde.2020.45.e35
20. Asawaworarit W, Yachor P, Kijssamanmith K, Vongsavan N. Comparison of the apical sealing ability of calcium silicate-based sealer and resin-based sealer using the fluid-filtration technique. *Med Princ Pract* [Internet]. 2016;25:561–5. Available from: doi: 10.1159/000450577
21. Piazza B, Rivera-Peña ME, Alcalde MP, de Vasconcelos BC, Duarte MAH, de Moraes IG, et al. The influence of humidity on intra-tubular penetration and bond strength of AH plus and MTA fillapex: An in vitro study. *Eur Endod J* [Internet]. 2018;3(1):48–54. Available from: doi: 10.5152/ej.2017.17036
22. Almeida LH, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG. Are premixed calcium silicate – based endodontic sealers comparable to conventional materials? A systematic review of in vitro studies. *J Endod* [Internet]. 2017;43(4):527–35. Available from: doi: 10.1016/j.joen.2016.11.019
23. Cabezas C, Tineo H, Jaramillo L, Roa N, Ciodaro AR, Méndez de la Espriella C. In vitro response of human gingival cells to a heated root canal sealer. *Endod Pract Today*. 2017;11(4):279–84.
24. Viapiana R, Moinzadeh AT, Camilleri L, Wesselink PR, Tanomaru Filho M, Camilleri J. Porosity and sealing ability of root fillings with gutta-percha and BioRoot RCS or AH Plus sealers. Evaluation by three ex vivo methods. *Int Endod J* [Internet]. 2016;49(8):774–82.

Available from: doi: 10.1111/iej.12513

25. Furtado T, de Bem I, Machado L, Pereira J, Reis Só M, da Rosa R. Intratubular penetration of endodontic sealers depends on the fluorophore used for CLSM assessment. *Microsc Res Tech* [Internet]. 2020;84:305–12. Available from: doi: 10.1002/jemt.23589
26. Akcay M, Arslan H, Durmus N, Mese M, Capar ID. Dentinal tubule penetration of AH Plus, iRoot SP, MTA fillapex, and guttaflow bioseal root canal sealers after different final irrigation procedures: A confocal microscopic study. *Lasers Surg Med* [Internet]. 2016;48(1):70–6. Available from: doi: 10.1002/lsm.22446
27. Jeong JW, DeGraft-Johnson A, Dorn SO, Di Fiore PM. Dentinal tubule penetration of a calcium silicate-based root canal sealer with different obturation methods. *J Endod* [Internet]. 2017;43(4):633–7. Available from: doi: 10.1016/j.joen.2016.11.023
28. McMichael GE, Primus CM, Opperman LA. Dentinal tubule penetration of tricalcium silicate sealers. *J Endod* [Internet]. 2016;42(4):632–6. Available from: doi: 10.1016/j.joen.2015.12.012
29. Wang Y, Liu S, Dong Y. In vitro study of dentinal tubule penetration and filling quality of bioceramic sealer. *PLoS One* [Internet]. 2018;13(2):1–11. Available from: doi: 10.1371/journal.pone.0192248
30. Reynolds JZ, Augsburger RA, Svoboda KKH, Jalali P. Comparing dentinal tubule penetration of conventional and ‘HiFlow’ bioceramic sealers with resin-based sealer: An in vitro study. *Aust Endod J*. 2020;46(3):387–93.
31. Eid D, Medioni E, De-Deus G, Khalil I, Naaman A, Zogheib C. Impact of warm vertical compaction on the sealing ability of calcium silicate-based sealers: A confocal microscopic evaluation. *Materials (Basel)* [Internet]. 2021;14(2):1–8. Available from: doi: 10.3390/ma14020372
32. Hirai V, Machado R, Lucato Budziak MC, Piasecki L, Kowalczyk A, da Silva Neto UX. Percentage of gutta-percha-, sealer-, and void-filled areas in oval-shaped root canals obturated with different filling techniques: A confocal laser scanning microscopy study. *Eur J Dent* [Internet]. 2020;1–5. Available from: doi: 10.1055/s-0040-1701543
33. Irazábal V, Beltrán L, Rodríguez A, Méndez C. Comparación de la interfase cemento sellador-dentina CL y CHM. *Univ Odontológicas* [Internet]. 2015;34(73):21–8. Available from: doi: 10.11144/Javeriana.uo34-73.cics
34. Méndez de la Espriella C, Rodríguez Ciodaro A, Diez Ortega H. El tratamiento de endodoncia: de la observación en la práctica clínica a la investigación. In: Roa Molina NS, editor. *Experiencias y resultados de investigación en odontología*. 1st ed. Bogotá, Colombia.: Pontificia Universidad Javeriana.; 2018. p. 243–65.
35. Ho ES, Chang J, Cheung G. Quality of root canal fillings using three gutta-percha obturation techniques. *Restor Dent Endod* [Internet]. 2016;7658:22–8. Available from: doi: 10.5395/rde.2016.41.1.22
36. Turkyilmaz A, Erdemir A. Comparison of dentin penetration ability of different root canal sealers used with different obturation methods. *Microsc Res Tech*. 2020;83:1544–51.

37. Dash AK, Farista S, Dash A, Bendre A, Farista S. Comparison of three different sealer placement techniques: an in vitro confocal laser microscopic study. *Contemp Clin Dent* [Internet]. 2017;8:310–4. Available from: doi: 10.4103/ccd.ccd
38. Haverroth Schünemann F, Höpfner Canani S, Lohbauer U, Petschelt A, Ebert J. Filling of small oval root canals: influence of sealer placement and filling technique. *Quintessence Int (Berl)* [Internet]. 2021;52(1):8–20. Available from: doi: 10.3290/j.qi.a45170
39. Al-Nazhan S, Al-Sulaiman A, Al-Rasheed F, Alnajjar F, Al-Abdulwahab B, Al-Badah A. Microorganism penetration in dentinal tubules of instrumented and retreated root canal walls . In vitro SEM study. *Res* [Internet]. 2014;39(4):258–64. Available from: doi: 10.5395/rde.2014.39.4.258