

Identificación microbiológica en los retenedores intrarradiculares colados en metal base y oro tipo III antes y después del proceso de esterilización
Estudio in – vitro

Microbiological identification in intraradicular retainers cast in base metal and gold type iii before and after the sterilization process
In - vitro studio

Laura del Pilar Cadena Barbosa*, Sandra Carolina Calderón Sánchez*, Adriana Yormary García Parra*, Oscar Mauricio Jiménez Peña**, Román Andrés Santos Hoyos**, Edgar René Rojas Benavides**.

Resumen

Introducción. Llevar al interior del conducto un retenedor intrarradicular, puede constituir un riesgo si no se hace en condiciones de esterilidad y como consecuencia se puede dar la colonización de microorganismos desencadenantes del fracaso del tratamiento endodóntico. Por tal motivo surge la necesidad de conocer la población microbiológica patógena presente en los retenedores que al ser cementados sin un proceso de esterilización previo podría conllevar un posible fracaso endodóntico. **Objetivo:** Determinar los microorganismos presentes en retenedores intrarradiculares colados en metal base y en Oro tipo III, fabricados en diferentes laboratorios dentales de la ciudad de Bogotá, antes y después de su esterilización en autoclave. **Método:** Se elaboran 40 patrones de núcleo en dientes premolares inferiores de modelos simulados en resina. Se envían a colado 20 en oro III y 20 en metal base. Finalmente se realiza estudio microbiológico en medio de cultivo Agar. **Resultados:** Se observa crecimiento microbiológico en el 60% del total de las muestras, antes del proceso de esterilización. Los microorganismos que se encontraron con mayor prevalencia en los retenedores fueron: *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus warnei* y *bacillus megaterium*. **Conclusiones:** La desinfección y esterilización de todo aditamento intraconducto debe ser un procedimiento obligatorio para optimizar los porcentajes de éxito del tratamiento y minimizar los posibles fracasos y complicaciones del mismo.

Palabras claves: Retenedores intrarradiculares, contaminación cruzada, análisis microbiológico, proceso de esterilización.

Para citar este artículo: Cadena Barbosa LP, Calderón Sánchez SC, García Parra AY, Jiménez Peña OM, Santos Hoyos RA, Rojas Benavides ER. (2020). Identificación microbiológica en los retenedores intrarradiculares colados en metal base y oro tipo III antes y después del proceso de esterilización. Estudio in – vitro. [Tesis de especialización]. Universidad Santo Tomás, Bucaramanga, Colombia.

Odontólogo, U. Antonio Nariño, Estudiante de la Especialización en Endodoncia, U. santo Tomás. Autor responsable de correspondencia: Sandra Carolina Calderón Sánchez, correo electrónico: sandracalderon1989@gmail.com.

Summary

Introduction. Bringing an intra root canal retainer inside the canal can be a risk if it is not done under sterile conditions and, as a consequence, colonization of microorganisms that trigger the failure of endodontic treatment can occur. For this reason, the need arises to know the pathogenic microbiological population present in the retainers that, when cemented without a prior sterilization process, could lead to possible endodontic failure. **Objective:** To determine the microorganisms present in intra-root canal retainers cast in base metal and in Gold type III, manufactured in different dental laboratories in the city of Bogotá, before and after their autoclave sterilization. **Method:** 40 core patterns are made in lower premolar teeth from simulated resin models. 20 gold and 20 base metal are cast. Finally, a microbiological study is carried out in Agar culture medium. **Results:** Microbiological growth is observed in 60% of the total samples. The microorganisms with the highest prevalence in the retainers were: *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus warnei* and *bacillus megaterium*. **Conclusions:** Disinfection and sterilization of all intra-root canal accessories must be a mandatory procedure to optimize the success rates of the treatment and minimize possible failures and complications.

Key words: Intraradicular retainers, cross contamination, microbiological analysis, sterilization process.

Introducción

El tratamiento endodóntico tiene como objetivo lograr una limpieza mecánica y química que conlleva a reducir al máximo los microorganismos presentes dentro del conducto radicular y que junto a su obturación permitirá un selle tridimensional hermético, proporcionando un ambiente inadecuado para la proliferación y viabilidad microbiana. (1–4)

Aproximadamente 700 especies de microorganismos habitan en la cavidad oral, las bacterias y especies que causan patologías periapicales ingresan al espacio del conducto radicular, no solo antes o durante el tratamiento endodóntico, sino también después de su finalización por microfiltración coronal. (5,6)

Los dientes tratados endodónticamente siempre requieren de un tratamiento complementario de rehabilitación, para lo que se hace necesario en algunos casos la elaboración de un retenedor intrarradicular colado. Para su fabricación principalmente se utiliza aleaciones en metales nobles y metal base. Los núcleos colados en metal base, son aleaciones de Níquel 80% - Cromo 20%; es posible mejorar las propiedades físicas de ésta aleación añadiendo otros componentes tales como berilio, hierro, molibdeno, manganeso, silicio, aluminio, boro, cobalto, galio, estaño y carbono. En dependencia del porcentaje que sea agregado o modificado se proporcionará un aumento o disminución en la resistencia, la dureza, la flexibilidad, la fragilidad, la temperatura de fusión y la resistencia a la corrosión.(7) Entre las aleaciones de oro (metales nobles), encontramos las **Aleaciones de oro- paladio** que pueden o no contener

plata. Este tipo de aleaciones tienen excelente capacidad de colado y adaptación, poseen menor deformación a alta temperatura, mayor resistencia y dureza

Durante la desobturación del conducto radicular para la elaboración del retenedor intrarradicular se puede ocasionar pérdida del selle hermético, provocando la recontaminación del conducto debido a la microfiltración bacteriana por vía coronal, siendo un factor determinante en el fracaso del tratamiento primario. Para evitar la recontaminación del conducto es necesario que todos los pasos desde la desobturación hasta la cementación del retenedor intrarradicular sea realizado en condiciones de esterilidad. (8,9) Los estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado la rapidez con la que migran las bacterias y sus subproductos a partir de áreas de gutapercha expuesta, dicha migración puede ocurrir en horas o pocos días, por esto la contaminación del conducto debe prevenirse antes, durante y después de la cementación del poste. (5,7,10)

Dentro de la microbiota presente en el conducto radicular durante el fracaso endodóntico predomina: *Cándida Albicans*, *Cándida Guillermonti*, *anaerobios facultativos Gram positivos*, *bacilos Gram positivos género bacillus*, *Estafilococcus epidermidis* y *Enterococcus Faecalis*; siendo este último el responsable del 80 al 90 % del fracaso de los tratamientos y su persistencia se ha atribuido a la capacidad para resistir el elevado pH del hidróxido de calcio o de algunos medicamentos intrarradicales y a la capacidad de penetración dentro de los túbulos dentinales. (5,8,11)

Hasta el momento no se han realizado estudios que comparen la presencia de microorganismos en retenedores

intrarradicales elaborados con metal base y oro tipo III, antes y después del proceso de desinfección con jabón enzimático y esterilización en autoclave.

Considerando lo expuesto anteriormente, se plantea como objetivo determinar los microorganismos presentes en retenedores intrarradicales colados en metal base (Níquel- Cromo) y en Oro tipo III, a través de la prueba de Agar, fabricados en diferentes laboratorios dentales seleccionados a conveniencia en la ciudad de Bogotá, antes y después del proceso de esterilización en autoclave. Esto es de suma importancia ya que permitirá conocer la eficacia del proceso de esterilización en la eliminación total de los microorganismos que puedan estar presentes en los retenedores, y de esta forma evitar contaminaciones cruzadas responsables del fracaso del tratamiento endodóntico, además de ofrecer al paciente técnicas ideales de bioseguridad, garantizando condiciones de limpieza en el conducto radicular cuando el retenedor intrarradicular es cementado.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal en 40 retenedores intrarradicales (20 en metal base y 20 en oro tipo III), elaborados en 4 diferentes laboratorios de la ciudad de Bogotá seleccionados a conveniencia. Dentro de los criterios de inclusión para la obtención de los retenedores, se tuvo en cuenta patrones de núcleo elaborados en modelos de dientes de simulación en endodoncia en resina con tratamiento endodóntico convencional, previamente realizado en la preclínica de primer semestre de endodoncia de la Universidad Santo Tomás sede Bogotá.

Así mismo se tuvieron en cuenta las siguientes variables: microorganismos, *Estafilococo Coagulasa* negativa, *Enterococcus faecalis*, Bacilos Gram positivos, *Cándida albicans*, *Stafilococos epidermidis*, Otros microorganismos identificados, retenedores intrarradiculares y laboratorio Dental.

En esta investigación se buscará comprobar dos hipótesis:

1. H: en la que la esterilización tiene un efecto en la eliminación de microorganismos en los retenedores intrarradiculares antes de su cementación.
2. H₀: no hay asociación entre los materiales de elaboración de los retenedores y la presencia de microorganismos.

Para llevar a cabo la presente investigación se dividió en dos fases:

Primera Fase: Se realizó una prueba piloto con 8 retenedores intrarradiculares (4 en metal base y 4 en oro tipo III). El procedimiento es el mismo que se describe a continuación en la segunda fase.

Segunda Fase: Para la obtención de los patrones de núcleo se utilizaron dientes de modelos a los que se les había realizado endodoncia convencional en la preclínica de la Universidad Santo Tomás; usando premolares inferiores para unificar las dimensiones de los retenedores. Previa radiografía periapical, se realizó la desobturación de la gutapercha con instrumentos Gates Glidden No. 2 activados con micromotor. Se dejó un mínimo de obturación de 5mm como selle apical.

Se procedió a la elaboración de la copia del conducto radicular con resina acrílica

ultrafina de autocurado Pattern Resin (GS american) y pernos para bebedero.

Una vez elaborados, la totalidad de los patrones de núcleo se distribuyeron a los 4 laboratorios seleccionados a conveniencia, cada uno ubicado en los 4 puntos cardinales de la ciudad de Bogotá, entregando a cada laboratorio 5 patrones para colado en metal base (Niquel-Cromo) y 5 patrones para colar en Oro tipo III, sin que éstos conocieran la finalidad del proyecto. Se rotuló cada muestra teniendo como variables: laboratorio dental, tipo de aleación y número de muestra.

Una vez se recibieron los retenedores ya colados se conservaron en su empaque individual como llegaron de cada uno de los laboratorios, sin ningún otro tipo de manipulación y de la misma manera fueron llevados a la Unidad de Investigación Básica Oral (UIBO) de la Universidad el Bosque, donde se llevaría a cabo el análisis microbiológico en Agar.

Las muestras fueron puestas en microtubos sumergidas en 1 ml de caldo de infusión cerebro corazón (BHI) a 37°C por 24 horas.



Figura 1. Grado de turbidez o transparencia en caldo BHI.

Luego de la incubación fueron retirados los retenedores y se conservó el caldo

donde se observó el grado de turbidez o transparencia del medio (fig. 1); que posteriormente fue sembrado en los diferentes medios de cultivo seleccionados para el estudio de microorganismos:

- Agar Sabouraud (identificación de hongos)
- Agar Sangre (identificación variedad de microorganismos)
- Agar Brucella (adecuado para cultivar y aislar microorganismos exigentes),
- Agar Mac Conkey (medio de cultivo selectivo y diferencial para bacterias diseñado para aislar selectivamente *Bacilos gram negativos y entéricos*) (Fig. 2)
- Agar Enterococcosel (medio específico para identificación de *Enterococcus Faecalis*).

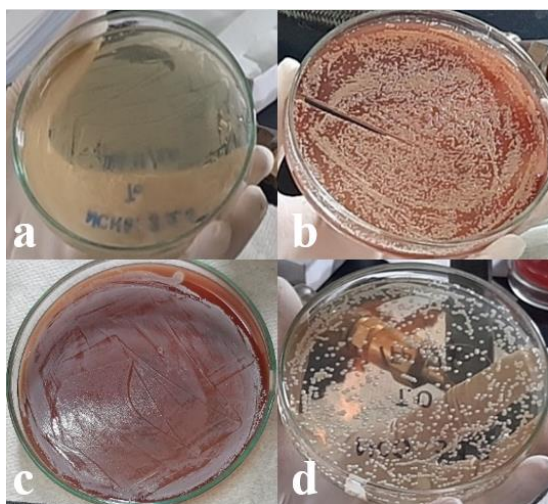


Figura 2. Agares luego de incubación (a. Agar Sabouraud. b. Agar Sangre. c. Agar Brucella. d. Agar Mac Conkey)

Estas muestras fueron incubadas nuevamente por 24 horas a 37°C para así observar el crecimiento, hacer recuento e identificación de población microbiana (Fig.3).

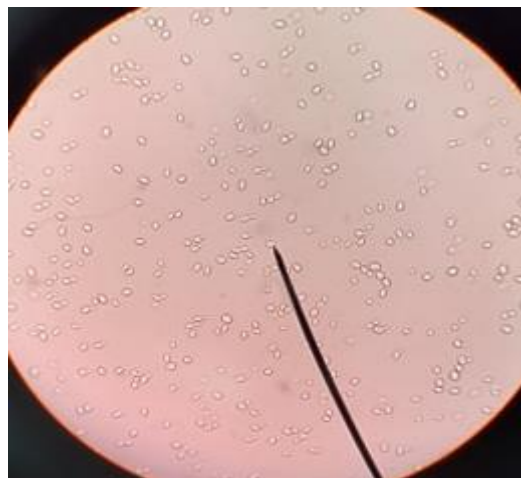


Figura 3. Imagen microscópica colonias de cándidas.

Para la desinfección de las muestras, fueron sumergidas en solución de jabón enzimático (alkazyme) durante 15 minutos, y luego secadas y empacadas de forma individual en bolsas de polietileno (Fig. 4) y esterilizadas en Autoclave a 121°C, con 34 Psi y durante 30 minutos, en el área de esterilización UIBO de la Universidad del Bosque.



Figura 4. Empacado individual de las muestras en bolsa de polipropileno.

Una vez realizado el proceso, y bajo estándares de esterilidad fueron sembradas las muestras (retenedores) en caldo BHI a 37°C por 24 horas para realizar nuevamente el estudio microbiológico después del proceso de esterilización. (fig. 5).

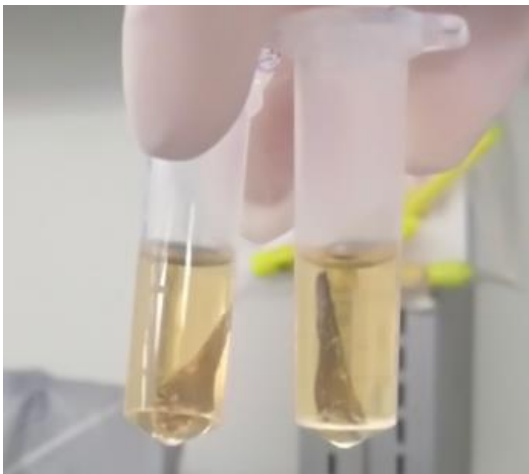


Figura 5. Grado de turbidez caldo BHI, luego del proceso de esterilización

Tipos Bacterias	Cantidad de muestras con presencia	Porcentaje muestras con presencia
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	7,50%
<i>Staphylococcus warnei</i>	3	7,50%
<i>Bacillus megaterium</i>	3	7,50%
Bacilos Gram negativos	3	7,50%
<i>Leuconostoc citreum</i>	2	5,00%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	5,00%
<i>Bacillus circulans</i>	2	5,00%
Otras bacterias	1	2.5%

Tabla 1. Porcentaje y tipo de microorganismos encontrados en las muestras.

Los resultados fueron tabulados en una base de datos en Excel, describiendo la presencia o no de microorganismos, tipos de microorganismos y número de unidad de colonias formadoras, descritas antes y después del proceso de esterilización. Con los datos obtenidos se realizó la prueba de normalidad de kolmogorov – smirnov, para evaluar la distribución normal de los datos. Luego se realizó prueba t-Student para verificar diferencia de medias entre variables cuantitativas. Por último se aplicó la prueba Chi- cuadrado para verificar diferencia entre variables cualitativas.

Resultados

Para la identificación de microorganismos se seleccionaron y describieron las colonias que presentaron características específicas para cada medio de cultivo, donde se pudo aislar las siguientes poblaciones microbianas: *Micrococcus lylae*, *Leuconostoc citreum*, *Rhodotorula rubra*, *Globicatella sanguis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida guilliermondii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warnei*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus capitis*, *Corinebacterium aquaticum*, *Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium* y Bacilos Gram negativos (Tabla 1).

Al hacer el análisis descriptivo para evaluar la presencia de microorganismos en cada uno de los retenedores, se observó que antes del procedimiento de esterilización en el 47,5% se aisló un tipo de microorganismo, en el 12,5% de las

muestras se presentaron dos de los tipos de microorganismos aislados y en el 40% de los retenedores no se evidenció la presencia de población microbiológica.

Se encontró que en tres de estos laboratorios el 70% de las muestras tenían presencia de algún tipo de microorganismo, mientras que en el laboratorio 4 solo el 30% de las muestras evidenció presencia de población microbiológica.

En cuanto a los materiales de elaboración de los retenedores, el Oro tipo III presentó el 80% (16) de las muestras con presencia de población microbiológica, mientras que el metal base presentó el 40% (8) de las muestras con presencia de población microbiológica.

Se analizó la cantidad de retenedores con presencia de cada uno de los 18 tipos de microorganismos, antes de aplicar el procedimiento de esterilización (T0). Se encontró que los microorganismos con mayor prevalencia fueron *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warnei*, *Bacillus megaterium* y *Bacilos gram negativos* con una participación del 7,5% del total de las muestras analizadas. Se observó que una misma bacteria pudo ser encontrada hasta en 3 retenedores. Se pudo observar que una vez se llevó a cabo el proceso de esterilización no se evidenció ningún microorganismo en las muestras.

Se evaluó el resultado de realizar el proceso de esterilización de los retenedores, para lo que se realizó una prueba estadística t- Student con muestras pareadas. El valor teórico de la distribución t- Student arroja un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Con un nivel de confianza del 95%, se afirma que hay suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula (H_0) y concluir

que el proceso de esterilización causa un efecto para reducir las bacterias existentes en los retenedores.

Para determinar o no la existencia de asociación entre las variables cualitativas (tipo de material y presencia de microorganismos), se llevó a cabo el análisis con la prueba chi cuadrado H_0 : no hay asociación entre los materiales H_1 : hay asociación entre los materiales. Se encontró que el valor teórico con un nivel de significancia del 5% es 3,84, con lo cual no se rechazó la hipótesis nula y se concluyó que no hay asociación entre los dos materiales y la presencia de microorganismo.

Discusión

La persistencia de microorganismos después de un tratamiento de conducto, la recontaminación del conducto radicular y la contaminación cruzada, son los factores principales que puede desencadenar el fracaso del tratamiento endodóntico. Dentro de estos factores se encontró que la microfiltración coronal está relacionada con la desadaptación del retenedor intrarradicular o restauración final en conjunto con el diente tratado endodónticamente; y que la contaminación cruzada está relacionada al uso de aditamentos intrarradicales sin previo proceso de esterilización (12–16)

Esto indicaría que los microorganismos de origen externo cumplen un papel importante en el fracaso endodóntico, es por este motivo que se debe garantizar una cadena de asepsia durante la elaboración y cementación de los retenedores intrarradicales, ya que estos mantendrán íntimo contacto con el conducto radicular (12,17–20)

Es previsible la contaminación de microorganismos durante la elaboración de los retenedores intrarradiculares en el laboratorio dental, por lo que se hizo necesario el aislamiento e identificación de posibles microorganismos que puedan causar fracaso del tratamiento endodóntico, y de esta manera demostrar que estos elementos de restauración son portadores de microorganismos y crear la necesidad de esterilización antes de su cementación.

En este estudio fueron analizados dos tipos de aleaciones metálicas con los que frecuentemente se realizan los retenedores intrarradiculares, que son el oro tipo III y metal base (níquel-cromo). En los retenedores elaborados en oro tipo III se observó mayor crecimiento bacteriano y 13 diferentes cepas microbianas entre las que se encontró *Cocos gram +*, *Bacilos gram -*, *Bacilos gram +* y *levaduras*. En los retenedores elaborados en metal base se demostró menor crecimiento y se aislaron 6 tipos de cepas diferentes de microorganismos, entre las que se encontraron *Bacilos gram -*, *Staphylococcus* y *Gram +*.

Esto se debe a que el oro presenta mayor penetración de oxígeno (O₂) en la matriz interna de la aleación, resultando en una oxidación interna que ocurre predominantemente a lo largo de los límites del grano, generando una superficie porosa. (21)

Tal como se pudo observar en este estudio el metal base (Wiron 99®) demostró menor adherencia microbiana lo cual se puede atribuir a que entre sus componentes se encuentran partículas de aluminio y estaño que tienen propiedades astringentes, bactericidas y antimicrobianas y contiene partículas de

boro que posee propiedades antifúngicas. (22)

Por otra parte dentro de los microorganismos aislados se encontró *Staphylococcus epidermis* y *Cándida guilliermondii*, estos están involucrados en el fracaso del tratamiento endodóntico. También se aislaron otros microorganismos como *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus sanguis* y *Bacilos gram +*, asociados a otras patologías de origen pulpar tales como necrosis pulpar, absceso apical agudo y periodontitis apical. (7,23,24)

Otras bacterias aisladas en este estudio tales como *Globigatella sanguinis* y *Streptococcus sanguis*, están relacionados con patologías tales como endocarditis bacteriana y meningitis, y por tanto, pueden conllevar a un deterioro severo del estado de salud del paciente. (7,23–26)

En este estudio al igual que el realizado por Ensinas y cols. (18) en el 2006 se aislaron cepas de *Bacilos gram +* y *Staphylococcus epidermis*, siendo estas bacterias unas de las responsables del fracaso del tratamiento endodóntico.

Adicional a estas, se aislaron otros microorganismos que igualmente están vinculados al fracaso del tratamiento endodóntico, tales como la *Cándida* y *Staphylococcus*, siendo concordante con los encontrados en los estudios de Angarita y cols. (27) y Vallejo y cols. (29)

Sin embargo, en el presente estudio al igual que el realizado por Vallejo y cols.(28) no se identificaron cepas de *Enterococcus faecalis*, una bacteria que habita normalmente en el tracto gastrointestinal con una gran resistencia a las condiciones extremas y que se ha relacionado en algunos casos de fracaso

endodóntico, pero que si fue aislado en los estudios realizados por Ensinas y cols. (18) y Angarita y cols. (27)

Este proyecto tuvo como limitante el número de laboratorios en los que se elaboraron los retenedores, dado el tamaño de la muestra.

Conclusiones

Este estudio, demostró que los retenedores intrarradiculares sufren una importante contaminación de microorganismos durante su proceso de elaboración en los laboratorios dentales, y que después del proceso de esterilización en autoclave no se observa contaminación microbiológica; lo que hace necesario un proceso de esterilización antes de ser cementado, que evite posibles fracasos endodónticos.

Los microorganismos que se encontraron con mayor prevalencia en los retenedores fueron: *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus warnei* y *Bacillus megaterium*.

Otros microorganismos aislados como *Staphylococcus epidermis* y *Cándida guillermundii* han sido relacionados en el fracaso del tratamiento endodóntico y otras patologías tales como necrosis pulpar.

También se puede concluir que entre las aleaciones metálicas la que presenta mayor número de especies microbianas corresponde a la aleación oro tipo III.

Recomendaciones

Tal como se encontró en este estudio se hace necesario que los profesionales que tratan de una u otra manera el conducto radicular en todas las etapas de tratamiento hasta su restauración, comprendan la

importancia de realizar todo procedimiento bajo el uso de aislamiento absoluto.

La desinfección y esterilización de todo aditamento intraconducto debe ser un procedimiento obligatorio para optimizar los porcentajes de éxito del tratamiento y minimizar los posibles fracasos y complicaciones del mismo.

Se recomienda realizar nuevas investigaciones relacionando el tipo de material de elaboración de los retenedores y la contaminación microbiana.

Bibliografía

1. Abbott P V, Salgado JC. Strategies for the endodontic management of concurrent endodontic and periodontal diseases. Journal of endodontics. 2009; 54(1),70-85;
2. Moradas Estrada M. Reconstrucción del diente endodonciado con postes colados o espigas de fibra. Revisión bibliográfica. Av Odontoestomatología. 2006; 32 (6), 317-321.
3. Hilú R BF. El éxito en endodoncia. Endodoncia. 2009; 27, 131-8 p.
4. Sakamoto M, Jr SJF. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. Oral Microbiology Immunology. 2007; 22,19-23.
5. Pardi German, Guilarte Carolina, Cardozo Elba Ines BEN. Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Acta Odontológica Venez. 2009; 47 (1),1-11.
6. Heydecke PM. The restoration of

- endodontically treated, single-rooted teeth with cast or direct posts and cores: a systematic review. *J Prosthet Dent.* 2002; 87 (4), 380–6.
7. González-Moles MA GN. Bacterial infections of pulp and periodontal origin. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2004; 9(34), 32–4.
8. Baumgartner JC, Bakland LK SE. Microbiology of endodontics and asepsis in endodontic practice. En Ingle J, Bakl L (ed) *Endod.* 2002; 5, 63–93.
9. Trope M BG. Microbiological basis for endodontic treatment: can a maximal outcome. *Endodontics Topics.* 2002; 1, 40-53.
10. Siqueira. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Journal Int Endod.* 2001; 34, 1–10.
11. Labrada MV, Ximena C, Cerón M. Influencia de la calidad de restauración coronal en el pronóstico de dientes tratados endodónticamente *Revista Cubana Estomatología.* 2015; 52(1), 47–62.
12. Siqueira JF, Rôças IN. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. *Journal Endod.* 2008; 34(11), 291–301.
13. Merán C MJ. Contaminación del conducto radicular durante la preparación para colocación de pernos de fibra de vidrio en dientes unirradiculares,. *Univ Nac Pedro Henríquez Ureña.* 2019: 43- 53.
14. Survey KP. Report on Effect of Root Canal Fillings and Coronal Restorations on the Periapical Status of Endodontically Treated Teeth in a Selected Group of Population. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2013; 6(2),89–94.
15. Trujillo Caicedo. Contaminación endodóntica: formación y persistencia de lesiones perirradiculares derivados de Procesos restaurativos (Contaminación vía coronal). *Odontos endodoncia.* 2013; 72–69.
16. Dwyer TG, Torabinejad M. Ravanshad S GN. An in vitro study of coronal microleakage in endodontically-treated teeth restored with posts. *Aust Endod Journal.* 2003; 29(3),128–134 .
17. Carolina, Trujillo C, Carlos J, Ospina S. Contaminación Endodóntica: Formación Y Persistencia de Lesiones Perirradiculares derivados de Procesos Restaurativos. *Contaminación Vía Coronal.* 2013; 71–7.
18. Ensinas Pablo, Zacca Rosa IM.. Estudio Microbiológico de Pernos Colados antes de ser Cementados en el Conducto Radicular. *Int Endod J.* 2006; 13, 16–8.
19. Vignoli R. Desinfección y antisepsia. *Temas de bacteriología y virología médica.* 2008; 609– 630.
20. Garrido Nicolas. Manual Básico del Uso de Autoclaves. Universidad de Tarapaca. 2015; 34- 41.
21. Hiroki OHNO KE. Mechanism by which Porous Structure is Formed on the Surface of Gold Alloy Containing Only Cu as Base Metal. *Dent Mater J.* 2005; 24(4), 503–7.
22. Morris, h. F., manz, m., stoffer, w., & weir D. Casting alloys: the materials and “the clinical effects.” *Adv Dent Res.* 1992;6(1):28–31.
23. Waltimo T, Siren E, Torkko H, Olsen I HM. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30(2):96–101.
24. Fouad A, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, Hazlett K RJ. PCR-based identification of bacteria associated

- with endodontic infections. *J Clin Microbiol.* 2002;40(9):3223–31.
25. DAG ORSTAVIK. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endod Top.* 2005;12(1):25–38.
 26. Sunde P, Olsen I, Debelian G TL. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J Endod Endod.* 2002;28(4):304–10.
 27. María del Pilar Angarita díaz, Diana forero escobar, Nerly Fernanda Gutiérrez, Francy Tatiana Yañez CAR. Analysis of *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans* in cast metal. *Rev Fac Odontol Univ Antioquia.* 2017;28 N° 2.
 28. Vallejo-labrada M, Ojeda-garces JC. Microbiological Study of Cast Posts before Cementation. *International Journal of Dentistry.* 2017, 1-7