



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS  
ÁREA QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA  
ÁREA ENDODONCIA

**DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES DE HIPOCLORITO DE SODIO EN  
LA ACTIVACIÓN DEL IRRIGANTE MEDIANTE TÉCNICA PASIVA CON  
ULTRASONIDO, DURANTE EL PROTOCOLO ENDODÓNTICO *EX VIVO*.**

**Carmen María Pirela Pérez**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

**TUTOR PRINCIPAL**

**Dra. Silvana Maggiolo Villalobos**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Ismael Yévenes López**

Adscrito a Proyecto FIOUCH 13-015

Santiago – Chile

2019

## DEDICATORIA

Quiero dedicar de este último esfuerzo de mi vida en pregrado, no a una sino a varias personas, personas que no conozco aún o quizás no llegue a conocer.

Dedicárselo a quienes, como yo, se embarcaron sobre un ave de acero a kilómetros de su país, dejando atrás su familia, amigos y su cultura, para internarse en las tierras desconocidas de los rojos copihues.

Que al llegar acá temblaron y dudaron, pero que sabrán acostumbrarse a los modismos diarios, habituarse a las *onces*, respetar las aguas del Pacífico y fascinarse por la naturaleza que rodea las grandes ciudades.

Y si bien este ha sido un largo viaje, la vida universitaria no se le hará nada fácil, porque ella se comprende de todo un proceso de cambio, en el que hay desilusión y perseverancia, triunfos y caídas, miedos y fantasías.

Dedico este trabajo a ese estudiante extranjero que muchas veces en el metro se preguntará si tomó la decisión correcta y se lo cuestionará hasta antes de dormir.

Pero que ojalá, como yo puedo afirmarle, a medida que pasen los años sentirá amor por cada parte de su trabajo, compasión por sus pacientes y dejará de ser niño y será la mejor versión de sí mismo al alcanzar la meta.

Quizás no lo sabe ahora que se baja en el aeropuerto, no se imagina todas esas aventuras que le esperan en esta patria del sur.

Siempre recuerda extranjero, mirar el pasado con añoranza, el presente con alegría y el futuro con esperanza.

Y así te darás cuenta de que incluso a la distancia...

*...llevas en la sangre la espuma del mar y el horizonte en los ojos.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, agradecer a Dios por llevarme hasta acá, y darme la constancia de cumplir un sueño, y que, por intercesión de María, me dio la fortaleza y aptitudes que tengo hoy día.

A mis padres, Sonia y Carlos, por apoyarme incondicionalmente y creer plenamente en mí y arriesgarse por esta oportunidad conmigo.

Igualmente, a mis tíos Belkys y Juan Carlos, por darme un hogar durante mis primeros años y el ánimo cuando estaba fatigada.

A mis hermanos, Mary y Carlos, por ser mi distracción y darme momentos ocio para despejarme de los libros y recordarme que la meta era alcanzable.

Dar gracias a mis queridos abuelos, Carmen, María y Jorge, por estar pendientes y por ofrecer más de una oración por su nieta, que cerca o lejos, estaba tratando cada día de ser una mejor profesional.

Y a mí ahijada, Emma Valentina, mis primos y mis tíos, que de una u otra forma también se hicieron presentes en este camino y me entregaron su afecto incondicional.

Gracias a mis profesores, tutores y ayudantes por enseñarme todas las bases académicas, la ética y el profesionalismo que implica ser un buen odontólogo. Porque gracias a sus conocimientos me apasiona lo que hago, y tengo la sed de perfeccionarme en mi vocación.

Agradecer con mucho aprecio a la Dra. Maggiolo, por su tutoría e inspirar en mí ese puro amor a la endodoncia, y al Dr. Yevenes, por instruirme mediante su tutela para realizar este arduo trabajo que hoy se materializa en esta tesis, y con ello agradecer al Proyecto FIOUCH 13-015 al cual se encuentra adscrito este trabajo de investigación.

No menos importante, darles las gracias a mis compañeros, aliados y mejores amigas, por acompañarme durante mi carrera y ser como una segunda familia para mí. Porque sé que juntos supimos darnos el aliento, compartimos juntos alegrías y nos reímos de algún que otro fracaso. Con quienes también guardo muy buenos recuerdos y de quienes tengo, por cada uno de ellos, un cariño muy especial.

Finalmente, agradecer a aquellas personas que ya no se encuentran sobre esta tierra, pero de las cuales tengo plena certeza de que me amaron y que se contentan de este éxito y gozan con Dios de que haya culminado esta etapa de mi vida.

A todas estas personas...

y a una valiente niña sentada en un avión hace ocho años...

¡Muchas gracias!

## ÍNDICE

Dedicatoria .....	2
Agradecimientos.....	3
Índice.....	5
<b>1. Resumen .....</b>	<b>7</b>
<b>2. Marco Teórico .....</b>	<b>8</b>
2.1 Hipoclorito de Sodio .....	9
2.2 Método por Ultrasonido.....	11
2.3 Efecto de irrigación con Hipoclorito de Sodio y Ultrasonido .....	13
<b>3. Hipótesis y Objetivos.....</b>	<b>15</b>
<b>4. Materiales y Métodos.....</b>	<b>16</b>
4.1 Tipo de estudio.....	16
4.2 Selección del N° muestral.....	16
Tabla 1. Concentración de NaClO medida en el estudio de Yevenes (2017) .....	17
4.3 Obtención y Almacenamiento de la muestra. ....	18
4.4 Procedimientos .....	18
4.4.1 Materiales, instrumental y dispositivos. ....	18
Tabla 2. Materiales, instrumentos y soluciones para el protocolo endodóntico .....	19
Tabla 3. Materiales y dispositivos para el procesamiento en el laboratorio .....	20
4.4.2 Aplicación del protocolo endodóntico y recolección de muestras.....	21
4.4.3 Procesamiento de las muestras en el laboratorio .....	22
Flujograma de etapas del tratamiento endodóntico.....	23
4.4.4 Espectrofotometría .....	23
4.5 Análisis Estadístico.....	24

<b>5. Resultados</b> .....	25
<b>5.1</b> Determinación de las concentraciones de hipoclorito .....	25
<b>5.2</b> Comparación los valores obtenidos de concentración entre el protocolo A (sin activación) y el protocolo B (con activación).....	25
Gráfico 1. Medianas de concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) en las etapas de preparación quimio-mecánica y activación del hipoclorito. ....	25
Tabla 5. Valores de concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) obtenidos en la etapa 4.5 (E4.5) .....	26
Gráfico 2. Medianas de concentración del hipoclorito de sodio (NaClO) residual en las etapas de irrigación con suero fisiológico.....	26
Gráfico 3. Representación lineal de las medianas de concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) obtenidas en las etapas de los protocolos endodónticos.....	27
<b>6. Discusión</b> .....	28
<b>7. Conclusión</b> .....	34
<b>Referencias Bibliográficas</b> .....	35
<b>Anexos</b> .....	40
Anexo 1: Formulario de Consentimiento Informado .....	41
Anexo 2. Protocolo A (Sin activación del irrigante) Protocolo de Irrigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. ....	43
Anexo 3. Protocolo B (Con activación del irrigante mediante activación pasiva con ultrasonido) Protocolo de Irrigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. ....	45
Anexo 4. Funcionamiento del dispositivo de recolección de muestras.....	47
Anexo 5. Protocolo de Limpieza del dispositivo de recolección de muestras.....	48
Anexo 6. Tabla 4. Valores obtenidos de las concentraciones de NaClO .....	49

## 1. RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** La irrigación del canal radicular es una de las medidas más importantes del tratamiento endodóntico. Se ha demostrado que la activación del hipoclorito de sodio (NaClO) consigue mayor disgregación del tejido orgánico y desinfección. Se deduce que el método de ultrasonido, un método que emplea vibraciones intracanal para activar el irrigante, específicamente por irrigación pasiva (IPU), debería conseguir que haya mayor disociación de la molécula inicial, pero evidencia más reciente dice lo contrario. El objetivo de este estudio es determinar si bajo los efectos de la activación del NaClO por irrigación pasiva con ultrasonido, existe una disminución de su concentración con respecto a una técnica sin activación durante el protocolo endodóntico.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** En este estudio descriptivo *ex vivo* se analizaron 30 dientes, 10 controles y 20 experimentales. Ambos grupos se sometieron al protocolo endodóntico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, y durante las etapas de tratamiento se recolectó el NaClO empleado, y el NaClO residual después de irrigar con 3 jeringas de suero fisiológico. La IPU se realizó mediante un NSK ® Ultrasonic Scaler Varios 560, aplicando tres ciclos, cada uno de 20 segundos por diente. Cada recolección obtenida fue centrifugada y valorada su absorbancia por espectrofotometría, y de acuerdo a ello se determinó la concentración presente del irrigante por etapa.

**RESULTADOS:** La etapa 4.5 tuvo una mediana de 0,047%, lo cual no mostro un valor significativo entre ambos grupos, sin embargo la etapa 5 obtuvo un  $p < 0,05$ ; en el grupo con activación se apreció un valor más elevado de la concentración NaClO, con respecto al protocolo sin activación. Para el protocolo con IPU, la curva de los valores de NaClO se mantuvo por mayor cantidad de etapas, en valores cercanos al 5%, al compararlo con el grupo control.

**CONCLUSIONES:** La concentración del hipoclorito de sodio por técnica de activación mediante IPU posee valores de concentración NaClO que no presentan diferencias significativas, al compararla con una técnica sin activación, en modelos *ex vivo*.

## 2. MARCO TEÓRICO

El tratamiento exitoso de la patología pulpar y periapical depende de la completa remoción del tejido pulpar, tanto inflamado como necrótico, a través de una serie de etapas que llevan a la disgregación tisular, desinfección y preparación del sistema de canales radiculares (SCR), con el objetivo de prevenir o tratar la periodontitis apical (Tziafas y cols., 2017).

De acuerdo con la Asociación Americana de Endodoncia (AAE), se denomina preparación del canal al proceso que involucra la limpieza y conformación del SCR previo a la obturación, y que consiste en la preparación biomecánica (mediante instrumental rotatorio y manual) y la preparación quimiomecánica. La preparación quimiomecánica (PQM) involucra el tratamiento químico del canal radicular mediante técnicas de irrigación, el cual tiene como objetivo ser un procedimiento de desmineralización de la dentina, disolución del tejido pulpar y neutralización de microorganismos mediante un vehículo o *irrigante*. Otros objetivos incluyen: lavar el detritus, lubricar el canal, prevenir la formación de barro dentinario y eliminar organismos anaerobios y facultativos (Basrani y Haapasalo, 2013).

Distintas sustancias se han empleado como irrigantes, sin embargo, un **irrigante ideal** debe tener las siguientes características (Haapasalo y cols., 2014):

- Acción de lavado del canal.
- Reducción de la fricción del instrumental endodóntico.
- Mejorar el corte de la dentina por parte de los instrumentos.
- Lograr la disolución de tejido orgánico e inorgánico.
- Debridación del biofilm bacteriano.
- Controlar la temperatura intracanal.
- Eliminar elementos bacterianos tanto planctónicos como en biofilm.
- Tener una buena penetración al SCR.
- No ser tóxico o alérgeno.
- No debilitar la dentina.



A pesar de conocerse los beneficios de estas cualidades, ningún irrigante cumple con todas estas características (Haapasalo y cols., 2014). Las soluciones irrigantes que se utilizan por sus propiedades en el tratamiento endodóntico incluyen: hipoclorito de sodio (NaClO), solución salina, agua destilada, Tetraclean®, Qmix®, MTAD® (Mix of Tetraciclín, Acid and Detergent) y hierbas alternativas (Té verde) (Agrawal Vineet I y cols., 2014).

De todas las sustancias actualmente usadas, el **hipoclorito de sodio** (NaClO) es el más ideal, ya que cubre la mayor parte de los requerimientos que debe tener un irrigante endodóntico, si se compara con cualquier otro compuesto (Yevenes y cols., 2017).

## 2.1 HIPOCLORITO DE SODIO

Introducido como irrigante intracanal a principios de 1920, el NaClO es un desinfectante y lubricante utilizado en concentraciones de 0,5 a 6% en tratamientos endodónticos. Entre las características particulares del NaClO se pueden encontrar (Basrani y Haapasalo, 2013):

- Irrigante de elección actualmente.
- Agente antimicrobiano efectivo.
- Excelente disolvente de tejido orgánico.
- Lubricante, efectivo y de rápida acción.
- Tóxico.
- Sin sustantividad.

Remueve *únicamente* la parte orgánica del barro dentinario.

En su reacción química, el hipoclorito de sodio actúa como solvente orgánico; cuando degrada ácidos grasos los transforma en sales de ácido y glicerol en una reacción de saponificación (Estrela y cols., 2002). El NaClO a su vez neutraliza aminoácidos llevando a la formación agua y sal. Cuando el cloro se disuelve en agua, y entra en contacto con la materia orgánica, se forma el ácido hipocloroso (HClO), el cual es un ácido débil y agente oxidante (Basrani y Haapasalo, 2013).



El HClO y los iones hipoclorosos ( $\text{ClO}^-$ ) son los que llevan a cabo la degradación de proteínas mediante un proceso de hidrólisis. Cuando HClO entra en contacto con el tejido orgánico actúa liberando un ion hidrogeno, que es remplazado por un ion cloro, y que al combinarse con el grupo amina de las proteínas en el tejido orgánico forma cloraminas (N-Cl) (Estrela y cols., 2002). La reacción de cloraminación de aminoácidos interfiere en el metabolismo celular, ya que el cloro inhibe la actividad de enzimas bacterianas esenciales (Siqueira y cols., 2000), conduciendo al decremento de la funciones vitales y muerte celular.

La actividad antimicrobiana del NaClO es proporcional a su concentración; a una concentración de 5,25 % elimina microorganismos en pocos segundos (Vianna y cols., 2004), además inhibe la actividad de *Enterococo Faecalis* (Siqueira y cols., 2000) y en mayores concentraciones mejora su capacidad para disolver tejido orgánico (Hand, 1978). Por el contrario, cuando las concentraciones de NaClO son menores y entran en contacto con la materia orgánica se consume más rápido el  $\text{Cl}^-$  presente, y se reduce la actividad antibacteriana (Siqueira y cols., 2000).

La eficacia de la irrigación está directamente asociada al mecanismo de irrigación. La irrigación pasiva tiene una serie de limitaciones, ya que el reservorio de irrigante sin movimiento activo restringe: la penetración, la circulación y el potencial de limpieza del canal radicular (Mohammadi y cols., 2015). Es de esta manera que se describe la activación del irrigante endodóntico como una forma de mejorar su acción química y física en la desinfección del canal (Walsh y cols., 2017). La “*activación*” del irrigante consiste en la agitación de la solución a través de la introducción de un instrumento dentro del canal y moverlo con movimiento alternativo, movimiento oscilatorio o giratorio, para que el irrigante se disperse y elimine los residuos de los extremos del canal (Gulabivala y cols., 2010).

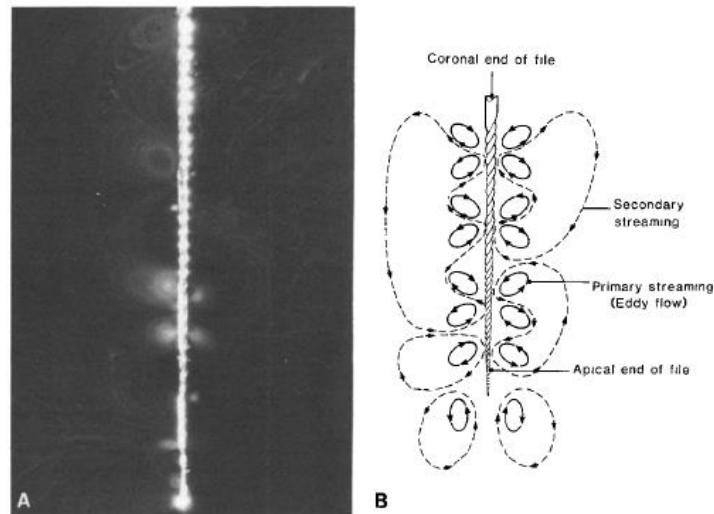
Los métodos de activación mecánica o física del irrigante que se han desarrollado son múltiples, pero pueden ser clasificados según la AAE en dos grandes grupos: manuales y de agitación por medio de dispositivos. Los mecanismos por medio de dispositivos incluyen método por presión negativa, método sónico y método por ultrasonido.

## 2.2 MÉTODO POR ULTRASONIDO

Richman en 1975, introdujo el ultrasonido como una técnica para tratamiento endodóntico, al emplear el uso del Cavitron® en un canal radicular. El ultrasonido es un método que emplea vibración u oscilación acústica de una mayor frecuencia de la que es perceptible al oído humano, de aproximadamente 20.000 Hz (Mozo y cols., 2012). La **transmisión o agitación acústica** se define como la circulación del irrigante y el efecto hidrodinámico ocasionado por las fuerzas del cizallamiento, en las proximidades, producidas por un objeto vibrante (AAE, 2012).

Existen dos métodos básicos de ultrasonido: por magnetotricción y basados en el principio piezoeléctrico. El principio *piezoeléctrico* implica el uso un cristal que cambia de tamaño mediante la aplicación de electricidad, este es el método más usado, ya que produce más ciclos por segundo, produciendo 40kHz por ciclo, en comparación con la magnetotricción y sus 24kHz por ciclo (Mozo y cols., 2012). Otra de sus ventajas está asociada a su pistón de movimiento lineal, que lo hace ideal para tratamientos endodónticos (Plotino y cols., 2007) [Figura. 1]

Existen técnicas para emplear el ultrasonido, las cuales han sido categorizadas en dos: la irrigación ultrasónica (IU), que refiere el uso simultáneo de instrumentación y ultrasonido, y la irrigación pasiva con ultrasonido (IPU), que opera sin la combinación de estos (Gu y cols., 2009). Cuando se utiliza el IU o limas en combinación con ultrasonido, se ha comprobado que existe una gran posibilidad de ocasionar desviación del canal, zips apicales y perforación de la pared radicular, especialmente en canales curvos, por lo que ha sido descartado su uso en el tratamiento endodóntico (Klyn y cols., 2010).



**Figura 1. Agitación acústica**

A. Fotografía B. Diagrama del movimiento (Ahmad, Pitt y Crum, 1987)

La IPU, presentada por Weller en 1980, es una metodología que implica accionar el ultrasonido después de la preparación mecánica del canal radicular, a diámetros menores que la **lima maestra** (LM) de tal manera que la lima sea capaz de oscilar libremente (Van der Sluis y cols., 2007). Es una tecnología no cortante que transmite la energía de la onda ultrasónica al irrigante, provocando oscilaciones de este y que se traduce en dos efectos físicos relevantes: flujo del irrigante y cavitación de la solución. La cavitación es un mecanismo que consiste en la generación de burbujas que se expanden y colapsan rápidamente, generando daño a elementos bacterianos (Van der Sluis y cols., 2007). Ambas acciones son medios importantes en la destrucción de microorganismos y eliminación del detritus a nivel del SCR.

### **2.3 EFECTO DE IRRIGACIÓN CON HIPOCLORITO DE SODIO Y ULTRASONIDO**

La literatura describe que existe un efecto sinérgico entre el hipoclorito de sodio y el ultrasonido. Se ha visto que la agitación del NaClO al 5% causada por el ultrasonido, aumenta la efectividad del irrigante en el tercio apical del canal radicular al conseguir una mejor desinfección del canal (Mozo y cols., 2012). Cuando se emplean juntos se ha demostrado una mayor eficacia en la remoción de remanentes pulpares y de dentina que con la técnica IU (Van der Sluis y cols., 2007). Incluso su combinación los hace superior a la técnica pasiva (sin activación) en la remoción del barro dentinario (Ribeiro y cols., 2011).

Un estudio de Sabins y cols. del 2003, demostró que una activación de 30 segundos obtiene una adecuada limpieza del canal. Actualmente, el protocolo indica que la activación del NaClO con ultrasonido debiera ser entre 30 segundos a 1 minuto por cada canal, haciendo 3 ciclos de 10-20 segundos cada uno, y renovando constantemente el irrigante (Plotino y cols., 2007).

La activación del hipoclorito mediante la IPU debiera realizarse después de haber terminado la instrumentación, ya que una oscilación libre tendrá un mayor efecto sobre las paredes del canal radicular (Roy y cols., 1994). Los estudios que han encontrado una limpieza efectiva del canal han empleado el ultrasonido solamente en la fase final de irrigación luego de la instrumentación manual del canal radicular (Ahmad y cols., 1987).

Indagando en el *estado del arte*, Macedo y cols. en el año 2013 hallaron una disminución del cloro disponible en el NaClO durante la activación del irrigante mediante ultrasonido, sin embargo una investigación *ex vivo* más reciente de Yevenes y colaboradores en el año 2017, que buscaba determinar los efectos del ultrasonido en la formación de la paracloroanilina, encontró adicionalmente un aumento de la concentración de NaClO en las etapas siguientes a la activación con ultrasonido.

A pesar de que no existe mayor evidencia del efecto que ejerce el ultrasonido sobre el irrigante, estudios que se han dedicado a evaluar el efecto del ultrasonido sobre la placa bacteriana intracanal y la eliminación del barro dentinario, han hallado que existe una disminución del hipoclorito disponible o menor formación cuando se utiliza la agitación acústica. Por ello, y entendiendo lo descrito por Estrela y cols. en el 2002, de que el HClO es el que genera el efecto antimicrobiano y desinfectante, una mayor eficacia del tratamiento por parte del ultrasonido debe basarse en acelerar la reacción del NaClO, provocando la disociación de la molécula original, para la generación de subproductos activos que ejerzan su efecto biológico.

El valorar la concentración del NaClO durante las distintas etapas del tratamiento endodóntico, lograría dilucidar el comportamiento del irrigante en este método de activación en una situación clínica.

Por lo tanto, se propone en este estudio comparar la concentración de hipoclorito entre un protocolo endodóntico sin activación y un protocolo endodóntico con activación mediante IPU, y con ello determinar la concentración de NaClO obtenidas en las fases de tratamiento y comparar la variación de ambas técnicas. Todo esto con la intención de asociar la actividad del hipoclorito con su efectiva activación y a su vez con su acción antimicrobiana.

### 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### **Hipótesis**

La activación del hipoclorito de sodio por técnica de Irrigación Pasiva con Ultrasonido (IPU) presenta menores concentraciones de NaClO, que sin activación en modelos *ex vivo*.

#### **Objetivo General**

Comparar las concentraciones de hipoclorito de sodio *ex vivo después de aplicar* el protocolo de irrigación endodóntico y el protocolo de irrigación endodóntico con activación pasiva del ultrasonido (IPU).

#### **Objetivos Específicos**

1. Determinar las concentraciones de hipoclorito mediante espectrofotometría UV, a las muestras recolectadas en técnica sin activación NaClO, y con activación del irrigante mediante IPU.
2. Comparar los valores obtenidos de concentración entre ambos protocolos, con y sin activación del NaClO.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 4.1 Tipo de Estudio

El presente trabajo corresponde a un estudio prospectivo, experimental y explicativo *ex vivo*.

### 4.2 Selección del N° Muestral

En este estudio se midió la concentración de NaClO durante la aplicación de dos técnicas: una sin activación y la otra con activación mediante IPU, siendo los datos comparados entre sí. En este contexto, la fórmula matemática que permitió calcular el tamaño muestral  $n$  para la comparación de dos medias (SEQC, 2008), es la siguiente:

$$n = \frac{2(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 s^2}{d^2}$$

donde:

$z_{\alpha}$  es el valor z correspondiente al riesgo deseado.

$z_{\beta}$  es el valor z correspondiente a la potencia estadística deseada.

$s^2$  es la varianza de la variable cuantitativa que tiene el grupo control.

$d$  es el valor mínimo de la diferencia que se desea detectar.

Para aplicar esta fórmula se necesitó el dato de desviación estándar ( $s$ ) del grupo control medido en estudios previos. Se utilizó para este efecto el estudio de Yevenes y cols. (2017), quien en su estudio de determinación de paracloroanilina, utilizó NaClO 5% durante las primeras cuatro fases del tratamiento endodóntico. Los resultados que obtuvo se describen en la **Tabla 1**.



**Tabla 1. Concentración de NaClO medida en el estudio de Yevenes (2017).**

<b>NaClO</b>	<b>Concentración Mínima</b>	0,009%
	<b>Concentración Máxima</b>	0,043%
	<b>Concentración Promedio</b>	0,02776%
	<b>Desviación Estándar</b>	0,0776

Basándonos en este estudio, se estableció también el valor mínimo de la diferencia que se desea detectar ( $d$ ) en **0,00696**.

$$d = (\text{Concentración promedio} - \text{Concentración mínima})$$

$$d = (0,02776 - 0,0901) = 0,00696$$

Este valor corresponde a la diferencia entre la concentración promedio y la concentración mínima de NaClO encontrada en el estudio cuando es usado el NaClO al 5%. De esta forma, un  $d$  mayor implicaría que la concentración de NaClO encontrada en el grupo con activación es menor a la mínima concentración de NaClO medida en el grupo sin activación según este estudio.

Por lo tanto, si se acepta un riesgo de 0,05 ( $Z_{\alpha}= 1,96$ ) y una potencia estadística del 90% ( $Z_{\beta}=1,282$ ), tenemos que:

$$\eta = \frac{2 (1,960 + 1,282)^2 (0,0776)^2}{(0,00696)^2} = 20 \quad \eta = 20$$

Se corroboró esta medición utilizando el software calculadora de tamaño muestral GRANMO (IMIM, 2012), adicionando como dato que se desea una razón entre el  $n$  del grupo experimental respecto del control de 2. Esto último porque, en el estudio experimental, a medida que las repeticiones aumentan, las estimaciones de las medias observadas eran más precisas.

Introduciendo todos estos datos, según el software, se precisa un  $n = 10$  en el grupo control y un  $n= 20$  en el grupo experimental para detectar una diferencia igual o superior a 0,00696 (IMIM, 2012).

### **4.3 Obtención y almacenamiento de la muestra.**

Se montó un modelo *ex vivo* sobre 30 dientes unirradiculares extraídos recientemente, y conservados en suero fisiológico. A los pacientes a los cuales se les realizó la extracción del diente, se les solicitó llenar y firmar el formulario de consentimiento informado (**Anexo 1**), para dar su autorización de utilizar el diente extraído para los objetivos de este estudio.

Los **criterios de selección de la muestra** fueron: dientes unirradiculares sanos, es decir sin lesión de caries y/o ausentes de lesión periapical, con integridad coronaria, canal radicular recto o con leve curvatura en el tercio apical, y diámetros de canal radicular medianos a amplios en los tres tercios radiculares analizados en radiografía periapical previa. La muestra fue dividida en dos grupos; un primer grupo correspondiente al Protocolo A (**Anexo 2**), que refiere al grupo control o al protocolo endodóntico sin activación del NaClO, y el protocolo B (**Anexo 3**), que es el grupo experimental donde se realizó la activación del irrigante.

## **4.4 Procedimientos**

### **4.4.1 Materiales, instrumental y dispositivos.**

Los materiales, instrumentos y soluciones utilizados durante la ejecución del protocolo endodóntico, se muestran en la **Tabla 2**. Más adelante los materiales y dispositivos para el procesamiento en el laboratorio se describen en la **Tabla 3**.

**Tabla 2. Materiales, instrumentos y soluciones para el protocolo endodóntico**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Turbina. <i>W&amp;H® Alegra TE-95 RM. Ignaz Glasser Strabe 53, Austria.</i></li> <li>• Micromotor y contrángulo. <i>NSK® FX205 Mildwest</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ultrasonido <i>NSK® Various Lux 560 Ultrasonic Scaler Shimoshinata 700, Japan.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Limas K #20 para sistema de Ultrasonido <i>Woodpecker® NITI-File, Guilin National High Tech Zone Information Industry, China.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dispositivo para la toma de muestras <i>*En proceso de marca, Chile.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frascos de vidrio de diámetro de 5cm para recolección de muestra</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Piedras de diamante redondas de alta velocidad N°12 (801.FG.012) y N°14 (801.FG.014) <i>Jota AG Rotary Instruments. Hirschensprungstrasse 2, 9464 Rüthi, Suiza.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fresas Carbide redondas de baja velocidad N°12 (C1.RA.012) y N°14 (C1.RA.014) <i>Jota AG Rotary Instruments. Hirschensprungstrasse 2, 9464 Rüthi, Switzerland.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fresas Endo Z de baja velocidad. <i>Dentsply-Maillefer, Chemin du Verger 3, 1338 Ballaigues, Suiza.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fresas Gates Glidden N.º 1, N°2 y N°3. <i>MANI, INC. 743 Nakaakutsu, Takanezawa, Shioya, Tochigi 329-1234, Japón.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jeringas de Irrigación Monoject. <i>Covidien lic, 15 Hampshire, Mansfield, MA 02048 USA.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Limas tipo Kerr (K) primera serie y segunda serie de 25mm y 31mm. <i>Dentsply-Maillefer, Chemin du Verger 3, 1338 Ballaigues, Suiza.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipoclorito de Sodio 5%. <i>NaClO, Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103, USA.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cloruro de Sodio Estéril al 0,9% <i>J.T. Baker, Mallinckrodt Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, 55320, Edo de Mex. México, USA.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua destilada. <i>Laboratorio de Química, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.</i></li> </ul>

En la **Figura 2** se observa el dispositivo de toma de muestras (creado y construido por el Dr. Mauricio Ruiz Nolf). Este dispositivo recolecta las soluciones obtenidas del canal radicular al estar conectado al sistema de eyección del sillón dental, y mediante un efecto de succión se genera el traspaso de la muestra desde el extremo con la jeringa al frasco de vidrio estéril (**Anexo 4**).

Por motivos de fidelidad de la muestra, además se elaboró un protocolo de limpieza de este dispositivo, el cual se describe en el **Anexo 5** y que se ejecutó después de la recolección de cada solución de irrigante.



**Figura 2. Dispositivo de Recolección de Muestra (Dr. Mauricio Ruiz Nolf).**

**Tabla 3. Materiales y dispositivos para el procesamiento en el laboratorio.**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tubos 3810X, de 1,5 mL <i>Biologix Group Limited, No.2766 Ying Xiu Road, High-Tech Industrial Development Zone Jinan, Shandong 250101 P.R., China.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Micropipetas 100µL y 1000µL Labopette® <i>Hirschmann, Inc. Holloway Road, Suite 104 Bluegrass Industrial Park · Louisville, KY 40299, USA.</i></li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Espectrofotómetro UNICAM® UV/VIS <i>Thermo Spectronic Unicam UV-530 UV-Visible, Rochester, NY, USA.</i></li> </ul>

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Centrífuga Hermle z216 MK <i>HERMLE Labortechnik GmbH, Siemensstr 25 D-78564, Wehingen, Alemania.</i></li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cubetas de cuarzo 1cc <i>Scientech, Inc. 5649 Arapahoe Avenue Boulder, CO 80303-1399, USA.</i></li> </ul>        |

#### 4.4.2 Aplicación del Protocolo Endodóntico y recolección de muestras

Al grupo control y experimental se les aplicó el protocolo clínico de irrigación, de acuerdo con el protocolo endodóntico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (FOUCH). Las etapas en que se realizó la irrigación con NaClO y recolección de cada muestra en el grupo control fueron:

- Etapa 1 (E1): la cavidad de acceso, irrigando inmediatamente después de comunicar y al permeabilizar el canal radicular (Recolección N.º 1),
- Etapa 2 (E2): el flare, en el cual se realizó la preparación del tercio cervical y medio del canal radicular con Fresas Gates Glidden (Recolección N.º 2)
- Etapa 3 (E3): la primera fase de la preparación quimio-mecánica o preparación del tercio apical, por medio de la Técnica Corono-Apico-Medial de la Universidad de Chile, utilizando limas K e irrigando entre el uso de cada lima. (Recolección N.º 3)
- Etapa 4 (E4): La segunda fase de la preparación Quimiomecánica, etapa de retroceso o “Step Back” (Recolección N.º 4).

En cada una las etapas mencionadas, se irrigó con 1 jeringa de 3mL, que contenía NaClO al 5% (previamente valorada su concentración por espectrofotometría).

- Luego para las etapas 5, 6 y 7 del protocolo (E5, E6 y E7), se recolectaron los líquidos producidos al lavar con 1 jeringa de suero fisiológico por etapa, cada una de 3mL (Recolección N.º 5, 6 y 7).

A los dientes del grupo experimental (Protocolo B, Anexo 3) se les aplicó el mismo protocolo clínico de irrigación descrito anteriormente, pero en ellos se añadió la etapa de activación de hipoclorito post- preparación mecánica del canal; **Se rellenó el canal radicular con hipoclorito hasta la altura de la cavidad de acceso, y se activó por medio de ultrasonido en 3 ciclos de 20 segundos cada uno.** La vibración se efectuó mediante el NSK® Ultrasonic Scaler Varios 560, en el modo “E” (EndoMode), a una potencia media, y estandarizando para todas las muestras una lima #20, con una LM mínima #35 y a una distancia de -1 mm de la longitud de trabajo (LT). Para cada uno de los ciclos se incorporó nuevo hipoclorito sin activar. La recolección de los 3 volúmenes (uno por cada ciclo), se realizó por medio de una micropipeta, y se le denominó Etapa 4.5 (E4.5).

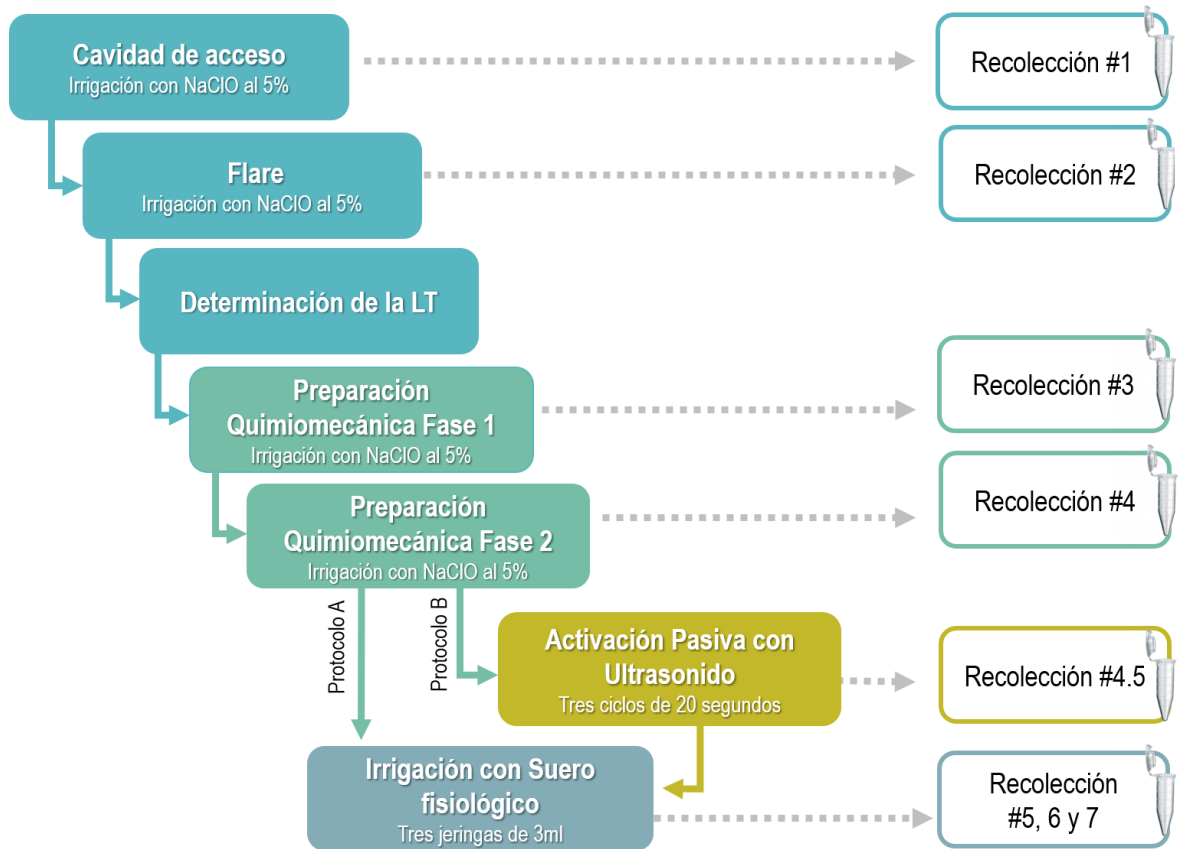
Las 7 muestras del grupo control y las 8 muestras del grupo experimental, obtenidas en el tratamiento endodóntico, fueron guardadas en tubos de 1,5 mL, rotuladas y almacenadas en el congelador.

En la **Figura 3** se muestra el flujograma de las etapas del tratamiento endodóntico de acuerdo con el protocolo clínico de irrigación de la FOUCH, con las recolecciones respectivas y los protocolos señalados.

#### **4.4.3 Procesamiento de las muestras en el laboratorio**

Para su procesamiento las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente y centrifugadas a 12.000rpm, por 5 min y a 4°C, para decantar el detritus.

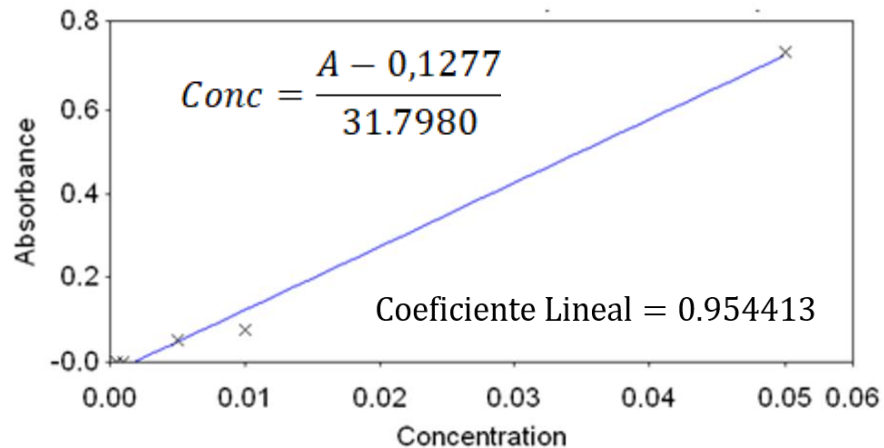
Luego, para su lectura en el espectrofotómetro se realizó la dilución de cada recolección de NaClO (E1, E2, E3, E4 y E4.5) en agua destilada a partir de 10µL, para obtener 10 mL de muestra diluida. Las muestras correspondientes a las E5, E6 y E7, fueron medidas directamente sin necesidad de dilución.



**Figura 3. Flujograma de etapas del Tratamiento Endodóntico, de acuerdo con el protocolo clínico de la FOUCH y las recolecciones de muestras por etapa.**

#### 4.4.4 Espectrofotometría

Para la determinación de la concentración del NaClO recolectado en cada etapa se utilizó una metodología espectrofotométrica, donde cada sustancia tiene su propio espectro de absorción específico determinada a cierta longitud de onda, y el cual se elige de acuerdo al peak de máxima absorbancia ( $\lambda_{max}$ ). La curva de calibración presente en la **Figura 4**, corresponde a la curva de calibración del hipoclorito de sodio (pH 13), obtenida previamente mediante soluciones estándar de NaClO, con valores de absorbancia (A) inferiores a 2.



**Figura 4: Curva de Calibración de la NaClO (medida a  $\lambda_{292nm}$ )**

Utilizando la ecuación de la curva de calibración, se obtuvo la absorbancia de las muestras leídas a un  $\lambda_{max}=292nm$ , y empleando cubetas de cuarzo (1cc), contra agua destilada como blanco. Se interpolaron los valores de absorbancia en la ecuación de la curva de calibración para obtener así el valor de su concentración.

#### 4.5 Análisis Estadístico

A través del análisis de los resultados se buscó establecer las diferencias entre las concentraciones medidas de NaClO entre ambos grupos, "A" (sin activación), "B" (con activación mediante IPU). Los datos fueron tabulados en términos de absorbancia y concentración de NaClO.

Los datos obtenidos fueron sometidos al test estadístico Shapiro-Wilk para determinar el tipo de distribución. Si las muestras no presentaban una distribución normal entonces los datos fueron sometidos al test de Mann-Whitney para establecer la significancia de las diferencias encontradas utilizando el software estadístico IBM SPSS. Se fijó un intervalo de confianza del 95% aceptando diferencias estadísticamente significativas cuando  $p < 0,05$ .



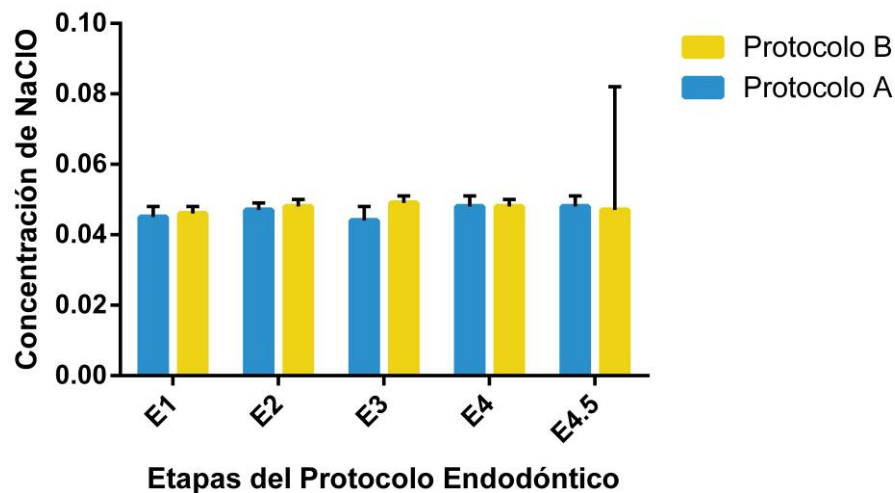
## 5. RESULTADOS

### 5.1 Determinación de las concentraciones de hipoclorito de sodio en el grupo control (Protocolo A) y grupo experimental (Protocolo B), mediante espectrofotometría UV.

El promedio de las concentraciones de irrigante obtenidas en las primeras etapas (E1, E2, E3, E4, y E4.5) fue de 4,6% en el grupo control y 4,9% en el grupo experimental. En las etapas de irrigación con suero fisiológico (E5, E6, y E7), los valores de NaClO residual fue un promedio de 0,6% para el protocolo A, y del 1% para el protocolo B.

Estos datos corresponden a los valores de NaClO de las distintas etapas del tratamiento endodóntico, calculados de acuerdo con la ecuación de la absorbancia expuesta anteriormente (Véase en la Tabla 4, **Anexo 6**).

### 5.2 Comparación de los valores obtenidos de concentración entre el protocolo A (sin activación) y el Protocolo B (con activación).



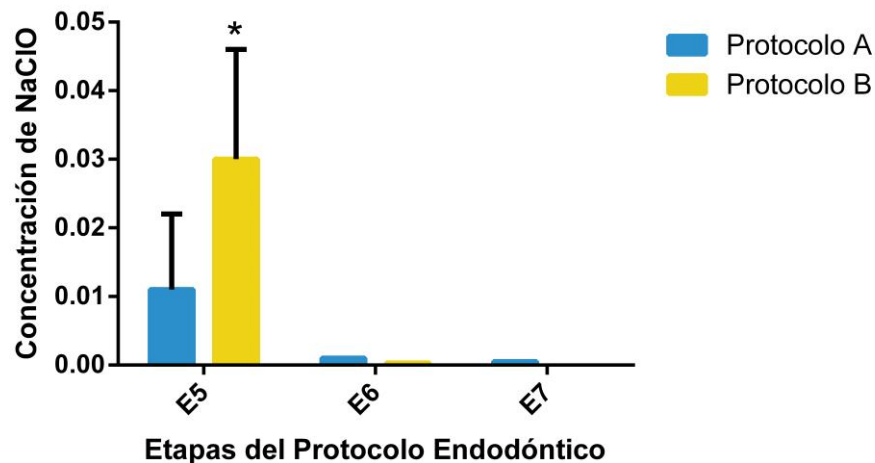
**Gráfico 1. Medianas de concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) en las etapas de preparación quimio-mecánica y activación del hipoclorito.** En el eje Y se representa la concentración de NaClO, y en el eje X las etapas E1, E2, E3, E4 y E4.5 del protocolo A y protocolo B. De acuerdo con lo observado, no existe una diferencia significativa entre los valores de concentración de NaClO al comparar ambos protocolos, ni variaciones importantes entre las etapas.

**Tabla 5. Valores de concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) obtenidos en la etapa 4.5 (E4.5) durante la activación mediante irrigación pasiva con ultrasonido (IPU) en el protocolo B.** En la segunda columna se encuentran las concentraciones de NaClO en la etapa 4 del protocolo A (sin activación), y en la tercera columna las concentraciones obtenidas de E 4.5 en el protocolo B (con activación mediante IPU). ( $p < 0,05$ ).

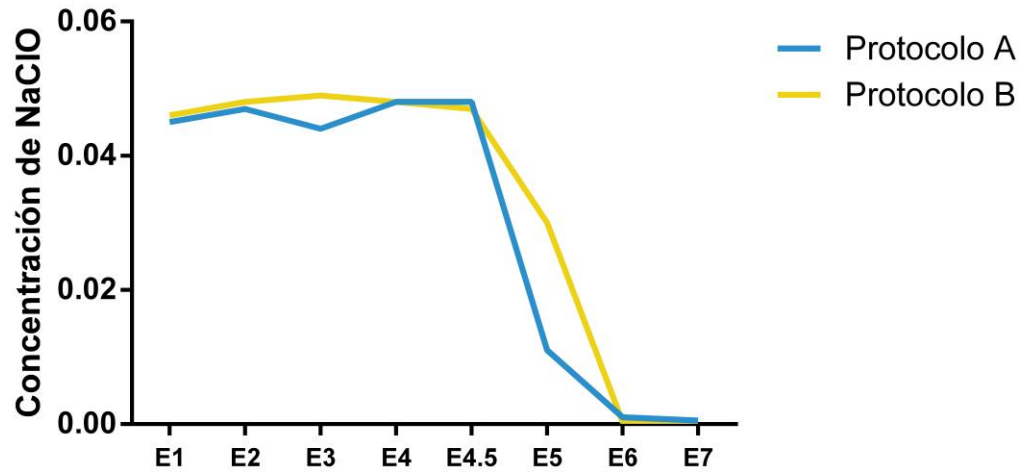
E4.5	Protocolo A	Protocolo B
Mediana	0,0477	0,0468
Mínimo	0,0417	0,0005
Máximo	0,0506	0,1629
Rango	0,0089	0,1624

$p = 0,660$

*En esta tabla se comparan datos de ambos protocolos. A pesar de que los valores de medianas obtenidas no fueron significativamente diferentes, las concentraciones mínimas y máximas de ambos grupos fueron muy variables entre ellos. El grupo que empleo IPU fue el que obtuvo un mayor rango de concentraciones (0,1624).*



**Gráfico 2.** Medianas de concentración del hipoclorito de sodio (NaClO) residual en las etapas de irrigación con suero fisiológico. En el eje Y se representa la concentración de NaClO, y en el eje X las etapas E5, E6, y E7 del protocolo A y protocolo B. ( $p < 0,05$ ). Se observa, que al comparar los valores de concentración del irrigante entre ambos protocolos, la etapa 5 obtuvo una mediana de concentración significativamente mayor en el grupo experimental (0,03) versus el protocolo sin activación (0,01). En las etapas 6 y 7 se consiguieron valores similares entre ambos grupos.



**Gráfico 3. Representación lineal de las medianas de concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) obtenidas en las etapas de los protocolos endodónticos.** En el eje Y se representan las concentraciones de NaClO, y en el eje X las etapas del protocolo A (celeste) y protocolo B (amarillo). ( $p < 0,05$ ). *Se observa en el siguiente gráfico que el protocolo del grupo activación del irrigante logra mantener concentraciones de NaClO por mayor número de etapas, con respecto al protocolo sin activación, relación que se destaca en la etapa 5. Las curvas descienden con una caída más pronunciada en el grupo control, y un descenso paulatino en el grupo experimental.*

## 6. DISCUSIÓN

En el tratamiento endodóntico, la profundidad de penetración del irrigante, en los túbulos dentinarios del canal radicular, es un factor que afecta la desinfección del SCR y la prognosis del tratamiento (Zou y cols. 2010, Solana y cols. 2017). Se ha encontrado, que alrededor de un 40% de los canales del SCR no son instrumentados, incluso en canales circunferenciales (Wu y cols., 2003).

Para poder eliminar las bacterias de las paredes del canal radicular, el irrigante debe alcanzar la mayor parte del SCR, ya que existen áreas que tienen el potencial de ser reservorios de microorganismos y que son inaccesibles para los efectos de la PQM (Siqueira y cols., 2000). El uso del ultrasonido en la endodoncia ha optimizado la calidad del tratamiento por parte del especialista, principalmente por mejorar el acceso y la limpieza de canales secundarios, lo que lleva a una menor probabilidad de obstrucción intracanal, mejor conformación y obturación del canal radicular (Mohammadi y cols., 2015). Sin embargo, se desconoce la capacidad que puede tener el ultrasonido sobre el irrigante, que permita asociarlo a su mayor eficacia en el tratamiento endodóntico.

El propósito de esta investigación fue precisar la concentración de NaClO en las etapas del tratamiento endodóntico comparando dos técnicas de irrigación, una técnica pasiva y una técnica con activación, para describir el efecto que genera el uso del ultrasonido sobre el irrigante y asociarlo a su acción biológica. En la literatura, estudios como este han obtenido resultados que se contradicen en la acción que genera este medio de activación, por lo que para este trabajo se tomó la previsión de desarrollar una metodología controlada, estandarizar los instrumentos, y utilizar las pautas actuales de un tratamiento endodóntico con IPU .

Se seleccionaron para ello un total de 30 dientes, los cuales fueron divididos aleatoriamente entre el grupo control (sin activación) y el grupo experimental (con activación). El protocolo de irrigación aplicado al grupo control correspondió al que se utiliza actualmente en la Clínica de Endodoncia de la Universidad de Chile, y para lo cual se llegó hasta la etapa 7 del protocolo, que es compatible con la etapa

previa a la medicación intracanal del tratamiento endodóntico. Para el grupo experimental se realizó el mismo protocolo pero se incorporó el ultrasonido después de la PQM, estandarizando para el procedimiento el uso de una lima #20, que vibrara libremente dentro del canal radicular, durante 3 ciclos de 20 segundos cada uno, con una LM mínima de #35 y a una distancia menor (-1mm) de la LT.

Conforme a los valores de absorbancia medidos, se determinaron las concentraciones de hipoclorito de sodio obtenidas durante las etapas de la preparación del canal radicular, y en la etapa 4.5 correspondiente a la etapa de activación con ultrasonido. Al interpretar los resultados, el grupo sin activación del irrigante obtuvo un descenso de la concentración de NaClO en la tercera fase si se compara con la activación mediante IPU (**Grafico 1**), sin embargo bajo los objetivos de este estudio, la disminución de la concentración fue muy leve, casi inexistente, y reconociendo que durante la ejecución del tratamiento se utilizó un volumen mayor de NaClO (jeringas de 3 mL) en cada etapa, no se consideró como un dato relevante.

Para comparar los valores obtenidos en la etapa 4.5 (la fase de activación por medio de ultrasonido en el protocolo B) con los valores sin activación, se tomó como referencia los valores obtenidos en la etapa 4 el protocolo A, y así poder confrontarlos con los datos de activación mediante IPU. De acuerdo con los resultados descritos previamente, la hipótesis planteada por este estudio fue nula, ya que, en vez de haber una disminución de los valores de NaClO al utilizar el ultrasonido, no hubo cambios significativos en las concentraciones del irrigante con respecto al protocolo sin activación. Los datos conseguidos en el presente estudio, durante el protocolo B, no solo implicaron que no existían cambios significativos con respecto a un protocolo sin activación, si no que en la etapa de ultrasonido existió mayor dispersión de los valores del irrigante (**Tabla 5**).

En las últimas tres etapas del tratamiento (etapas 5, 6 y 7), se utilizó suero fisiológico como irrigante para diluir el NaClO residual presente en el interior de los

canales radiculares (**Gráfico 2**). Un dato significativo fue el que se mostró en la quinta etapa, donde el grupo control obtuvo una disminución de la concentración de irrigante, mientras que el grupo experimental alcanzó una concentración mayor del NaClO residual, si se le compara con la obtenida en el protocolo sin activación. Este resultado coincide con lo propuesto previamente por Yevenes y cols. en su estudio, ya que posterior a la activación del irrigante, las concentraciones de NaClO demostraron ser mayores con respecto al grupo control. Una posible conjetura al respecto se puede obtener a partir del **Gráfico 3**, ya que cuando se conjuga el comportamiento del NaClO de ambos protocolos en un gráfico lineal a través de las etapas del tratamiento endodóntico, se puede interpretar que el grupo experimental mantiene concentraciones más elevadas de NaClO por mayor número de etapas, por lo que se podría suponer que esta mayor cantidad de NaClO disponible se debe a una mayor penetración en el SCR.

Macedo y colaboradores en el 2013, encontraron en su estudio que la cantidad de cloro disponible disminuía durante el uso del ultrasonido explicando, entre sus posibles razones, que la activación del irrigante en sí mismo ocasiona esta baja de concentración debido a la descomposición de la molécula original. De manera que se esperaba que en la medida del accionar del ultrasonido la molécula original del irrigante se consumiera, explicando su efecto biológico. A pesar de ello, y de acuerdo con la hipótesis planteada, los resultados obtenidos en este estudio *ex vivo* demostraron que la implementación del ultrasonido no modifica las concentraciones del hipoclorito de sodio, pero si se generan valores significativamente mayores de concentración de NaClO en la primera etapa de irrigación con suero fisiológico.

No obstante, se pueden dar algunas posibles interpretaciones. Una de ellas, es que el resultado podría ser explicado por el proceso de cloraminación; en este sentido se asume que este proceso puede llegar a saturar, al ya no haber proteínas bacterianas ni colágeno disponible que aminorar, ocasionando que las moléculas de NaClO que no reaccionan con la materia orgánica se mantendrían

dentro del canal, debido a la ausencia de sustrato con el cual interactuar. Por consiguiente, se vaciarían mediante la irrigación con suero fisiológico, lo cual arrojaría un valor mayor de las concentraciones del irrigante con respecto al grupo control, implicando que la técnica por ultrasonido favorece una acción infiltrante del irrigante, y de forma prolongada.

Otra posible deducción de los datos obtenidos es que el producto de esta investigación puede deberse intrínsecamente al método de valoración de las concentraciones del NaClO mediante espectrofotometría. Yevenes y cols. en el 2017 tuvieron un hallazgo secundario a los objetivos de su estudio y similar al de la presente investigación, en el que hubo un aumento significativo de las concentraciones del irrigante después del uso del ultrasonido, al valorarlo por espectrofotometría. La espectrofotometría es una técnica ampliamente usada para medir la cantidad de luz absorbida o transmitida de una solución, sin embargo, ciertas soluciones pueden presentar una igual absorción bajo un mismo espectro de luz; dicha situación se describe en la literatura como el *punto isosbético*, y corresponde a una absorbancia en la cual se intersecan varios espectros de onda (Reinhardt y Coe, 1969). Es decir, esto podría determinar que los datos de la lectura por el espectrofotómetro pueden ser atribuibles a que el hipoclorito de sodio y los productos de su reacción (HClO y ClO<sup>-</sup>) tienen puntos coincidentes de absorbancia, y por lo tanto el dispositivo sugiere una mayor concentración de NaClO, a la real existente. De hecho, estudios anteriores, han encontrado puntos isosbéticos entre el HClO y el dióxido de cloro a una  $\lambda_{max}=295\text{nm}$  (Wang y cols., 2011). Este hecho permitiría aclarar por qué los valores obtenidos en la etapa 4.5 fueron similares entre ambos protocolos, pero para comprobar esto se deben realizar más estudios con respecto a la técnica. Una forma de dilucidar la situación descrita es utilizar HPLC-MASA, metodología que permite no solo cuantificar si no que identificar sustancias presentes en una muestra.

Existen además otras metodologías para evaluar la concentración de una solución de hipoclorito cómo por ejemplo el ensayo de yodometría, empleado en el estudio de Macedo y colaboradores en 2013. Este reflejó que la activación del irrigante genera menores cantidades de cloro libre, lo que fue coincidente con lo descrito por Stojic y cols. algunos años antes “*las moléculas de NaClO involucradas se consumen, lo que resulta en una disminución de su concentración y actividad local*”. La yodometría es una técnica de valoración indirecta, que estima la presencia del hipoclorito de sodio mediante su habilidad de oxidar el ion yoduro y convertirlo en yodo. Debido a la distinta forma de ejecución de esta técnica, representa una posible metodología para emplear en futuros estudios.

Los autores de este trabajo exhortan la necesidad de emplear una metodología *in vitro*, con el objetivo de manejar los volúmenes de forma exacta y valorar el efecto del ultrasonido sobre el irrigante en un medio aislado. También tener en cuenta los efectos que podría verse en un experimento *in vivo*, ya que la conducta del irrigante activado puede ser diferente en el medio oral, si se contemplan otras condicionantes como el tejido pulpar y el ligamento periodontal.

Hay que enfatizar que la desventaja de una técnica sin activación se debe a una transmisión débil del irrigante, ya que su penetración depende tanto de la anatomía del canal como de la profundidad de la punta de la jeringa intracanal (Mozo y cols., 2012), por lo que métodos que favorezcan la actividad del irrigante deben ser preferentes para el profesional. Durante la activación por la IPU la energía es transmitida desde la lima oscilante al irrigante que se encuentra dentro del canal, y con una irrigación intermitente (mediante ciclos de activación) se logra mejorar la penetración controlando el volumen de la solución administrada (Li-sha y cols., 2009). Esto podría promover el efecto del ultrasonido de generar productos como el HClO y ClO<sup>-</sup> en toda la amplitud del canal radicular, penetrando incluso en canales secundarios no instrumentables.



Debido a que el ultrasonido favorece la efectividad del NaClO, al tener una mayor acción en la disgregación tisular y bacterias como *Enterococo Faecalis*, el implemento de este dispositivo de activación en áreas de la FOUCH resulta beneficioso para el desarrollo de las actividades clínicas de la práctica docente-asistencial, ya que la IPU puede ser utilizada en diversas situaciones clínicas y en escenarios de mayor dificultad: tratamientos reincidentes o retratamientos, para mejorar el acceso en canales estrechos y de difícil visibilidad, o situaciones de lesiones periapicales persistentes (Park, 2013).

En resumen, esta investigación demostró que el método por activación pasiva con ultrasonido no genera cambios significativos en las concentraciones de hipoclorito de sodio durante el protocolo endodóntico, al compararlo con un tratamiento sin activación, cuando es valorado por espectrofotometría.

## 7. CONCLUSIÓN

- Este estudio rechaza la hipótesis propuesta, ya que de acuerdo a los resultados obtenidos las concentraciones de hipoclorito por técnica de activación mediante IPU no fueron significativas menores. Muy por el contrario, al comparar los valores de NaClO con una técnica sin activación, las concentraciones de irrigante entre ambos grupos fueron similares al evaluarlos por espectrofotometría, en este modelo *ex vivo*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal Vineet S, Rajesh M, Sonali K, Mukesh P (2014). A Contemporary Overview of Endodontic Irrigants - A Review. *Journal of Dental Applications*. 1(6): 105-115.
- Ahmad M, Pitt Ford TR, Crum L (1987) Ultrasonic debridement of root canals: Acoustic streaming and its possible role. *Journal of Endodontics* Vol 13 N°10.
- American Association of Endodontists (2011). Root Canal Irrigants and Disinfectants.
- American Association of Endodontists (2015). Glossary of Endodontic Terms.
- Basrani B, Haapasalo M (2013). Update on endodontic irrigating solutions. *Endodontic Topics* 27, 74–102.
- Dioguardi M, Di Giola G, Illuzzi G, Laneve E, Cocco A, Troiano G (2018). Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems. *European Journal of Dentistry* 12(3):459-466.
- Estrela C, Barbin E, Spano A, Marchesan D (2002). Mechanism of action of Sodium Hypochlorite. *Brazilian Dental Journal* 13(2): 113-117.
- Fedorowicz Z, Nasser M, Sequeira-Byron P, de Souza RF, Carter B, Heft M (2018). Irrigants for non-surgical root canal treatment in mature permanent teeth. *Cochrane Database Systematic Reviews*;(9):CD008948.
- Gu LS, Kim JR, Ling J, Choi KK, Pashley DH, Tay FR. (2009) Review of Contemporary Irrigant Agitation Techniques and Devices. *Journal of Endodontics* Volume 35, Number 6.
- Gulabivala K, Ng YL, Gilbertson M, Eames I (2010). The fluid mechanics of root canal irrigation. *Physiological Measurement*.31(12): R49-84.

- Haapasalo M, Zhen Y, Wang Z, Gao Y (2014). Irrigation in endodontics. *British dental Journal* 216: 299-303.
- Hand R, Smith M, Harrison J (1978). Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics* Volume 4, Issue 2: 60-64.
- IMIM (2012). Calculadora de tamaño muestral GRANMO, versión 7.12. *Institut Hospital del Mar d'investigacions Mèdiques*. [Disponible en: <http://www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/>].
- Klyn SL, Kirkpatrick TC, Rutledge RE (2010). In vitro comparisons of debris removal of the EndoActivator system, the F file, ultrasonic irrigation, and NaClO irrigation alone after hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *Journal of Endodontics* 36(8):1367-71.
- Macedo RG, Verhaagen B, Wessenlink PR, Versluis M, Van der Sluis LWM (2014). Influence of refreshment/activation cycles and temperature rise on the reaction rate of sodium hypochlorite with bovine dentine during ultrasonic activated irrigation. *International Endodontic Journal* 47(2):147-54.
- Macedo RG, Wessenlink PR, Zaccheo F, Fanali D, Van der Sluis LWM (2010). Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time concentration and pH. *International Endodontic Journal* 43, 1108–1115.
- Mohammadi Z, Shalavi S, Giardiano L, Palazzi F, Asgary S (2015). Impact of ultrasonic activation on the effectiveness of Sodium Hypochlorite: A review. *Irian Endodontic Journal* 10(4): 216-220.
- Mozo S, Llena C, Forner L (2012). Review of ultrasonic irrigation in endodontics: increasing action of irrigating solutions. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal* 17 (3): e512-6.

- Park E (2013). Ultrasonics in endodontics *Endodontic Topics* 29, 125–159.
- Plotino G, Pameijer CH, Grande NM, Somma F (2007). Ultrasonics in endodontics: a review of the literature. *Journal of Endodontics*. Feb;33(2):81-95.
- Reinhardt RA, Coe JS (1969). Isosbestic Points and Consecutive Reactions Schemes: The Reaction of Tetra-amminepalladium (II) Ion with Chloride in Acid Solution. *Inorganica Chimica Acta* / 3: 3
- Ribeiro EM, Silva-Sousa YT, Souza-Gabriel AE, Sousa-Neto MD, Lorencetti KT, Silva SR (2011). Debris and smear removal in flattened root canals after use of different irrigant agitation protocols. *Microscopy research and technique*. ;75(6):781-90.
- Roy R, Ahmad M, Crum L (1994). Physical mechanisms governing the hydrodynamic response of an oscillating ultrasonic file. *International Endodontic Journal* 27, 197-207.
- Sabins RA, Johnson JD, Hellstein JW (2003) A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar root canals. . *Journal of Endodontics* 29(10):674-8.
- Sequeira P, Fedorowicz Z, Nasser M, Pedrazzi V (2007) Ultrasonic versus hand instrumentation for orthograde root canal treatment of permanent teeth (Review) *Cochrane Database Syst Rev*. (4):CD006384.
- Siqueira JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC (2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics* 26(6):331-4.

- Siqueira JF, Rôças IN, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Ricucci D (2018). Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Brazilian Oral Research*; 32(suppl 1): e65.
- Solana C, Ruiz Linares M, Baca P, Valderrama MJ, Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM (2017). Antibiofilm Activity of Sodium Hypochlorite and Alkaline Tetrasodium EDTA Solutions. *Journal of Endodontics* ;43(12):2093-2096.
- Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M (2010). Tissue Dissolution by Sodium Hypochlorite: Effect of Concentration, Temperature, Agitation, and Surfactant. *Journal of Endodontics* Volume 36, Number 9.
- Tziafas D, Alraeesi D, Al Hormoodi R, Ataya M, Fezai H, Aga N (2017). Preparation Prerequisites for Effective Irrigation of Apical Root Canal: A Critical Review. *Journal Clinical Experimental Dentistry*.9(10): e1256-e1263.
- Van der Sluis M, Versluis M, Wu K, Wesselink P (2007). Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *International Endodontic Journal* 40, 415–426.
- Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, De Souza-Filho FJ (2004). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 97(1):79-84.
- Walsh JL, George R (2017). Activation of Alkaline Irrigations fluids in Endodontics. *Materials (MDPI)* 10 (10). Pii E1214.
- Wang Q, Kefu C, Jun L, Jun X, Shanshan L (2011). Simultaneous determination of Chlorine Dioxide and Hypochlorous acid in bleaching system. *BioResources* 6 (2),1868-1879.

- Wu MK, B, Wessenlink PR, Van der Sluis LWM (2003). The capability of two hand instrumentation techniques to remove the inner layer of dentine in oval canals. *International Endodontic Journal* 36, 218-224.
- Yevenes I, Neira M, Parada J, Correa V, Araya P (2017) Effect of Ultrasound on the Formation of Parachloroaniline Study in ex-vivo. *Journal of Clinical Experiments & Orthopaedics* 3: 34.
- Zehnder M (2006). Root Canal Irrigants. *Journal of Endodontics* 32, 5.
- Zou L, Shen Y, Li W, Haapasalo M (2010). Penetration of sodium hypochlorite into dentin *Journal of Endodontics* ;36(5):793-6.

# **ANEXOS**



# ANEXO 1

## FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

### TOMA DE MUESTRAS DENTARIAS PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“Determinación de concentraciones de hipoclorito de sodio en la activación del irrigante mediante Técnica Pasiva con Ultrasonido, durante el protocolo endodóntico *ex vivo*.”**

El propósito de esta información es ayudarle a tomar la decisión de participar, o no, en una investigación médica.

Carmen María Pirela, alumna de Odontología que realiza su Tesis de Pregrado en el Departamento de Odontología Conservadora de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, bajo la tutoría de la Dra. Silvana Maggiolo, está realizando un estudio cuyo objetivo es medir los volúmenes de eluídos recogidos durante el tratamiento endodóntico en dientes extraídos para luego determinar el volumen y concentración del compuesto formado de hipoclorito de sodio 5% mediante ultrasonido.

Todos los datos relacionados con su persona e información personal serán guardados de forma confidencial. Las muestras serán almacenadas indefinidamente, con un código, hasta su utilización en el laboratorio para el fin anteriormente explicado y se utilizarán únicamente para el propósito de esta investigación.

Su participación en esta investigación es completamente voluntaria, sin que su decisión afecte la calidad de la atención médica que le preste nuestra institución. Usted no se beneficiará económicamente por participar en esta investigación y el estudio no tendrá costos para usted.

Es posible que los resultados obtenidos sean presentados en revistas y conferencias médicas, sin embargo, su identidad e información personal no será divulgada.

Si usted desea conocer los resultados de los análisis, deberá preguntarle al alumno responsable.

He leído lo anteriormente descrito, se me ha explicado el propósito de esta investigación médica y mis dudas han sido aclaradas. Con mi firma voluntaria de este documento consiento a donar mis dientes extraídos para este estudio de investigación. Se me entregará una copia firmada de este documento y si solicito información, ella me será entregada por los investigadores.

---

Nombre del donante

---

Fecha

Firma del donante

---

Nombre del individuo que obtiene el consentimiento

Firma

## ANEXO 2

### PROTOCOLO A (SIN ACTIVACIÓN DEL IRRIGANTE)

#### PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

---

**Etapa 1 Cavidad de acceso:** se realiza con piedras redondas de diamante de alta velocidad en esmalte dentario, refrigerando, y de acuerdo con el tamaño de la cámara pulpar. En dentina se realiza el corte con fresas redondas de carburo-tungsteno de acuerdo con la forma anatómica del diente hasta comunicar con cámara pulpar. Una vez que se realice la comunicación se irriga con NaClO al 5% con *Jeringa irrigación Monoject* 3mL + Aguja (27x1 1/4). Se continua con el destechamiento de la cámara pulpar con fresas de baja velocidad con movimientos de tracción hacia afuera. Se realiza después el cateterismo con lima K #10 o #15, a 2/3 de la longitud aparente del diente, irrigando con NaClO al 5% durante todo el procedimiento [[Recolección # 1](#)].

Se realizan los desgastes compensatorios, con fresa Endo-Z o fresa de llama de diamante fina (ambas de baja velocidad), de acuerdo con la anatomía del diente correspondiente; en incisivos corresponde el bisel incisal y la convexidad palatina, mientras que en premolares es el desgaste de las vertientes internas.

**Etapa 2 Flare:** se realiza la preparación 1/3 cervical y 1/3 medio con fresas Gates Glidden (FGG). La secuencia se elige de acuerdo con el calibre del canal radicular en los tercios cervical y medio, y se gradúan a los dos tercios de la longitud aparente del diente medida en la radiografía previa. En canales amplios se utiliza la secuencia 3-2-1 y en canales medios la

secuencia 1-2-1, irrigando con NaClO al 5% entre cada paso de FGG. [\[Recolección # 2\]](#).

**Determinación de LT:** Se realizará introduciendo la lima hasta que se visualice la punta de ésta por el ápice del diente. Se deja la punta de la lima a ras del foramen y se calcula su longitud, la cual corresponde a la longitud real del diente (LRD). La longitud de trabajo (LT) se define a -1 mm de la LRD.

**Etapas 3 PQM 1 Fase:** La lima maestra (LM) se definirá de acuerdo al calibre del canal radicular en apical. En canales medios instrumentar hasta alcanzar una LM #35 y en canales amplios una LM #45. Irrigar con NaClO al 5 % entre cada paso de lima. [\[Recolección # 3\]](#)

**Etapas 4 PQM 2: Fase de Retroceso:** Desde la LM hasta alcanzar el diámetro de la última FGG utilizada al realizar el Crown Down (en la mayoría de los casos coincide con la fresa Gates Glidden #1 diámetro #50). Con esto se consigue unir la instrumentación del tercio apical con la preparación de los tercios cervical y medio del canal (Técnica Corono-Apico-Medial). Irrigar con NaClO al 5 % entre cada paso de lima. [\[Recolección # 4\]](#)

**Etapas 5, 6 y 7 Irrigación con suero fisiológico.** Irrigar con 3 jeringas de mL cada una. [\[Recolección # 5,6,7\]](#)

## ANEXO 3

### PROTOCOLO B (CON ACTIVACIÓN DEL IRRIGANTE MEDIANTE ACTIVACIÓN PASIVA CON ULTRASONIDO)

#### PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

---

**Etapa 1 Cavidad de acceso:** se realiza con piedras redondas de diamante de alta velocidad en esmalte dentario, refrigerando, y de acuerdo con el tamaño de la cámara pulpar. En dentina se realiza el corte con fresas redondas de carburo-tungsteno de acuerdo con la forma anatómica del diente hasta comunicar con cámara pulpar. Una vez que se realice la comunicación se irriga con NaClO al 5% con *Jeringa irrigación Monoject 3mL + Aguja (27x1 1/4)*. Se continua con el destechamiento de la cámara pulpar con fresas de baja velocidad con movimientos de tracción hacia afuera. Se realiza después el cateterismo con lima K #10 o #15, a 2/3 de la longitud aparente del diente, irrigando con NaClO al 5% durante todo el procedimiento [**Recolección # 1**]. Se realizan los desgastes compensatorios, con fresa Endo-Z o fresa de llama de diamante fina (ambas de baja velocidad), de acuerdo con la anatomía del diente correspondiente; en incisivos corresponde el bisel incisal y la convexidad palatina, mientras que en premolares es el desgaste de las vertientes internas.

**Etapa 2 Flare:** se realiza la preparación 1/3 cervical y 1/3 medio con fresas Gates Glidden. La secuencia utilizada se elige de acuerdo al calibre del canal radicular en los tercios cervical y medio. Las fresas deben graduarse a los dos tercios de la longitud aparente del diente

medida en la radiografía previa. En canales amplios utilizar la secuencia 3-2-1 y en canales medios la secuencia 1-2-1 irrigando con NaClO al 5% entre cada paso de fresa Gates-Glidden. [[Recolección # 2](#)]

**Determinación de LT:** Se realizará introduciendo la lima hasta que se visualice la punta de ésta por el ápice del diente. Se deja la punta de la lima al ras del foramen y se calcula su longitud, la cual corresponde a la longitud real del diente (LRD). La longitud de trabajo (LT) se define a - 1mm de la LRD.

**Etapa 3 PQM 1 Fase:** Definir la lima maestra (LM) de acuerdo al calibre del canal radicular en apical. En canales medios instrumentar hasta alcanzar una LM #35 y en canales amplios una LM #45. Irrigar con NaClO al 5 % entre cada paso de lima. [[Recolección # 3](#)]

**Etapa 4 PQM 2 Fase Retroceso:** desde la LM hasta alcanzar el diámetro de la última fresa Gates Glidden utilizada al realizar el Crown Down (en la mayoría de los casos coincide con la fresa Gates Glidden #1 diámetro #50). Con esto se consigue unir la instrumentación del tercio apical con la preparación de los tercios cervical y medio del canal (Técnica Corono-Apico-Medial). [[Recolección # 4](#)].

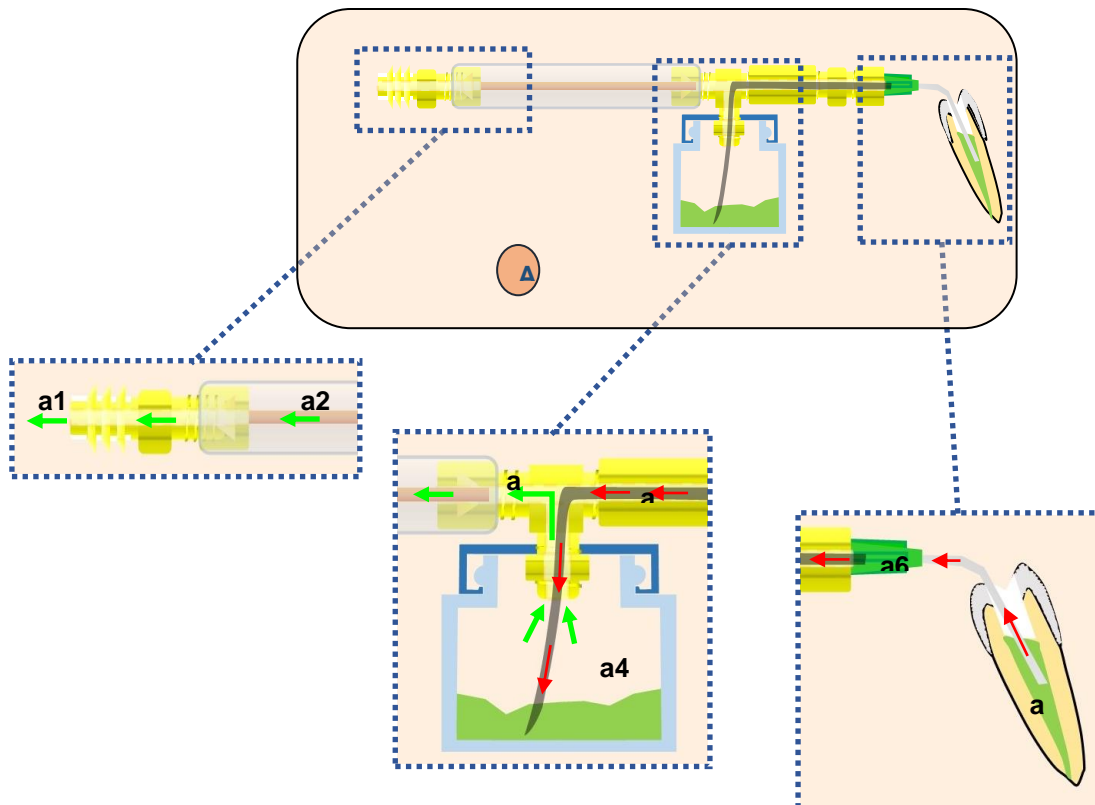
**Etapa 4.5 Activación con Ultrasonido** Se realizará activación del irrigante (NaClO al 5 %) mediante técnica pasiva con ultrasonido, con limas endodónticas de ultrasonido #20. De acuerdo con lo recomendado por la literatura se realizarán 3 ciclos de vibraciones, con una duración de 20 segundos cada uno [[Recolección # 4.5](#)].

**Etapa 5, 6 y 7 Irrigación con suero fisiológico.** Irrigar con 3 jeringas de 3mL cada una. [[Recolección # 5,6,7](#)]

## ANEXO 4

### FUNCIONAMIENTO DEL DISPOSITIVO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS (DR. MAURICIO RUIZ NOLF)

Los materiales de construcción usados fueron elementos roscados de bronce (niples, conos de expansión y "T" tees), cañería de cobre recocido de 3/16" de diámetro, un frasco de vidrio con tapa roscable de 28 ml de capacidad, aproximadamente 10 cm de manguera de poliamida negra de 3 mm de diámetro, y una aguja de grado medico 23G. En la figura A se muestra el esquema del dispositivo. El vacío del eyector en a1 se transmite a través de la cañería a2 y de la tee a3 hasta el interior del contenedor de vidrio a4. El vacío dentro del contenedor a4 se aplica sobre la manguera de poliamida a5 hasta la aguja a6. Finalmente, el vacío se ejerce en la punta de la aguja en a7, lo que permite la succión de los fluidos contenidos dentro de la cavidad pulpar en dirección al frasco contenedor a4.



## **ANEXO 5**

### **PROTOCOLO DE LIMPIEZA DEL DISPOSITIVO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS (DR. MAURICIO RUIZ NOLF).**

- Entre cada recolección, hacer circular agua destilada desde un vaso de vidrio estéril por el sistema interno del dispositivo 1 vez.
- Al terminar todas las recolecciones, hacer circular agua destilada desde un vaso de vidrio estéril por el sistema interno del dispositivo 5 veces.
  - a)** Limpiar de forma externa el dispositivo con agua destilada.
  - b)** Secar con aire el dispositivo mediante la jeringa triple, tanto por fuera como en el interior. Además, secar con especial cuidado la zona de la tapa del dispositivo, con papel absorbente.
  - c)** Una vez en el laboratorio, meter el dispositivo de recolección de muestra en la estufa a 37°C para evaporar los residuos de soluciones y obtener el secado final.
  - d)** Dejar el dispositivo una vez seco dentro de la caja correspondiente.



## ANEXO 6

**Tabla 4. Valores obtenidos de las concentraciones de NaClO durante las etapas del protocolo endodóntico, del grupo control (Protocolo A) y del grupo experimental (Protocolo B).**

	E1	E2	E3	E4	E 4.5	E5	E6	E7
<b>Protocolo A</b>	0,04055	0,04577	0,04180	0,04888	0,04888	0,02781	0,01637	0,01010
	0,04888	0,04806	0,04325	0,04665	0,04665	0,01765	0,01714	0,00576
	0,04338	0,04838	0,04964	0,04174	0,04174	0,00463	0,00184	0,00636
	0,04278	0,04759	0,04445	0,04357	0,04357	0,03008	0,00582	0,00028
	0,04435	0,04083	0,04787	0,04976	0,04976	0,00610	0,00131	0,00034
	0,04630	0,04445	0,03759	0,04309	0,04309	0,00037	0,00003	0,00000
	0,04495	0,04712	0,04058	0,04725	0,04725	0,02282	0,00048	0,00065
	0,04108	0,04680	0,04533	0,04809	0,04809	0,00883	0,00062	0,00057
	0,05061	0,04668	0,04297	0,05048	0,05048	0,01373	0,00011	0,00006
	0,04791	0,04778	0,05045	0,05064	0,05064	0,00111	0,00009	0,00009
<b>Protocolo B</b>	0,04083	0,04778	0,04907	0,04759	0,05941	0,03723	0,00258	0,00000
	0,04596	0,04407	0,04627	0,04548	0,04570	0,00031	0,00034	0,00006
	0,04586	0,04602	0,04677	0,04734	0,04695	0,00011	0,00014	0,00006
	0,04671	0,04740	0,04706	0,04690	0,02658	0,00579	0,00031	0,00167
	0,04391	0,04309	0,04866	0,04863	0,05739	0,02483	0,00477	0,00037
	0,04369	0,04806	0,04957	0,04784	0,07664	0,03215	0,00026	0,00003
	0,04596	0,04643	0,04913	0,04589	0,03551	0,04977	0,00011	0,00009
	0,04687	0,04841	0,04948	0,04875	0,00045	0,02772	0,00003	0,00014
	0,04589	0,04825	0,04910	0,05020	0,16294	0,03141	0,00006	0,00003
	0,04772	0,04825	0,05020	0,04803	0,01078	0,04830	0,00139	0,00011
	0,04797	0,05055	0,04960	0,05121	0,10759	0,04855	0,00009	0,00000
	0,04699	0,04913	0,04995	0,05080	0,12492	0,04708	0,00026	0,00009
	0,04570	0,04508	0,04665	0,04479	0,12558	0,02375	0,00011	0,00003
	0,04385	0,04835	0,05048	0,04769	0,05626	0,03280	0,00020	0,00006
	0,04492	0,04841	0,04875	0,04794	0,03714	0,04994	0,00031	0,00048
	0,04797	0,04702	0,04765	0,04989	0,02947	0,04535	0,00236	0,00051
	0,04721	0,04882	0,04885	0,05001	0,01978	0,01745	0,00048	0,00051
	0,04611	0,04671	0,04866	0,04794	0,00984	0,02080	0,00048	0,00006
	0,04306	0,04413	0,03926	0,04769	0,03815	0,02259	0,00000	0,00006
	0,04589	0,05089	0,04702	0,04684	0,04482	0,02917	0,00153	0,00031