



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS  
ÁREA QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGIA CONSERVADORA  
ÁREA ENDODONCIA  
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS  
ÁREA DE PRÓTESIS FIJA**

**EFFECTO DEL ALCOHOL ABSOLUTO EN LA FORMACIÓN DE  
PARACLOROANILINA EN EL TRATAMIENTO ENDODÓNTICO. ESTUDIO *EX  
VIVO***

**Camila Amaru Farías Salinas**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Ismael Yévenes López**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Dra. Alejandra Fuenzalida Muñoz**

**Dr. Mauricio Ruiz Nolf**

**Adscrito a Proyecto Fiouch 13-015**

**Santiago - Chile**

**2017**





**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS  
ÁREA QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGIA CONSERVADORA  
ÁREA ENDODONCIA  
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS  
ÁREA DE PRÓTESIS FIJA**

**EFFECTO DEL ALCOHOL ABSOLUTO EN LA FORMACIÓN DE  
PARACLOROANILINA EN EL TRATAMIENTO ENDODÓNTICO. ESTUDIO *EX  
VIVO***

**Camila Amaru Farías Salinas**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Ismael Yévenes López**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Dra. Alejandra Fuenzalida Muñoz**

**Dr. Mauricio Ruiz Nolf**

**Adscrito a Proyecto Fiouch 13-015**

**Santiago - Chile**

**2017**

***“A mis padres, Pamela y Marco, por entregarme el legado más duradero, el arma más poderosa, mi Educación”***

## **AGRADECIMIENTOS**

*Llega el fin de una etapa de mi vida y no puedo cerrarla sin agradecer a las personas que me acompañaron en este proceso:*

*A mis padres, Pamela y Marco, por todo su amor, cariño y apoyo incondicional. Por estar siempre junto a mí, por sus retos, enseñanzas y sus locuras. A mi hermana mayor, Paloma, por aguantarme y cuidarme durante toda mi vida. Juntos somos el mejor equipo, gracias por todas las alegrías que nos entregamos día a día, los amo infinitamente.*

*A mi abuela, Nenita, por ser el pilar de sus hijas y por todo el esfuerzo dedicado a sus nietas y nietos.*

*A mi pololo, Hetiel, por su amor y cariño infinito. Por soportar mis peores pataletas. Gracias por llegar en el momento indicado y por soñar conmigo hasta las ocurrencias más imposibles, que sean cumplidas y soñadas mucho más.*

*A mis amigas y amigos, por el apoyo durante todos estos años, por todos los sufrimientos en que nos acompañamos y por todos los carretes que disfrutamos, por ser la familia universitaria más diversa y complicada. Gracias por crecer y madurar junto a mí.*

*A Diego, por trabajar codo a codo conmigo en este trabajo, por escuchar todas mis preocupaciones de vida, brindarme todo su apoyo y confianza.*

*A mis tutores, Prof. Ismael Yévenes, Dra. Alejandra Fuenzalida y Dr. Mauricio Ruiz por su guía y ayuda durante la realización de este trabajo y por su constante preocupación y consejos de vida. Agradecer también al Dr. Mauricio Ruiz por toda la paciencia y las enseñanzas durante gran parte de mi formación académica.*

*A los funcionarios de la facultad que siempre tuvieron una palabra reconfortante en los momentos difíciles.*

# ÍNDICE

## Contenido

1. RESUMEN .....	1
2. INTRODUCCIÓN .....	2
3. MARCO TEÓRICO .....	6
3.1. Soluciones Irrigantes.....	6
3.1.1. Hipoclorito de Sodio (NaClO) .....	6
3.1.2. Ácido etildiaminotetraacético (EDTA).....	9
3.2. Medicación Intracanal .....	10
3.2.1. Clorhexidina (CHX) .....	11
3.2.2. Hidróxido de Calcio (Ca(OH) <sub>2</sub> ) .....	13
3.3. Interacción entre irrigantes .....	14
3.3.1. Interacción entre NaClO y CHX .....	15
3.4. Irrigantes alternativos (irrigantes intermedios) .....	17
3.4.1. Alcohol .....	19
4. HIPÓTESIS .....	21
5. OBJETIVO GENERAL .....	21
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
7. MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
7.1. Tipo de estudio .....	22
7.2. Materiales .....	22
7.3. Selección de la muestra .....	24
7.4. Obtención y almacenamiento de muestras .....	26
7.5. Tratamiento endodóntico y obtención de las muestras de las fases de tratamiento .....	26
7.6. Procedimientos de Laboratorio .....	30
7.6.1. Determinación de NaClO .....	31
7.6.2. Determinación de PCA .....	32
7.7. Análisis estadístico .....	34
8. RESULTADOS .....	36
8.1. Concentración de NaClO .....	36

8.2. Concentración de PCA .....	38
9. DISCUSIÓN .....	42
10. CONCLUSIONES .....	49
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	50
12. ANEXOS	
Anexo 1: Protocolo de irrigación .....	60
Anexo 2: Formulario de consentimiento informado .....	63
Anexo 3: Dispositivo para toma de muestras .....	65
Anexo 4: Método para determinación de la concentración del hipoclorito de sodio y de PCA .....	66

## LISTA DE ABREVIACIONES:

<b>Abreviación</b>	<b>Significado</b>
<b>AC</b> .....	Ácido Cítrico
<b>AF</b> .....	Ácido fosfórico
<b>Ca(OH)<sub>2</sub></b> .....	Hidróxido de Calcio
<b>CHX</b> .....	Clorhexidina
<b>EDTA</b> .....	Ácido Etilendiaminotetraacético
<b>IRR</b> .....	Irrigación
<b>IRRI</b> .....	Irrigación intermedia
<b>NaCl 0,9%</b> .....	Suero Fisiológico
<b>NaClO</b> .....	Hipoclorito de Sodio
<b>PCA</b> .....	Paracloroanilina
<b>PQM</b> .....	Preparación quimiomecánica
<b>SCR</b> .....	Sistema de Canales Radiculares

## 1. RESUMEN:

**Introducción:** La irrigación endodóntica óptima se basa en la combinación de sustancias utilizadas en una secuencia específica. Frecuentemente se combina hipoclorito de sodio (NaClO) con clorhexidina (CHX), usada como irrigante o medicación para optimizar la desinfección intracanal. Sin embargo, su interacción forma paracloroanilina (PCA), un precipitado que oblitera los túbulos dentinarios, afectando la efectividad de la medicación y obturación endodóntica. Aunque existe poca evidencia de su uso, el alcohol al 100° como irrigante intermedio entre NaClO y CHX ha demostrado disminuir la formación de PCA. El objetivo de este estudio es determinar *ex vivo* si el alcohol al 100°, usado como irrigante intermedio entre NaClO 5 % y CHX 2%, evita la formación de PCA en el canal radicular.

**Materiales y Método:** Se utilizó el protocolo de irrigación y medicación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile en 30 dientes extraídos, 20 experimentales y 10 controles. En el grupo experimental se usó alcohol a 100° como irrigante intermedio, y suero fisiológico en el grupo control. Durante las distintas etapas del tratamiento endodóntico se recolectaron 13 volúmenes, y se determinaron las concentraciones de NaClO y PCA por espectrofotometría las concentraciones de NaClO y PCA.

**Resultados:** Las concentraciones de NaClO durante la preparación quimiomecánica presentaron valores similares entre el grupo control y experimental. Al momento de la medicación se detectó una concentración de PCA mayor en el grupo control que en el grupo experimental, existiendo una diferencia significativa entre ambos grupos.

**Conclusión:** En ambos grupos la concentración de los irrigantes utilizados disminuye en las distintas fases del tratamiento. Persiste un contenido residual de NaClO que condiciona la formación de PCA. El uso de alcohol al 100% como irrigante intermedio permite disminuir de manera significativa la formación de PCA al momento de la medicación con CHX 2%.

## 2. INTRODUCCIÓN:

Las bacterias son el principal factor etiológico en el desarrollo de patologías pulpares y periapicales (Möller y cols., 2004; Lin y cols., 2006), por lo que el objetivo principal del tratamiento endodóntico es lograr la desinfección del sistema de canales radiculares (SCR) y prevenir la reinfección (Bystrom y Sundqvist, 1981).

Debido a la compleja naturaleza e irregularidad de la anatomía del SCR, la preparación mecánica no es suficiente para remover residuos orgánicos y bacterias (Peters, 2004). Esto hace que el uso de agentes químicos en conjunto con la preparación mecánica sea esencial durante y después de la instrumentación para obtener un canal libre de tejido pulpar vital o necrótico, reducir al máximo la carga bacteriana y eliminar detritus dentinario creando un ambiente favorable para la obturación y posterior reparación de los tejidos periapicales y por consiguiente, el éxito clínico (Gatewood, 2007).

La irrigación se define como el lavado y aspiración de todos los restos y sustancias preexistentes o generadas durante la preparación quimio-mecánica (PQM) (Marchesan y cols., 2007). Debe cumplir con una serie de objetivos que se describen a continuación (Tabla N°1) (Basrani y Haapasalo, 2012):

<b>Tabla N°1: Objetivos de la irrigación endodóntica (Basrani y Haapasalo, 2012)</b>	
<b>Biológicos</b>	<b>Químicos y Mecánicos</b>
Disminuir microorganismos en estado libre y en biofilm.	Diluir y eliminar detritus
	Lubricar el canal radicular
Inactivar endotoxinas.	Desinfección del SCR
No causar daños a los tejidos periapicales o reacciones alérgicas en el individuo.	Diluir tejido orgánico e inorgánico
	Prevenir la formación de barro dentinario, o disolverlo si se ha formado.

De acuerdo a estos objetivos, las características ideales de un irrigante endodóntico serían (Tabla N°2): (Basrani y Haapasalo, 2012; Haapasalo y cols., 2010).

<b>Tabla N°2: Características ideales de un irrigante endodóntico (Basrani y Haapasalo, 2012; Haapasalo y cols., 2010)</b>
Poseer efecto germicida y fungicida.
No irritar tejidos periapicales ni interferir en su reparación.
Ser estable en solución.
Tener prolongado efecto antimicrobiano y sostenido efecto antibacteriano después de su uso.
Ser activo en presencia de sangre, suero y proteínas derivadas de los tejidos.
Ser capaz de eliminar por completo el barro dentinario.
Tener baja tensión superficial.
Ser capaz de desinfectar los túbulos dentinarios.
No teñir la estructura dentaria.
Ser inactivo en un medio de cultivo.
No inducir una respuesta inmune mediada por células. No ser antigénico, tóxico ni carcinogénico para los tejidos que rodean al diente.
No presentar efectos adversos en las propiedades físicas de la dentina.
No tener efecto adverso en la capacidad de sellado de los materiales de relleno.
Ser de fácil uso y bajo costo.

No existe un irrigante que cumpla con todos los requisitos y además las soluciones irrigantes poseen algunos efectos potencialmente dañinos que dependen del tipo de sustancia, concentración y tiempo de exposición (Haapasalo

y cols., 2012). Es por esto que la irrigación óptima se basa en la combinación de dos o más irrigantes usados en una secuencia específica (Haapasalo y cols., 2010).

Cuando se combinan irrigantes, es posible que el primer irrigante utilizado no sea eliminado completamente del SCR, por lo que al utilizar el segundo irrigante, éstos reaccionen entre sí pudiendo formar subproductos (Basrani y cols, 2007). Lo mismo puede suceder previo a la medicación intracanal al utilizar sustancias que pueden interactuar con los irrigantes usados durante el tratamiento endodóntico. Un ejemplo de esta situación se produce al combinar Hipoclorito de sodio (NaClO) con Clorhexidina (CHX), ambas sustancias ampliamente usadas en endodoncia. Al combinarse, producen un subproducto llamado paracloroanilina (PCA), precipitado que ocluye los túbulos dentinarios, alterando el sellado tridimensional de la obturación radicular e incluso puede ser tóxico para los tejidos periapicales (Gasic y cols., 2012). Para prevenir la formación de este subproducto–se han propuesto irrigantes intermedios utilizados entre el NaClO y la CHX cuando ésta se utiliza como irrigación final o medicación intracanal (Gasic y cols., 2012).

El protocolo de irrigación de la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile emplea suero fisiológico como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX 2% utilizada como medicación intracanal. Sin embargo, un estudio *ex vivo* que evaluó el contenido residual de PCA bajo este protocolo, determinó la presencia de PCA en las últimas fases del tratamiento endodóntico al utilizar la CHX como medicación intracanal (Alegre y cols., 2017). Otro estudio *ex vivo*, evaluó el efecto del alcohol al 70% como irrigante intermedio en la formación de PCA, concluyendo que la formación de PCA disminuye de manera significativa al momento de la medicación intracanal, en comparación con el suero fisiológico usado como irrigante intermedio (Reyes, 2015).

Por lo tanto, el propósito de este estudio fue determinar *ex vivo* el efecto del alcohol al 100% en la formación de PCA, al ser utilizado como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y la medicación intracanal con CHX al 2%.

### 3. MARCO TEÓRICO

El uso de agentes químicos en conjunto con la preparación mecánica es esencial durante y después de la instrumentación para obtener un canal libre de tejido pulpar, bacterias, subproductos y detritus dentinario; de esta manera se crea un ambiente favorable para una correcta obturación y por consiguiente se logra el éxito clínico (Gatewood, 2007). Sin embargo, posterior a la PQM algunos microorganismos pueden sobrevivir, por lo que es necesaria la medicación intracanal para reducir el número de bacterias remanentes mejorando el pronóstico del tratamiento endodóntico (Saatchi y cols., 2014).

De esta forma, los medios químicos para el control de la infección en el SCR, son las soluciones irrigantes utilizadas durante la PQM y la medicación intracanal utilizada posterior a la PQM, antes de la obturación del canal radicular (OCR) (Haapasalo y cols., 2010).

#### 3.1 Soluciones irrigantes

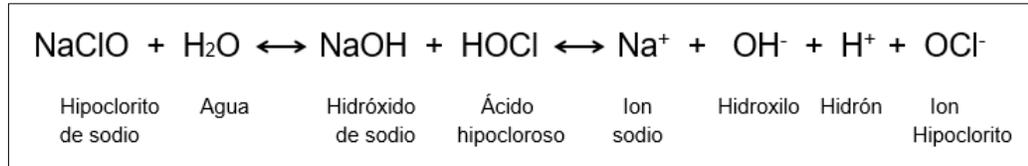
Se han utilizado diferentes sustancias como irrigantes en la terapia endodóntica, tales como el Hipoclorito de Sodio (NaClO), Clorhexidina (CHX), Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA), Ácido Cítrico (AC) y soluciones de Ácido Fosfórico (AF). A continuación se revisarán las características de los irrigantes más utilizados en la actualidad.

##### 13.T.1 Hipoclorito de Sodio (NaClO)

Es el irrigante más usado por su eficacia contra los organismos patógenos, y por su capacidad de degradar tejido necrótico y pus (Basrani y Haapasalo, 2012).

Cuando el NaClO entra en contacto con tejidos proteicos forma nitrógeno, formaldehído y acetaldehído. El hidrógeno del grupo amino es reemplazado por cloro formando Ibcans a, la que juega un rol importante en el efecto

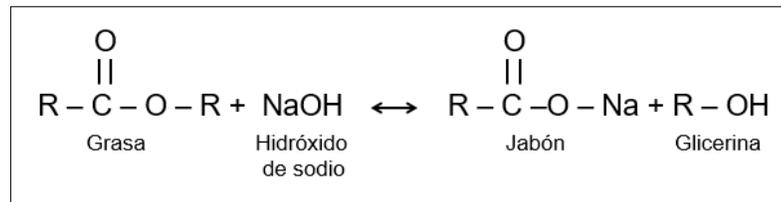
antimicrobiano (Haapasalo y cols., 2010). El balance dinámico del hipoclorito de sodio se exhibe en la siguiente figura (Figura N°1) (Pécora y cols., 1999):



**Figura N°1:** Balance dinámico del hipoclorito de sodio (Pécora y cols., 1999)

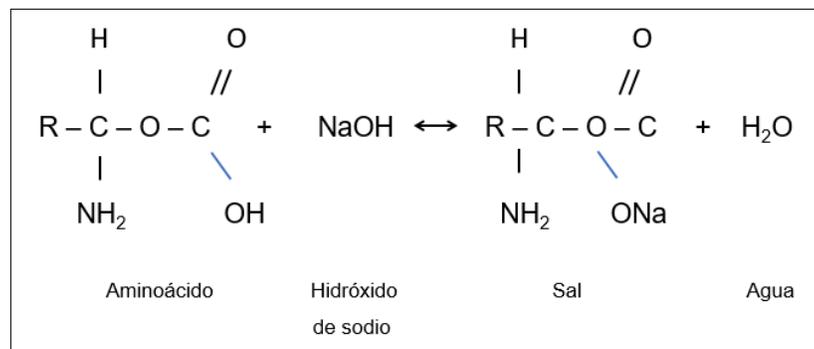
El NaClO tiene tres mecanismos de acción relevantes para su uso endodóntico (Estrela y cols., 2002):

1. Saponificación: Degrada grasas en sales de ácidos grasos (jabón) y glicerol (alcohol), actuando como solvente orgánico (Figura N°2)



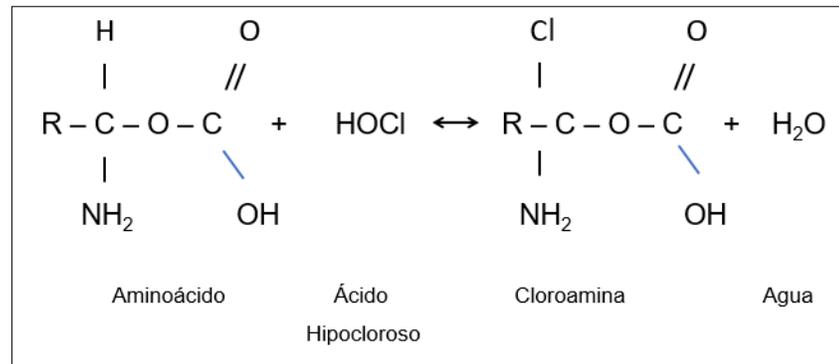
**Figura N°2:** Reacción de Saponificación (Estrela y cols., 2002)

2. Neutralización: Neutraliza aminoácidos formando sales y agua (Figura N°3)



**Figura N°3:** Reacción de Neutralización (Estrela y cols., 2002)

3. Cloroaminación: Se produce por la interacción del cloro y el grupo amino, formando cloroaminas, moléculas que interfieren en el metabolismo celular bacteriano. El cloro posee acción antimicrobiana inhibiendo la producción de enzimas esenciales por medio de la oxidación (Figura N°4)



**Figura 4:** Reacción de Cloroaminación (Estrela y cols., 2002)

El NaClO es un agente de amplio espectro antimicrobiano y se utiliza en concentraciones que van del 0,5% al 6%. No existe consenso de cuál es la concentración óptima a utilizar (Cruz y cols., 2009) ya que a altas concentraciones es tóxico y puede causar inflamación del tejido periapical (Becking, 1991), y a baja concentración es inefectivo contra los microorganismos (Oncag y cols., 2003). Algunos estudios *in vitro* concluyen que en alta concentración el NaClO es más efectivo contra ***Enterococcus faecalis (E. faecalis)*** y ***Candida Albicans (C. albicans)***, principales bacterias observadas en infecciones persistentes y tiene mayor habilidad para disolver tejidos en comparación a su uso en baja concentración (Berber y cols., 2008).

Los niveles de citotoxicidad contra bacterias van desde una concentración de 0,5% que requiere de al menos 30 minutos de acción para inhibir el crecimiento de microorganismos facultativos *in vitro*, en cambio, una concentración al 5,25% es capaz de eliminar microorganismos *in vitro* en unos pocos segundos (Gomes y cols., 2001; Vianna y cols, 2004).

El NaClO es el único irrigante en endodoncia que disuelve el tejido orgánico, incluyendo remanentes pulpares vitales, necróticos y el componente orgánico del barro dentinario que se genera durante la instrumentación mecánica del canal radicular (Niu y cols., 2002). El barro dentinario es un sustrato de estructura no homogénea que se adhiere a las paredes del canal radicular y está compuesto de materia orgánica e inorgánica, incluyendo proteínas coaguladas, tejido pulpar, células sanguíneas, bacterias y hongos (Violich y Chandler, 2010). El barro dentinario puede ser un factor que favorece la persistencia de la infección-debido a los sustratos orgánicos e inorgánicos en su composición y también puede comprometer el correcto sellado y la adhesividad de los cementos endodónticos (Kuçi y cols., 2014). Es por eso que se recomienda su remoción antes de la obturación o medicación del canal radicular.

Entre las desventajas del uso de este irrigante, se mencionan el mal sabor, la irritación que puede causar en tejidos periapicales, su toxicidad y su inhabilidad de remover la parte inorgánica del barro dentinario, por lo que debe ser asociado a otros irrigantes como EDTA o AC para la eliminación total de éste (Haapasalo y cols., 2012).

### **3.1.2 Ácido etildiaminotetraacético (EDTA)**

El EDTA es un ácido poliprótico, cuyas sales de sodio son agentes orgánicos no coloidales que pueden formar quelantes no iónicos con iones metálicos, por ejemplo iones de calcio presentes en el barro dentinario y en la estructura dentaria (Qian y cols., 2011).

El EDTA no puede eliminar el barro dentinario completamente por lo que debe ser utilizado posterior a un agente proteolítico (NaClO) para remover la parte inorgánica de éste, lo que permite incrementar la penetración de medicación intracanal y cementos selladores a los túbulos dentinarios. Este agente reduce

además la microdureza de la dentina facilitando el acceso y la acción de los instrumentos endodónticos en canales atrésicos (Cruz-Filho y Sousa-Neto, 2011).

Se describe también un pequeño efecto antibacteriano y antifúngico del EDTA ya que extrae proteínas de la superficie de las membranas de los microorganismos mediante la combinación de iones metálicos, pudiendo conducir a la muerte celular (Basrani y Haapasalo, 2012).

Este irrigante se usa en concentraciones que van desde el 10 al 17% aplicado durante 30 segundos a 2 minutos. El proceso de desmineralización es auto limitante porque el quelante se va agotando. Sin embargo, se ha recomendado su uso durante 1 minuto para no provocar el debilitamiento de la estructura dentaria (Calt y Serper, 2002). En cuanto a volumen de irrigación, se ha demostrado que la calidad de la remoción del barro dentinario no depende del volumen de irrigante utilizado y se ha visto que la efectividad del EDTA al 17% utilizando 1 mL y 10 mL durante un minuto en contacto con las paredes del canal radicular es la misma (Crumpton y cols., 2005).

### 13.T **Medicación intracanal**

Consiste en la colocación de un fármaco al interior del canal entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento (Soares y cols., 2014).

Algunas ventajas de la medicación en el tratamiento de canales radiculares infectados son (Chong y Pitt, 1992):

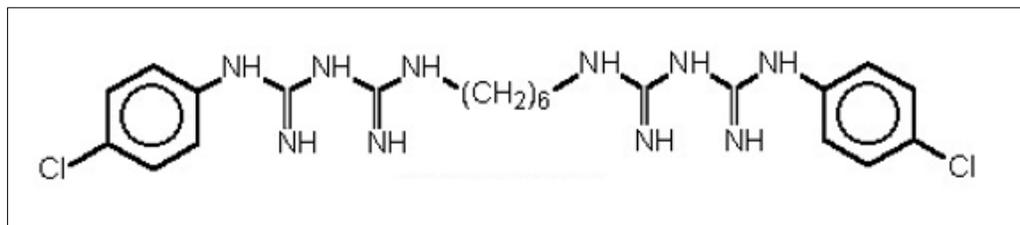
1. Eliminar bacterias que persistan en los canales luego de su preparación.
2. Neutralizar residuos tóxicos y antigénicos remanentes.
3. Reducir la inflamación de tejidos periapicales.
4. Disminuir exudados persistentes en la zona apical.
5. Actuar como barrera contra la filtración de la obturación temporal.

Numerosos estudios cuestionan el uso de la medicación intracanal ya que es secundaria a la instrumentación e irrigación durante el tratamiento. Su uso está indicado en el tratamiento de dientes infectados y para mantener la asepsia entre sesiones (Canalda y Brau, 2014). Cuando el diente no responde al tratamiento, se recomienda un estudio bacteriológico para la elección del medicamento intracanal (Chong y Pitt, 1992).

Se ha usado una gran diversidad de antisépticos y sustancias con acción antimicrobiana en el interior de los canales radiculares incluyendo compuestos fenólicos, aldehídos, compuestos halogenados, antibióticos, clorhexidina e hidróxido de calcio (Canalda y Brau, 2014). Hoy en día, la biocompatibilidad y la estabilidad son propiedades esenciales para los medicamentos intracanal.

### 3.2.1 Clorhexidina (CHX)

La CHX es una bisguanidina catiónica sintética que posee dos anillos simétricos de 4 – clorofenil y dos grupos bisguanidinos conectados por una cadena hexametilena central como se muestra en la Figura N°5 (Greenstein y cols. 1986). Es una molécula positiva, hidrofóbica y lipofílica que interactúa con los lipopolisacáridos y fosfolípidos de la pared celular de las bacterias (Athanasiadis y cols., 2007).



**Figura N°5:** Estructura química de la CHX (Greenstein y cols. 1986).

Su efecto antimicrobiano está dado por la interacción de su carga positiva con las cargas negativas de los fosfatos presentes de la pared celular microbiana. Esta interacción provoca alteración en el equilibrio osmótico de las bacterias ya que aumenta la permeabilidad de la pared celular permitiendo la entrada de la molécula de CHX al interior de la célula (Gomes y cols., 2003 a, b).

Es un antimicrobiano de amplio espectro e incluye bacterias gram positivas y bacterias gram negativas, además es efectiva contra **C. *Ibicans*** (Basrani y Haapasalo, 2012).

Sus concentraciones de uso oscilan entre 0,1% a 2%, y es usada en periodoncia, para la prevención de caries y también como irrigante y medicación endodóntica (Mohammadi y Abbot, 2009 – Vianna y cols., 2004). A baja concentración (desde 0,2%), sustancias moleculares de bajo peso, específicamente fósforo y potasio salen de la célula, teniendo efecto bacteriostático. Por otro lado, a altas concentraciones (desde 2%) juega un rol bactericida ya que provoca la precipitación del contenido citoplasmático (Gomes y cols., 2003).

La concentración de uso endodóntico es al 2%, teniendo una propiedad bactericida igual de efectiva que el NaClO al 5,25% (Ercan y cols, 2004). Esta concentración puede ser usada como solución irrigante o como medicación intracanal (Basrani y Haapasalo, 2012) y podrá presentarse como CHX gel o en solución, siendo más efectiva la CHX en solución ya que ejerce su acción antimicrobiana de inmediato, a diferencia de la CHX en gel que requiere más tiempo para mezclarse y actuar contra los microorganismos (Gomes y cols., 2001).

Su propiedad más llamativa es la sustentividad, que consiste en la persistencia de su efecto luego de su aplicación (Rosenthal y cols., 2004). Esto se debe a que la CHX es una molécula catiónica y se une a la estructura del diente luego de ser aplicada previniendo la colonización bacteriana (Athanasiadis y cols, 2007). Se ha descrito que la duración de este efecto puede ser hasta por 12 semanas (Rosenthal y cols., 2004; Souza y cols., 2012). La sustentividad depende

del número de moléculas disponibles para interactuar con la dentina, es por esto que se recomienda utilizar altas concentraciones de esta solución y así aumentar la resistencia contra la colonización de los microorganismos (Mohammadi y cols., 2008).

La gran desventaja de esta solución es que no posee la capacidad de disolver tejido orgánico a diferencia del NaClO, por lo tanto no puede reemplazarlo pero es un complemento útil como irrigante y medicación dada su sustentividad y amplio espectro antimicrobiano (Haapasalo y cols., 2010).

### **3.2.2 Hidróxido de Calcio (Ca(OH)<sub>2</sub>)**

El Ca(OH)<sub>2</sub> se usa principalmente por sus propiedades antisépticas, es estable durante largos periodos de tiempo, inofensivo para el cuerpo y bactericida en un área limitada, además tiene la capacidad de favorecer la aposición de tejidos calcificados y de detener exudados inflamatorios (Kawasima y cols., 2009).

Los mecanismos de acción de esta sustancia todavía están en estudio. En cuanto a su papel contra el biofilm endodóntico, los estudios demostraron que el hidróxido de calcio no es tan eficaz como otras sustancias utilizadas como medicamentos intracanal (Zancan y cols., 2016). La CHX al 2% que también se ha empleado como medicación intracanal, es más efectiva contra ***E. faecalis*** y ***C.***

***ibicans*** que el Ca(OH)<sub>2</sub> (Mohammadi y Abbott, 2009). El Ca(OH)<sub>2</sub> demuestra una eficacia muy baja contra ambos microorganismos y en estos casos no se recomienda su uso como una sustancia antimicrobiana en sí misma, sino más bien por sus otras propiedades biológicas y químicas (Tonea y cols., 2017). Se describe además que la mezcla de Ca(OH)<sub>2</sub> y CHX no mejora la propiedad antibacteriana frente a estas cepas (Saatchi y cols., 2014).

### 13.T Interacción entre irrigantes

Ningún irrigante puede eliminar completamente el tejido orgánico e inorgánico y al mismo tiempo impartir sustentividad antibacteriana durante la terapia del canal radicular (Bystrom y Sundqvist, 1981; Peters, 2004). Es por esto que el éxito terapéutico depende de la combinación de dos o más sustancias irrigantes en una secuencia específica para lograr una desinfección eficiente del SCR (Haapasalo y cols., 2010).

Al combinar soluciones irrigantes, la solución irrigante que se utiliza primero no se elimina completamente del canal antes de aplicar la próxima solución y como resultado, los irrigantes entran en contacto dentro del canal y pueden formar subproductos (Basrani y cols., 2007). Estos subproductos constituyen una barrera entre el material de sellado y la superficie dentinaria pudiendo comprometer la correcta obturación del canal (Bui y cols., 2008). Además pueden ser tóxicos para los tejidos periapicales (Baumgartner e Ibay, 1987).

Se han sugerido diferentes protocolos de irrigación endodóntica que combinan una o más sustancias dentro del SCR. Zehnder (2006) sugiere un protocolo de irrigación que incluye NaClO para disolver tejido orgánico, EDTA para eliminar el barro dentinario y el uso de CHX para aumentar el espectro antimicrobiano y otorgar sustentividad durante el tratamiento.

Al interaccionar EDTA y NaClO se produce una reacción exotérmica con formación de burbujas formadas principalmente de gas de cloro, el cual es un producto tóxico (Prado y cols., 2013). Esto sugiere que ambas soluciones deben utilizarse de manera separada. Además, esta interacción disminuye la cantidad de cloro mermando la capacidad del NaClO para disolver tejido y su actividad antimicrobiana. Debido a esto se ha sugerido irrigar con NaClO posterior al EDTA para lavar sus remanentes y garantizar el efecto de NaClO (Grawehr y cols., 2003). Sin embargo, se ha demostrado que el uso de NaClO posterior al EDTA produciría

erosión en las paredes del canal (Quian y cols., 2011). Por otro lado, el NaClO no compromete la acción quelante del EDTA (Grawehr y cols., 2003).

La combinación de EDTA con CHX forma un precipitado blanco lechoso producto de la degradación de CHX. Esta interacción se da por una reacción ácido base entre el EDTA y la CHX (Rasimick y cols., 2008).

Cuando la CHX se asocia con una solución salina da como resultado una sal que puede obliterar los túbulos dentinarios, pudiendo interferir en la correcta desinfección y sellado del SCR (Prado y cols., 2013).

### **3.3.1 Interacción entre NaClO y CHX**

El uso de estos irrigantes en una secuencia específica busca mejorar y optimizar la desinfección del canal, sin embargo la posibilidad de interacción entre ellos forma un precipitado anaranjado-marrón cuya composición química no está completamente establecida (Bui y cols., 2008).

La formación de este precipitado se da por una reacción ácido base. La CHX es un ácido di-catiónico que puede donar protones y el NaClO es alcalino y puede recibir protones. Este intercambio de protones da como resultado la formación de una sustancia neutra e insoluble que precipita (Mohammadi y Abbott, 2009). Prado y cols. (2013), determinaron por medio de espectrofotometría, la presencia de varios productos de cloración del NaClO en esta sustancia y que el color naranja-marrón se puede asociar con la oxidación de la CHX. A pesar de que la composición química de este precipitado no está completamente establecida aún, varios autores han demostrado la presencia de un compuesto llamado paracloroanilina, 1-amina-4-cloro-benceno, p-cloronailina o PCA en su contenido (Basrani y cols., 2007; Bui y cols., 2008; Arslan y cols., 2015).

La PCA es una sal insoluble neutra que precipita y oblitera los túbulos dentinarios adhiriéndose firmemente a las paredes del canal, lo que impide su eliminación (Krishnamurthy y Subhakaran, 2010). Esta obliteración compromete la permeabilidad dentinaria interfiriendo con la medicación intracanal y con la obturación del SCR (Krishnamurthy y Subhakaran, 2010).

La formación de PCA dentro del canal radicular está directamente relacionada con la concentración de NaClO, por lo que puede ser disminuida diluyendo NaClO previo a la medicación del canal con CHX (Riquelme y cols., 2015).

También se ha descrito que la CHX por sí sola puede hidrolizarse espontáneamente y formar PCA en presencia de calor, luz y ambiente alcalino (Basrani y cols., 2007). Por sobre 45°C se produce PCA como subproducto de CHX, por lo tanto, no debe combinarse el uso de CHX con ultrasonido. Las condiciones de almacenamiento de la CHX también deben ser consideradas, ya que se ha detectado PCA en soluciones de CHX al 2% almacenadas durante 7 días en condiciones de 95% de humedad relativa y 36,5°C (Barbin y cols., 2013).

La PCA es tóxica al ser inhalada, digerida o en contacto con la piel y también se ha demostrado que tiene potencial carcinogénico (World Health Organization, 2003). La Agencia internacional de Investigación sobre el Cáncer (2015) la ha incluido en la lista de sustancias 2B (agente potencialmente carcinogénico para los humanos) ya que existe amplia evidencia de ser carcinogénica para animales, pero poca evidencia en humanos. En ratas, se observó que la exposición a PCA induce la formación de tumores infrecuentes, como fibrosarcomas y osteosarcomas, en cambio en humanos se han reportado algunas intoxicaciones durante el proceso de producción ya que la PCA es fabricada exclusivamente por el hombre en la industria del agro (químicos), textiles (fabricación de pigmentos y colorantes), cosméticos y productos farmacéuticos (World Health Organization, 2003).

Los efectos tóxicos de la PCA están en relación a la formación de enlaces covalentes con la hemoglobina y proteínas del hígado y riñones, lo que genera un

problema de transporte de oxígeno en la sangre por lo que podría llegar a generar anoxia.

Estudios toxicológicos en animales han demostrado que la exposición repetida a PCA produce en primera instancia cianosis y metahemoglobinemia y luego comienza a afectar al hígado, bazo y riñón. Al afectar estos órganos se manifiestan cambios en los parámetros hematológicos, esplenomegalia y hemosiderosis en el bazo, hígado y riñón, parcialmente acompañada de hematopoyesis extramedular. Estos efectos son producidos por una hemólisis excesiva inducida por el compuesto y son coherentes a una anemia hemolítica (World Health Organization, 2006). Considerando sólo los efectos no neoplásicos el nivel máximo tolerable de exposición humana a PCA es de 2 µg/kg de peso/día.

Hasta el momento no hay estudios que muestren los efectos que puede tener la PCA que se forma en el tratamiento endodóntico ni tampoco se ha podido determinar la cantidad de precipitado que se forma durante la irrigación y medicación intracanal.

Como ya se describió anteriormente, las interacciones directas entre los irrigantes o medicamentos usados en endodoncia generan precipitados que pueden comprometer el resultado del tratamiento endodóntico por lo que se ha propuesto el uso de soluciones para lavar o diluir un irrigante antes de aplicar el próximo. Estas sustancias son llamadas irrigantes intermedios o alternativos (Basrani y cols., 2007).

### **3.4 Irrigantes alternativos (irrigantes intermedios)**

Los irrigantes intermedios pueden usarse entre los irrigantes principales o previo a la medicación intracanal (NaClO, EDTA y CHX) para lavar el canal y diluir o remover el irrigante residual antes de utilizar una sustancia diferente para evitar o disminuir las interacciones entre ellos (Rahimi y cols., 2014). Para este propósito se ha descrito el uso de agua estéril, suero fisiológico (NaCl 0,9%), peróxido de

hidrógeno, peróxido de urea y compuestos yodados. Todos ellos, exceptuando los compuestos yodados, carecen de acción antibacteriana ni tienen la capacidad de disolver tejido (Haapasalo y cols., 2010).

Riquelme y cols. (2015) en un estudio *ex vivo*, evaluaron la efectividad del suero fisiológico versus el agua destilada al ser utilizados como irrigantes intermedios entre NaClO al 5% y CHX al 2%. Determinaron que los niveles de PCA son menores al utilizar suero que al utilizar agua destilada, sin embargo, esto se da porque se produce una interacción entre la CHX y el suero, disminuyendo la cantidad de CHX que interacciona con NaClO para formar PCA.

Mortenson y cols. (2012) compararon suero fisiológico, AC y EDTA como irrigantes intermedios, ninguna de estas soluciones fueron capaces de impedir la formación de PCA, aunque el AC obtuvo la menor formación del compuesto. Esto se explica porque el AC descompone el NaClO produciendo la liberación de gas cloro (tóxico para el organismo). Sin embargo, la diferencia en cantidad de PCA encontrada entre el AC y el control negativo no fue estadísticamente significativa.

Krishnamurty y Sudhakaran (2010), en un estudio *ex vivo*, examinaron bajo estereomicroscopia la formación de PCA luego de utilizar 5 mL de distintos irrigantes intermedios entre NaClO al 2,5% y CHX al 2%. Observaron la formación inmediata del precipitado al utilizar agua destilada y suero fisiológico. En los canales irrigados con alcohol absoluto (100°), no hubo presencia de precipitado.

Otro estudio evaluó la efectividad del alcohol al 70° usado como irrigante intermedio entre NaClO 5% y CHX 2%, demostrando que este irrigante, en comparación con el suero fisiológico, disminuye de manera significativa la formación de PCA al momento de la medicación intracanal con CHX 2% (Reyes, 2015).

### **3.4.1 Alcohol**

El alcohol es un compuesto orgánico que contiene el grupo funcional hidroxilo (OH) unido a un radical alifático o a alguno de sus derivados (Chang, 2011).

Los alcoholes son desinfectantes de nivel intermedio ya que no tienen acción sobre esporas ni micobacterias, pero son capaces de destruir algunos virus no capsulados, bacterias gram positivas y negativas, hongos y virus lipídicos capsulados (Keen, 2010). Su acción bactericida se explica ya que destruyen la membrana celular y desnaturalizan proteínas. Actúan rápidamente, desde los 15 segundos de aplicación y provocan daño microbiano que permanece por varias horas (Sanchez L, 2005).

El alcohol etílico o etanol se usa en concentraciones que van del 60 al 96% y el alcohol isopropílico en concentraciones entre 70 y 90%. Sus aplicaciones son idénticas pero el etanol es menos irritante y más potente contra virus a diferencia del alcohol isopropílico que es más irritante y se considera más eficaz contra bacterias (Sanchez L, 2005).

En endodoncia se ha utilizado durante el tratamiento para la desinfección y limpieza de la goma dique al realizar la aislación absoluta del diente. Además se usa en recipientes en el área clínica directa para depositar el instrumental rotatorio usado para la realización de la cavidad de acceso. Esto para mantener la asepsia de los instrumentos que han tenido contacto con tejido orgánico contaminado, lo que disminuye el riesgo de contaminación cruzada. Finalmente, también se usa para la desinfección de superficies en las áreas de trabajo clínico directo con el paciente antes y después de la atención.

El alcohol es un agente volátil, tensioactivo, altamente electronegativo y puede penetrar profundamente los túbulos dentinarios, propiedades que ayudarían a remover el NaClO residual presente dentro del canal radicular y al secado de los canales previo a la obturación (Krishnamurthy y Subhakaran, 2010).

También provoca la deshidratación de la dentina mediante la sustitución de agua unida al colágeno. Esta deshidratación provoca la contracción del tejido y se ha reportado que aumenta los módulos de tracción y la fuerza de la dentina (Pashley y cols., 2001, 2003). Nalla y cols., (2015) reportan que la presencia de etanol

incrementa la resistencia a la fractura y la dureza de la dentina. Estos antecedentes sugieren que la deshidratación provocada por el alcohol puede fortalecer la estructura dentaria. Además, cabe destacar que esta deshidratación es reversible cuando se rehidrata con agua (Nalla, 2006).

Pese a los antecedentes existentes sobre el alcohol, su uso en endodoncia no ha sido establecido. Ha sido propuesto como irrigante intermedio para evitar la formación de PCA al utilizar NaClO y CHX (Krishnamurthy y Subhakaran, 2010; Reyes, 2015), pero se requieren más estudios para comprobar su efectividad y biocompatibilidad con los tejidos periapicales.

El objetivo de este estudio es determinar *ex vivo* el efecto del alcohol absoluto en la formación de paracloroanilina al ser utilizado como irrigante intermedio entre Hipoclorito de Sodio 5% y Clorhexidina 2% durante un protocolo de irrigación y medicación endodóntica.

#### **4. HIPÓTESIS.**

El uso de alcohol absoluto como irrigante intermedio entre hipoclorito de sodio al 5% y digluconato de clorhexidina al 2% disminuye la formación de paracloroanilina.

#### **5. OBJETIVO GENERAL.**

Establecer *ex vivo* el efecto del alcohol absoluto en la formación de paracloroanilina, al ser usado como irrigante intermedio entre NaOCl al 5% y CHX al 2%.

#### **6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Determinar la concentración de NaClO al 5% en las etapas previas a la medicación con CHX al 2% al utilizar suero como irrigante intermedio.
- Determinar la concentración de NaClO al 5% en las etapas previas a la medicación con CHX al 2% al utilizar alcohol absoluto como irrigante intermedio
- Determinar la concentración de PCA formada al utilizar suero como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2%.
- Determinar la concentración de PCA formada al utilizar alcohol absoluto como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2%.
- Comparar la formación de PCA después de utilizar alcohol absoluto y suero fisiológico como irrigantes intermedios.

## 7. MATERIALES Y MÉTODO

### 7.1 Tipo de estudio:

Estudio experimental *ex vivo*. El tamaño muestral (n) fue de 30.

### 7.2 Materiales:

A continuación se detallan los materiales utilizados durante los procedimientos clínicos (Tabla N°3) y de laboratorio (Tabla N°4).

<b>Tabla N°3: Materiales para procedimientos clínicos</b>	
•	<b>Turbina, micromotor y contrángulo convencionales</b>
•	<b>Dispositivo para la toma de muestras (Anexo 3)</b>
•	<b>Piedras de diamante redondas de alta velocidad N°12, N°14.</b> SS White Burs, Inc.1145 Towbin Avenue Lakewood, New Jersey 08701, USA.
•	<b>Fresas carbide redondas de baja velocidad N°12 y N°14</b> SS White Burs, Inc.1145 Towbin Avenue Lakewood, New Jersey 08701, USA.
•	<b>Fresas Endo Z®de baja velocidad</b> Dentsply-Maillefer, Chemin du Verger 3, 1338 Ballaigues, Suisse.
•	<b>Fresas Gates Glidden N° 1-2-3</b> MANI, INC. 743 Nakaakutsu, Takanezawa, Shioya, Tochigi 329-1234, Japan.
•	<b>Jeringas de Irrigación, Monoject ®.</b> Covidienlic, 15 Hampshire, Mansfield, MA 02048 USA.
•	<b>Limas tipo Kerr Subserie, 1era y 2da Serie, Maillefer®, 25 mm</b> Dentsply-Maillefer, Chemin du Verger 3, 1338 Ballaigues, Suisse.
•	<b>Conos de papel estériles</b> RITE-DENT MFG, CORP. 3750 East 10 Court Hialeah, Florida 33013, USA.
•	<b>Hipoclorito de Sodio 5%.</b> NaOCl, Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103 USA.
•	<b>Clorhexidina Digluconato solución tópica 2%.</b> Chlorhexidine Digluconato solution 20% in H2O, Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103 USA.
•	<b>EDTA 10%</b> EDTA, Merck Millipore, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany.
•	<b>Cloruro de Sodio 0,9%</b> J.T.Baker, Mallinckrodt Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, 55320, Edo de Mex. Mexico, Made in USA printed in Mexico.
•	<b>Agua Destilada</b>

Laboratorio de Química, Facultad de Odontología, U. de Chile.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Cemento provisorio Fermín®</b> DETAX GmbH &amp; Co KG, Carl-Zeiss-Str. 476275, Germany.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Vidrio Ionómero de autocurado Chemfil®</b> DENTSPLY DeTrey GmbH 78467, Konstanz, Germany.</li> </ul>

Tabla N°4: Materiales y reactivos para procedimientos de laboratorio
<b>Todas las soluciones y diluciones usadas en la investigación fueron preparadas en el laboratorio de Química de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tubos Eppendorf 1,5MI</b> Biologix Group Limited, No.2766 Ying XiuRoad,High-Tech Industrial Development Zone Jinan, Shandong 250101 P.R. China.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Micropipetas 100 y 1000 Labopette®</b> Hirschmann, Inc. Holloway Road, Suite 104 Bluegrass Industrial Park. Louisville, KY 40299, USA.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Centrífuga Hermle z216 MK.</b> HERMLE Labortechnik GmbH,Siemensstr 25 D-78564, Wehingen, Alemania.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ácido Clorhídrico</b> J.T.Baker, Mallinckrodt Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, 55320, Edo de Mex. Mexico, Made in USA printed in Mexico</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Nitrito de Sodio</b> Merck Millipore, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Alemania.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Sulfamato de Amonio.</b> Sigma-Aldrich ChemieGmbH Munich, Germany</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Naftiletilndiaminadihidrocloruro.</b> Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103 USA.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ethanol</b> Merck Millipore, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Alemania.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Espectrofotómetro UNICAM®UV/VIS</b> ThermoSpectronicUnicam UV-530 UV-Visible, Rochester, NY, USA</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Cubetas de cuarzo 1cc.</b> Scientech, Inc. 5649 ArapahoeAvenue Boulder, CO 80303-1399, USA</li> </ul>

### **7.3 Selección de la muestra:**

En el presente estudio se realizó la comparación de la concentración de PCA después de utilizar suero fisiológico como grupo control y alcohol absoluto en el experimental como irrigantes intermedios entre NaClO al 5% y CHX al 2%. En este contexto, la fórmula matemática que permitió calcular el tamaño muestral  $n$  para la comparación de dos medias (SEQC, 2008) fue la siguiente (Figura N°6):

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

**Figura N°6:** Ecuación de cálculo de tamaño muestral para comparación de dos medias (SEQC, 2008). 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 la aplicación de esta fórmula se utilizó el dato de desviación estándar ( $s$ ) del grupo control en un estudio previo donde se determinó el contenido residual de PCA que se produce al utilizar suero fisiológico como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2% (Tabla N°5) (Alegre, 2015).

Tabla N°5: Concentración de PCA medida en el estudio de Alegre (2015)	
Concentración Mínima	0,00004012%
Concentración Máxima	0,0013235%
Concentración Promedio	0, 0007312%
Desviación Estándar	<b>0,0002230</b>

Basado en este estudio también se estableció el valor mínimo de diferencia que se desea detectar ( $d$ ), este valor corresponde a la diferencia entre la concentración promedio y la concentración mínima de PCA, teniendo un valor de 0,00033 en este caso.

Por lo tanto, si se acepta un riesgo de 0,05 ( $z_{\alpha} = 1,92$ ) y una potencia estadística del 90% ( $z_{\beta} = 1,282$ ), se tiene que (Figura N°7):

$$n = \frac{2(1,960 + 1,282)^2 0,000223^2}{0,00033^2} = 9,59996$$

**Figura N°7:** Cálculo de tamaño muestral (n).

Se corroboró esta medición utilizando el software Calculadora de tamaño muestral GRANMO (IMIM, 2012), adicionando como dato que se desea una razón del  $n$  de 1:2 entre el grupo control y el grupo experimental debido a que en estudios experimentales a medida que las repeticiones aumentan, las estimaciones de las medias observadas se hacen más precisas.

Según el software utilizado, se precisó de un  $n = 10$  para el grupo control y un  $n = 20$  en el grupo experimental para detectar una diferencia igual o superior a 0.00033 (IMIM, 2012), resultado que se condice con el resultado obtenido previamente en la ecuación de cálculo de tamaño muestral (Figura N°7).

#### **7.4 Obtención y almacenamiento de muestras:**

Se montó un modelo *ex vivo* de 30 dientes unirradiculares extraídos por indicación terapéutica. Los criterios de selección fueron dientes permanentes maduros sanos unirradiculares, libres de obturaciones, con calibres de canal medianos o amplios en los tercios cervical y medio y calibre medio en el tercio apical y con una dirección de las raíces y canales recta o con curvatura leve.

La exodoncia de los dientes se realizó en la clínica de Cirugía Maxilofacial de 4to Año de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Se explicó previamente el procedimiento a los pacientes y se pidió su autorización para obtener la muestra mediante la firma de un consentimiento informado; en caso de que el paciente fuera menor de edad, un apoderado firmó la autorización. (Anexo 2).

Posterior a la exodoncia, estos dientes fueron limpiados, debridados y almacenados en NaCl al 0,9%. Se tomaron radiografías de todos los dientes y se seleccionaron aquellos que cumplieran con los criterios anatómicos descritos anteriormente.

#### **7.5 Tratamiento endodóntico y obtención de las muestras de las fases del tratamiento:**

Los dientes estudiados fueron divididos aleatoriamente en dos grupos: un grupo control (N=10) y un grupo experimental (N=20).

A los dientes del grupo control se les realizó un tratamiento endodóntico de acuerdo al protocolo clínico de irrigación y medicación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile detallado en el Anexo 1.

Para la aspiración y recolección de las diferentes soluciones producidas durante las fases del tratamiento se utilizó un dispositivo diseñado *ad-hoc* (Creación del Dr. Mauricio Ruiz Nolf) que se muestra en la Figura N°8 y se describe en el anexo 3.



**Figura N°8:** Dispositivo toma de muestras Dr. Mauricio Ruiz Nolf

Las muestras se recolectaron durante 13 fases del tratamiento detalladas en la Tabla 6:

<b>Tabla N°6: Fases del tratamiento endodóntico y de recolección de muestras.</b>	
<b>Fase</b>	<b>Recolección</b>
<p><b>1.</b> Se realizó la cavidad de acceso endodóntico comenzando el diseño de la cavidad en esmalte con piedra de diamante de alta velocidad bajo refrigeración (0.12, 0.14), de acuerdo al tamaño de la cámara pulpar del diente, hasta llegar a dentina. En dentina se cortó con fresas de carburo-tungsteno redondas de baja velocidad de acuerdo a la anatomía del diente siguiendo el diseño previamente tallado y profundizando hasta realizar la comunicación con la cámara pulpar. Una vez que se</p>	<p><b>Recolección N°1:</b> Obtenida inmediatamente después de comunicar, luego de permeabilizar el canal y al finalizar los</p>

<p>comunicó se irrigó con NaClO al 5% con <i>Jeringa Irrigación Monoject®</i> 3ml. Se amplió el punto de comunicación con la misma fresa y luego se continuó con el destechamiento con fresa Endo Z® o piedra llama de baja velocidad siguiendo la dirección del techo de la cámara pulpar. Una vez finalizado el destechamiento, se realizó el cateterismo con una lima K N° 10 o 15 graduadas a dos tercios de la longitud aparente del diente (LAD) medido en la radiografía tomada previamente. Luego se procedió a hacer desgastes compensatorios que en dientes anteriores corresponden al bisel incisal y desgaste de la convexidad palatina y en premolares, abordan las vertientes internas de las cúspides vestibular y palatina. Estos desgastes fueron efectuados con piedra llama o fresa Endo-Z® de baja velocidad. Durante todo el proceso se irrigó con un total de 3 ml de NaClO al 5%.</p>	<p>desgastes compensatorios.</p>
<p><b>2.</b> Preparación del tercio cervical y medio (Flare) con fresas Gates-Glidden de acuerdo al calibre del canal en los tercios cervical y medio. Las fresas fueron graduadas a los dos tercios de la LAD. La secuencia para canales amplios fue 3-2-1 y para canales medios fue 1-2-1. Se irrigó con un total de 3 ml de NaClO al 5%. Posterior al flare se determinó la longitud de trabajo (LT) introduciendo la lima hasta que se visualizó la punta de ésta por el foramen apical, se dejó al ras con el foramen definiendo la longitud real del diente (LRD) y la LT fue a - 1mm de la LRD.</p>	<p><b>Recolección N°2:</b> Luego de utilizar cada <i>Fresa Gates-Glidden</i>.</p>
<p><b>3.</b> Durante la preparación del tercio apical hasta la Lima Maestra (LM) se irrigó con NaClO al 5 % entre cada paso</p>	<p><b>Recolección N°3:</b> Al finalizar con</p>

de lima. Para canales medios se definió LM #35. Durante este paso se utilizó un total de 3 ml de NaClO al 5%.	cada lima se fue recolectando parte de la muestra
<p><b>4.</b> Durante el Retroceso (Step–Back): desde la LM hasta alcanzar el diámetro de la última fresa Gates Glidden utilizada al realizar el Flare (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-ápico-medial). Se irrigó con NaClO al 5 % entre cada paso de lima, se utilizó un total de 3 ml de NaClO. Luego se secó el canal con conos de papel estériles #35.</p>	<p><b>Recolección N°4:</b> Al finalizar con cada lima se fue recolectando parte de la muestra.</p>
*5, 6, y 7. Irrigación (IRR) con 3 jeringas de suero fisiológico 0,9%, cada una de 3ml. Se secó con conos de papel.	<p><b>Recolección N°5, 6 y 7:</b> Durante la IRR con suero fisiológico.</p>
8. IRR con 1ml de EDTA al 10% durante 1 minuto. Se secó con conos de papel.	<p><b>Recolección N°8:</b> Durante la IRR con EDTA.</p>
*9, 10 y 11. IRR con 3 jeringas de suero fisiológico 0,9%, cada una de 3ml.	<p><b>Recolección N°9, 10 y 11:</b> Durante la IRR con suero fisiológico.</p>
12. IRR con una jeringa de 3 ml de CHX al 2%.	<p><b>Recolección N° 12:</b> Durante la IRR con CHX.</p>
Se obturó la cavidad de acceso del diente con doble sellado (Fermín® y Vidrio Ionómero de autocurado y motita de algodón estéril) y se selló el ápice con cera	

rosada. Luego, el diente fue almacenado en suero fisiológico y estufa a 37° Celsius por una semana (tiempo habitual de medicación intracanal), simulando las condiciones del medio oral.

<p>13. Pasados los 7 días, se volvió a ingresar al canal, retirando el sellado temporal con piedras de alta velocidad, bajo refrigeración con agua dejando una pequeña capa de Fermín® el que fue removido con sonda recta y posteriormente se retiró la mota de algodón también con sonda recta. Se repasó la instrumentación con la LM a LT mientras se irrigaba con una jeringa (3ml) de CHX 2%.</p>	<p><b>Recolección</b> <b>Nº13:</b> Inmediatamente al tener contacto con el canal y luego de repasar con la LM.</p>
---	--

Estos 13 volúmenes se guardaron en frascos de vidrios cerrados para ser llevados al laboratorio y realizar su análisis.

A los dientes del grupo experimental se les aplicó el mismo protocolo clínico de irrigación y medicación descrito anteriormente, pero en ellos, **se sustituyó el suero fisiológico por Alcohol 100% (\*Fases 5, 6, 7, 9, 10 y 11)**, utilizado en el mismo volumen que el suero fisiológico, es decir, el equivalente a tres jeringas de irrigación de 3 ml, cada vez que corresponda según el protocolo.

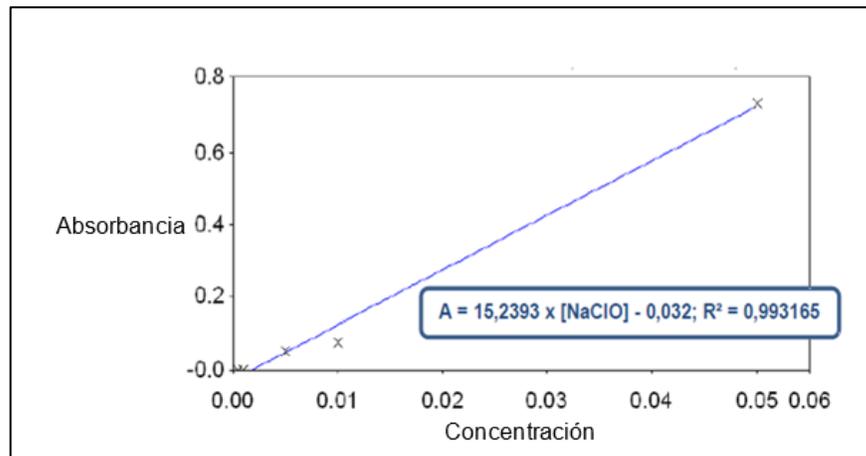
### **7.6 Procedimientos de Laboratorio:**

Las muestras recolectadas fueron trasladadas a tubos Eppendorf (1,5 ml) y centrifugadas a 10.000 rpm durante 5 minutos con el fin de precipitar posibles residuos presentes y posteriormente se procedió a su análisis químico.

Se midió la concentración del NaClO desde la fase 1 a la fase 11 y la concentración de PCA fue medido en las fases 12 y 13. Las muestras fueron leídas mediante espectrofotometría, obteniendo su espectro de absorción en el rango UV-visible (200-800 nm).

### 7.6.1 Determinación de NaClO:

Para la determinación de la concentración de hipoclorito se utilizó una curva de calibración construida anteriormente presentada en el Gráfico N°1 (Reyes, 2015). Esta curva fue construida para concentraciones entre 0,0005% y 0,05%.



**Gráfico N°1:** Curva de calibración del NaClO (Reyes, 2015).

[NaClO]: Concentración de NaClO. A: Absorbancia.

Se midió la absorbancia de las muestras recolectadas a  $\lambda_{\text{max}}$  (NaClO: 292 nm) en un espectrofotómetro utilizando una cubeta de cuarzo (1cc) contra agua destilada como blanco y se interpolaron los valores de absorbancia en la ecuación de calibración, para luego obtener el valor de su concentración.

En aquellas muestras donde la concentración de la solución no estaba dentro del rango que comprende la curva de calibración, porque ésta resultó ser mayor que este rango, la muestra fue diluida con agua destilada. En las muestras donde la concentración estaba dentro del rango de la curva de calibración no se realizó la dilución.

Posteriormente, los valores de absorbancia fueron reemplazados en la ecuación de la curva de calibración (Figura N°9). En el caso de las muestras que fueron

diluidas, se multiplicó el resultado obtenido por el factor de dilución para conocer la concentración final del irrigante en la muestra.

$$[NaClO] = \frac{A + 0,032}{15,2393}$$

**Figura N°9:** Ecuación de la curva de calibración.  
 [NaClO]: Concentración de NaClO. A: Absorbancia

### 7.6.2 Determinación de PCA:

Para determinar la concentración de PCA en las muestras se aplicó el protocolo para detección de Paracloroanilina en soluciones de digluconato de clorhexidina, descrito en la Farmacopea Europea (2005), ajustado a la cantidad de muestra que se obtuvo en esta fase del tratamiento.

El protocolo ajustado fue el siguiente:

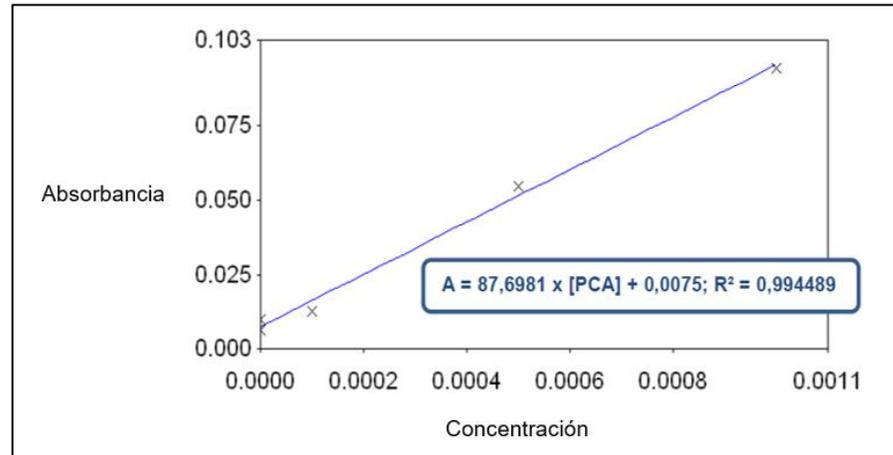
- A 1ml de muestra se agregó 250µL de Ácido Clorhídrico diluido (73g/L) y se diluyó hasta 2mL.

Se agregó y agitó rápidamente después de la adición de cada una de las siguientes soluciones:

- 36µL de Nitrito de Sodio (solución 100g/L)
- 200µL de Sulfamato de Amonio (solución 50g/L)
- 500µL Naftil etilIndiamina dihidrocloruro (solución 1g/L)
- 100µL de Alcohol (Solución Etanol 96%)

Se diluyó hasta 5 ml con agua y se dejó reposar por 30 minutos.

Utilizando una curva de calibración construida anteriormente (Reyes, 2015), se obtuvieron los valores de absorbancia de PCA. La curva de calibración se muestra a continuación:



**Gráfico N°2:** Curva de calibración de PCA (Reyes, 2015).

A: Absorbancia. [PCA]: Concentración de PCA

Los valores de absorbancia fueron reemplazados en la ecuación de la curva (Figura N°10) donde se obtuvo finalmente la concentración de PCA en las fases donde se aplicó la medicación con CHX al 2% (Fase 12 y 13).

$$[PCA] = \frac{A + 0,0075}{87,6981}$$

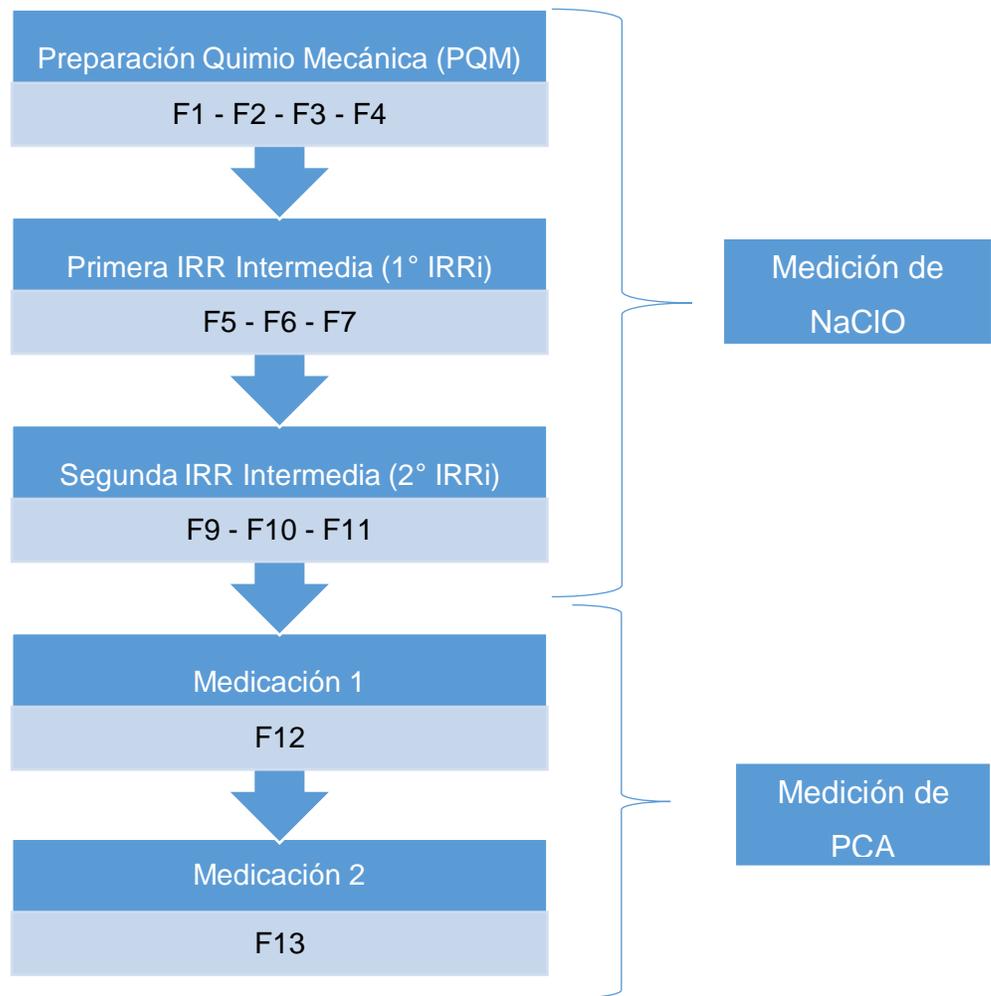
**Figura N°10:** Ecuación de la curva de calibración de PCA.

A: Absorbancia. [PCA]: Concentración de PCA

### **7.7 Análisis Estadístico:**

A través del análisis de los resultados se buscó establecer las diferencias entre las concentraciones medidas de NaClO y PCA en el grupo control (uso de suero fisiológico) con las medidas en el grupo experimental (uso de alcohol 100%). Los datos obtenidos fueron sometidos al test estadístico Shapiro-Wilk para determinar el tipo de distribución, donde se observó una distribución no normal por lo que se realizó la comparación entre ambos grupos con el test de Mann Whitney para establecer la significancia utilizando el software estadístico GraphPad Prism v6.01. Se fijó un intervalo de confianza del 95% aceptando diferencias estadísticamente significativas cuando  $p < 0,05$ .

Para efectos de análisis estadísticos se dividió el protocolo como se muestra en la Figura N°11:



**Figura N°11:** Fases consolidadas para análisis estadístico.

**F1:** Cavidad de acceso. **F2:** Preparación del tercio cervical y medio del canal (Flare).  
**F3:** Preparación del tercio apical del canal radicular. **F4:** Step-Back. **F5:** Primera irrigación intermedia. **F6:** Segunda irrigación intermedia. **F7:** Tercera irrigación intermedia. **F9:** Cuarta irrigación intermedia. **F10:** Quinta irrigación intermedia. **F11:** Sexta irrigación intermedia.  
**F12:** Primera medicación con CHX al 2%. **F13:** Segunda medicación con CHX al 2%.  
**IRRi:** Irrigación intermedia.

## 8. RESULTADOS

Por razones metodológicas se eliminaron dos dientes del universo total, quedando solamente 28 dientes considerados para los resultados, esto debido a que luego del análisis se estableció que estos dos dientes poseían valores *outliers*.

A continuación, se muestran las concentraciones obtenidas por medio de la espectrofotometría.

### 8.1 Concentración de NaClO:

Utilizando las curvas de calibración y los valores de absorbancia de las muestras se determinó la concentración de NaClO en las etapas previas a la aplicación de CHX al 2% en el grupo control (Tabla N°7) y en el grupo experimental (Tabla N°8). Además, se realizó la comparación entre ambos grupos (Tabla N°9).

**Tabla N°7: Concentraciones de NaClO en las fases previas a la medicación de CHX al 2% en el grupo control (NaCl 0,9%).**

Hipoclorito de Sodio (NaClO)				
Grupo Control NaCl 0,9%				
	[NaClO] <sub>Máx</sub>	[NaClO] <sub>Mín</sub>	Media	DS
<b>PQM</b>	4,98401%	3,15631%	4,96906%	0,02818
<b>1° IRRi</b>	0,05107%	0,00365%	0,01718%	0,01464
<b>2° IRRi</b>	0,01240%	0,00203%	0,00468%	0,00362

PQM: Preparación quimio-mecánica. 1°IRRI: Primera irrigación intermedia. 2°IRRI: Segunda irrigación intermedia. [NaClO]<sub>Máx</sub>: Concentración máxima de NaClO. [NaClO]<sub>Mín</sub>: Concentración mínima de NaClO. DS: Desviación estándar.

**Tabla N°8: Concentraciones de NaClO en las fases previas a la medicación de CHX al 2% en el grupo experimental (Alcohol 100°)**

<b>Hipoclorito de Sodio (NaClO)</b>				
<b>Grupo Experimental Etanol 100°</b>				
	<b>[NaClO]<sub>Máx</sub></b>	<b>[NaClO]<sub>Mín</sub></b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>PQM</b>	4,90015%	4,08975%	4,92978%	0,00511
<b>1° IRRi</b>	0,01115%	0,00037%	0,00463%	0,00264
<b>2° IRRi</b>	0,01292%	0,00172%	0,00469%	0,00282

**PQM:** Preparación quimio-mecánica. **1°IRRI:** Primera irrigación intermedia. **2°IRRI:** Segunda irrigación intermedia. **[NaClO]<sub>Máx</sub>:** Concentración máxima de NaClO. **[NaClO]<sub>Mín</sub>:** Concentración mínima de NaClO. **DS:** Desviación estándar.

**Tabla N°9: Comparación de las concentraciones de NaClO en las fases previas a la medicación de CHX al 2%**

<b>Hipoclorito de Sodio (NaClO)</b>					
	<b>Grupo Control NaCl 0,9%</b>		<b>Grupo Experimental Etanol 100°</b>		<b>Valor p</b>
	<b>Media</b>	<b>DS</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>	
<b>PQM</b>	4,96906%	0,02818	4,92978%	0,00511	0,4770
<b>1° IRRi</b>	0,01718%	0,01464	0,00426%	0,00264	<b>0,0002</b>
<b>2° IRRi</b>	0,00468%	0,00362	0,00469%	0,00282	0,8410

**PQM:** Preparación quimio-mecánica. **1°IRRI:** Primera irrigación intermedia. **2°IRRI:** Segunda irrigación intermedia. **NaCl:** Suero Fisiológico 0,9%. **OH:** Alcohol 100%

La concentración inicial de NaClO del 5% disminuyó en la etapa de PQM del canal radicular, pero no existió diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo experimental ( $p>0,05$ ).

Luego, a la primera utilización del irrigante intermedio, la concentración de NaClO disminuyó en ambos grupos, existiendo una diferencia estadísticamente significativa en la disminución de la concentración de NaClO en el grupo experimental en comparación con el grupo control ( $p<0,05$ )

Al momento de la segunda irrigación intermedia se produjo una disminución de la concentración de NaClO sólo en el grupo control ya que en el grupo experimental la concentración se mantiene y no existieron diferencias significativas entre ambos grupos ( $p>0,05$ ).

### **8.2 Concentración de PCA:**

Utilizando la curva de calibración de un estudio previo (Reyes, 2015), y la absorbancia obtenida luego de someter las muestras al protocolo de identificación de PCA, se determinó la concentración de este compuesto luego de aplicar la CHX al 2% en el grupo control (Tabla N°10) y en el grupo experimental (Tabla N°11). Además, se realizó la comparación entre ambos grupos (Gráfico N°3 – Tabla N°12)

**Tabla N°10: Concentraciones de PCA al aplicar CHX al 2% en el grupo control (NaCl 0,9%)**

<b>Paracloroanilina (PCA)</b>				
<b>Grupo Control NaCl 0,9%</b>				
	<b>[PCA]<sub>Máx</sub></b>	<b>[PCA]<sub>Mín</sub></b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>Medicación 1</b>	0,00587%	0,00236%	0,00378%	0,00104
<b>Medicación 2</b>	0,00415%	0,00164%	0,00290%	0,00096

[PCA]<sub>Máx</sub>: Concentración de PCA máxima. [PCA]<sub>Mín</sub>: Concentración de PCA mínima.

DS: Desviación estándar.

**Tabla N°11: Concentraciones de PCA al aplicar CHX al 2% en el grupo experimental (Etanol 100°)**

<b>Paracloroanilina (PCA)</b>				
<b>Grupo Experimental Etanol 100°</b>				
	<b>[PCA]<sub>Máx</sub></b>	<b>[PCA]<sub>Mín</sub></b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>Medicación 1</b>	0,00496%	0,00039%	0,00156%	0,00110
<b>Medicación 2</b>	0,00446%	0,00034%	0,00141%	0,00095

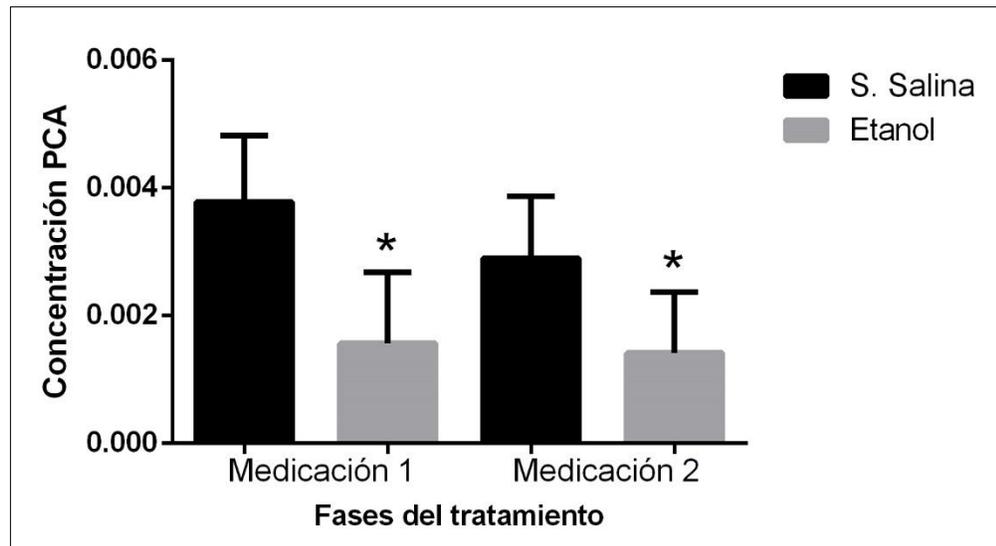
[PCA]<sub>Máx</sub>: Concentración de PCA máxima. [PCA]<sub>Mín</sub>: Concentración de PCA mínima.

DS: Desviación estándar.

**Tabla N°12: Comparación de la concentración de PCA al aplicar CHX al 2%.**

	Paracloroanilina (PCA)				Valor <i>p</i>
	Grupo Control Suero		Grupo Experimental Alcohol		
	Media	DS	Media	DS	
<b>Medicación 1</b>	0,00378%	0,00104	0,00156%	0,00110	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Medicación 2</b>	0,00290%	0,00096	0,00141%	0,00095	<b>0,0002</b>

DS: Desviación estándar. *p*: Significancia.



**Gráfico N°3:** Comparación de la concentración de PCA al aplicar CHX al 2%. \*:  $p < 0,05$

Al momento de medicar con CHX al 2%, se observó presencia de PCA en ambos grupos y al compararlos hubo diferencias significativas entre ellos ( $p < 0,05$ ). Luego

de 7 días, al aplicar la segunda medicación con CHX al 2%, la concentración de PCA disminuyó en ambos grupos, existiendo también diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo experimental ( $p < 0,05$ ). Para ambas fases, la mayor disminución se observó en el grupo experimental.

## 9. DISCUSIÓN

El uso de agentes químicos en el tratamiento endodóntico es indispensable para lograr una correcta limpieza y desinfección del canal radicular (Gatewood, 2007), ya que la instrumentación mecánica por sí sola no es capaz de remover todos los detritus, bacterias y subproductos presentes en el SCR (Peters, 2004). Además, en ciertos casos, posterior a la preparación quimiomecánica algunos microorganismos pueden sobrevivir por lo que se hace necesaria la medicación intracanal que reduzca el número de bacterias remanentes mejorando el pronóstico del tratamiento endodóntico (Saatchi y cols., 2014).

Actualmente la irrigación óptima se basa en la combinación de dos o más irrigantes usados en una secuencia específica (Haapasalo y cols, 2010) ya que no existe ninguna sustancia que posea todas las características ideales que cumplan con los objetivos del tratamiento (Haapasalo y cols, 2012).

Al usar una secuencia de irrigantes y medicamentos durante el protocolo endodóntico, es posible que la solución previamente utilizada no sea eliminada completamente del canal antes de aplicar la próxima solución, por lo tanto, al entrar en contacto se pueden formar subproductos dentro del SCR precipiten obliterando los túbulos dentinarios, impidiendo su correcta limpieza y obturación (Basrani y cols, 2007). Además, estos precipitados pudieran ser tóxicos para los tejidos periapicales (Prado y cols, 2013). Es por esto que se ha propuesto el uso de irrigantes intermedios o alternativos para lavar o diluir un irrigante antes de aplicar el próximo (Basrani y cols, 2007).

Zehnder (2006) propone un protocolo de irrigación con NaClO para disolver componentes orgánicos, EDTA para eliminar el componente inorgánico y CHX para mejorar el espectro antimicrobiano y otorgar sustentividad durante el tratamiento endodóntico.

Al combinar NaClO con CHX se produce una reacción ácido-base que da como resultado la formación de un precipitado insoluble que contiene Paracloroanilina (PCA).

La PCA ha mostrado ser citotóxica en ratas y potencialmente carcinogénica en seres humanos (Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer, 2015). Además, al precipitar produce la obliteración de los túbulos dentinarios, adhiriéndose firmemente a las paredes del canal interfiriendo con la medicación intracanal y la posterior obturación del SCR (Krishnamurthy y Subhakaran, 2010). De hecho, se ha demostrado que la presencia de PCA tiene un efecto negativo en la capacidad de sellado de un cemento de obturación endodóntica a base de resina (AH26 Sealer) (Homayouni y cols., 2014).

La formación de PCA dentro del canal está directamente relacionada con la concentración de NaClO, por lo que se sugiere el uso de suero fisiológico o agua destilada como irrigantes intermedios para diluir el NaClO previo a la medicación con CHX (Riquelme y cols., 2015).

El protocolo de irrigación de la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile emplea suero fisiológico como irrigante intermedio entre el uso de NaClO al 5% y CHX al 2%. Este protocolo fue utilizado en el grupo control del presente estudio. Alegre y cols (2017), utilizando la misma metodología para la detección de PCA y el mismo protocolo de irrigación *ex vivo*, determinó la presencia de PCA en las últimas fases del tratamiento, al utilizar solución salina al 0,9% como irrigante intermedio.

El presente trabajo estudió la posibilidad de evitar la formación de PCA *ex vivo* al reemplazar la solución salina al 0,9% por etanol al 100° como irrigante intermedio entre la irrigación con NaClO al 5% y la medicación con CHX al 2%. Los resultados revelaron presencia de PCA en las últimas fases del tratamiento, por lo tanto, no se confirma la hipótesis planteada.

Al analizar la concentración de NaClO en todas las fases del tratamiento endodóntico previo a la medicación con CHX al 2%, se demostró que la concentración de NaClO al 5% disminuyó levemente en la fase de PQM del canal radicular, presentando el valor de 4,96% y 4,92% en el grupo control y experimental, respectivamente, sin embargo, la diferencia entre ellos no fue estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Valores similares fueron observados en los estudios de Reyes (2015) y Quiroz (2015). Esta disminución se debe a la presencia de materia orgánica. Esta última es mayor debido a que en esta fase se produce la primera aproximación de los instrumentos y las sustancias irrigantes con el canal radicular. Se ha demostrado que el NaClO al entrar en contacto con la materia orgánica se inactiva y además disminuye su concentración ya que se consumen las moléculas de NaClO involucradas (Stojicic y cols., 2010). Sin embargo, la disminución en el presente estudio fue muy leve posiblemente debido al recambio constante del irrigante y a su utilización en un volumen considerable (3 ml en cada fase de la PQM, en total 12 ml durante toda la PQM), además al tratarse de un estudio *ex vivo*, la cantidad de materia orgánica presente en el canal post exodoncia sería menor que la que se podría encontrar en un diente *in vivo*, en el que en muchos casos podría encontrarse signos de inflamación, hemorragia y/o exudado purulento dependiendo del caso.

Al medir la concentración del NaClO luego de la primera irrigación con los irrigantes intermedios, ésta disminuyó considerablemente en ambos grupos, teniendo valores de 0,017% en el grupo control y 0,004% en el grupo experimental. En esta fase la diferencia que se produjo entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), presentando valores menores en el grupo experimental. A pesar de que se logra la disminución de NaClO, no se logra su dilución completa, por lo que de todos modos el NaClO residual puede interactuar con la CHX. Estudios *in vitro* han evidenciado formación de PCA al interactuar concentraciones muy bajas de NaClO con CHX. Bilbao y cols. (2013) observaron formación de PCA desde una concentración mínima de 0,0005% de NaClO residual. Por otro lado, Riquelme y

cols. (2015) observaron que a partir de una concentración de 0,005% de NaClO, la formación de PCA empieza a mantenerse constante.

Luego de la primera irrigación con NaCl 0,9% y alcohol, se realizó una irrigación con EDTA al 10% con el fin de retirar la parte inorgánica del barro dentinario. La acción de esta sustancia provoca la desmineralización de la dentina de las paredes del canal radicular lo que permite incrementar el acceso de los irrigantes a los túbulos dentinarios (Basrani, 2012, Cruz-Filho y Sousa-Neto, 2011). El EDTA también se ha usado como irrigante intermedio para prevenir la formación de PCA, sin embargo, su uso tampoco evita su formación (Mortensen y cols., 2012; Fuenzalida y cols., 2017).

Al medir la concentración de NaClO en la segunda irrigación con NaCl 0,9% y alcohol, se produjo una disminución de la concentración sólo en el grupo control, manteniéndose en el grupo experimental. La diferencia entre las concentraciones finales de NaClO de ambos grupos no fue estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

Luego de la aplicación de CHX al 2%, en las fases de Medicación 1 y 2, se observó formación de PCA tanto en el grupo control como en el grupo experimental. No obstante, en ambas fases la cantidad de PCA formado fue menor en el grupo experimental, presentando valores estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

Reyes (2015) utilizando alcohol a 70° con la misma metodología, observó diferencias significativas en la concentración de PCA sólo en la fase de Medicación 1, obteniendo una concentración de 0,0023% en el grupo experimental, concentración mayor a la obtenida en el presente trabajo (0,0015%). En la fase de Medicación 2 no obtuvo diferencias significativas entre el grupo control y el grupo experimental, a diferencia de este estudio donde sí se observaron. Esto podría deberse a que asumimos que el alcohol a 100°, sin agua, tiene un mayor efecto sobre la formación de PCA (estudios en marcha).

Estos resultados demuestran que el alcohol es efectivo como irrigante intermedio para disminuir la cantidad de PCA formada al utilizar NaClO al 5% y CHX

al 2%, debido a las propiedades físicas y químicas del alcohol que facilitan su ingreso a los túbulos dentinarios para eliminar el NaClO residual, además su capacidad volátil también ayuda al secado del canal. Algunos estudios han comparado su efectividad de secado versus conos de papel y se ha observado que la irrigación final con alcohol permitiría aumentar la penetración de cementos selladores endodónticos a base de óxido de zinc y a base de resinas (Cunningham y cols., 1982; Dias y cols., 2014). Esto se explica porque el diámetro de las fibrillas de colágeno en la dentina saturada de etanol, es menor que en las matrices de dentina saturadas en agua, lo que aumenta el tamaño de los espacios interfibrilares disponibles para la impregnación de los cementos (Dias y cols., 2014). Sin embargo, se requieren mayores estudios que evalúen el efecto del alcohol en la superficie dentinaria.

Reyes (2015), en etapas previas al montaje de su modelo experimental, observó la desaparición del espectro de absorción típico del NaClO al mezclar alcohol absoluto con diluciones acuosas de NaClO del 5% al 0,0005% *in vitro*. Dentro de las posibles explicaciones a este resultado planteó la interacción entre alcohol y NaClO, formando otro producto que no interacciona con CHX al 2%. Sin embargo, en el presente estudio, realizado *ex vivo*, se observó presencia de NaClO residual en todas las etapas de la endodoncia. Una explicación para esto es que el factor más importante que afecta la incapacidad de remover todos los microorganismos y subproductos es la anatomía y la morfología del diente (Torabinejad y Walton, 2009). En este sentido, sería interesante abordar el efecto del alcohol sobre el NaClO y si existe alguna interacción entre ellos, ya que un estudio previo observó que el etanol reduce la tensión superficial del NaClO y mejora significativamente su capacidad para diseminarse *in vitro* (Cunningham y cols., 1982).

Es necesario, también contrastar estos resultados con los obtenidos por Krishnamurthy y Sudhakaran (2010), quienes observaron que al utilizar alcohol

isopropílico 100° no hay formación de PCA. El alcohol isopropílico es menos polar que el alcohol etílico, por lo que provoca menor eliminación de agua de los túbulos dentinarios (Dias y cols., 2014), a partir de esto se propone la hipótesis de que el alcohol etílico sería mejor agente para el secado del SCR y por lo tanto más efectivo para la eliminación de sustancias. Sin embargo, las diferencias observadas entre ambos estudios se deben principalmente a la metodología en relación a la concentración inicial de NaClO, ya que Krishnamurthy y Sudhakaran (2010) utilizó concentraciones de 2,5%. El presente estudio utilizó una concentración inicial de NaClO del 5% por lo que puede ser que se requieran volúmenes mayores de etanol para lograr diluir completamente el NaClO. Próximos estudios debiesen abordar la comparación de ambos alcoholes a partir de una misma concentración de NaClO.

El uso de alcohol como irrigante intermedio no está bien establecido y es necesario estudiar su efecto en tejidos periapicales. De todas formas, es importante considerar la baja toxicidad del alcohol en comparación con la mayoría de los agentes antimicrobianos utilizados para el tratamiento endodóntico. Una solución al 1% de NaClO es cuatro veces más citotóxica *in vitro* que el etanol puro (Orstavik y Pitt, 2007).

En cuanto al uso de solución salina al 0,9% como irrigante intermedio, los resultados de este trabajo demuestran que logra disminuir la cantidad de PCA, pero no impide su formación, resultados que coinciden con estudios previos (Alegre y cols., 2013; Krishnamurthy y Sudhakaran, 2010; Mortenson y cols., 2012; Quiroz y cols., 2015; Reyes, 2015; Riquelme y cols., 2015). Se debe considerar también la interacción del suero con la CHX, ya que produce una obliteración de los túbulos dentinarios, impidiendo un adecuado sellado tridimensional al momento de la obturación del canal radicular (Prado y cols., 2013).

Según la Organización Mundial de la Salud (2006) en relación a la exposición de PCA y al considerar sólo los efectos no neoplásicos, el nivel máximo tolerable de exposición humana es de de 2 µg/kg de peso/día (Boehncke y cols., 2003).

Asumiendo que la cantidad que queda en el canal es de 0,1 mL (100ul), y que podría potencialmente ingresar al organismo, el nivel de exposición a PCA sería de 2µg en total. Por lo tanto, un paciente sometido a un tratamiento endodóntico bajo este protocolo no tendría riesgo de exposición a los efectos tóxicos de PCA.

Este estudio tiene limitaciones dentro de las que podemos mencionar el modelo experimental utilizado. Al ser un estudio *ex vivo*, el uso clínico del protocolo experimental propuesto no puede ser utilizado en humanos hasta que se realicen estudios de biocompatibilidad. Además, se debe considerar que el estudio actual utilizó dientes extraídos sanos, por lo que falta determinar si la efectividad del alcohol será la misma bajo condiciones fisiológicas en dientes con patología pulpar y/o periapical y con tejido vital o necrótico dentro del sistema de canales radiculares.

En conclusión, aunque estudios previos indican que el uso de alcohol absoluto como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y la CHX al 2% impide la formación de PCA, en el presente trabajo el alcohol absoluto no impidió dicha formación, pero sí la disminuyó, siendo más efectivo que el suero fisiológico. A pesar de ello, se requieren estudios adicionales que evalúen posibles interacciones del alcohol absoluto con otros irrigantes y el efecto en los tejidos periapicales para validar este protocolo clínico.

## 10. CONCLUSIONES

A partir del presente trabajo de investigación se puede concluir que:

1. La utilización de alcohol absoluto como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2% no impide la formación de PCA, pero sí disminuye su concentración.
2. La utilización de Suero fisiológico como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2% no impide la formación de PCA, pero sí disminuye su concentración.
3. La utilización de alcohol absoluto como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2% es más efectiva que el suero fisiológico para disminuir la formación de PCA al momento de la medicación intracanal.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Alegre O, Yévenes I, Parada J, Maggiolo S, Fernández E. (2017) Determination of residual parachloroaniline produced by endodontic treatment after the use of 5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine combined: an ex-vivo study. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil Oral.* 10(3); 93-96.

Arslan H, Uygun A. D., Keskin A, Karatas E, Seckin F, Yıldırım A (2015). Evaluation of orange-brown precipitate formed in root canals after irrigation with chlorhexidine and QMix and spectroscopic analysis of precipitates produced by a mixture of chlorhexidine/NaOCl and QMix/NaOCl. *Int Endod J* 48: 1199–1203.

Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ (2007). The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J* 52 (1 Suppl):S64-82.

Barbin LE, Estrela C, Guedes DF, Spanó JC, Sousa-Neto MD, Pécora JD (2013). Detection of para-chloroaniline, reactive oxygen species, and 1-chloro-4 nitrobenzene in high concentrations of chlorhexidine and in a mixture of chlorhexidine and calcium hydroxide. *J Endod* 39:664-668.

Basrani B, Haapasalo M (2012). Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Topics* 27:74–102.

Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A (2007). Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod* 33(8):966-999.

Baumgartner JC, Ibay AC (1987). The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. *J Endod* 13(2): 47-51

- Becking AG. (1991). Complication in the use of sodium hypochlorite during endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* (71):346–348.
- Berber VB, Gomes BP, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ (2008). Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing *Enterococcus faecalis* within root canals and dentinal tubules. *Int Endod J* 39(1):10-7.
- Bilbao M, Maggiolo S, Neira M, Yévenes I. (2017) Saline Solution in the Formation of Para-Chloroaniline in the Reaction Between Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite. *EC Dental Science* 8 (6): 219-226.
- Boehncke A, Kielhorn J, Könecker G, Pohlenz-Michel C, and Mangelsdorf I, (2003). 4-CHLOROANILINE. *Concise International Chemical Assessment Documents*, 48.
- Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC (2008). Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *J Endod* 34(2):181-5.
- Bystrom A, Sundqvist G (1981) Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 89:31-8.
- Calt S, Serper A (2002). Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod* 28(1):17-9.
- Canalda Sahli, C., & Brau Aguadé, E. (2014). *Endodoncia*. Barcelona: Masson.
- Chang, R. (2011). *Fundamentos de química*. México: McGraw-Hill.

Chong BS, Pitt Ford TR (1992). The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J* 25(2):97-106.

Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR (2006) The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentine biofilms in vitro. *J Endod* 32, 434–7.

Crompton BJ, Goodell GG, McClanahan SB (2005). Effects on Smear Layer and Debris Removal with Varying Volumes of 17% REDTA after Rotary Instrumentation. *J Endod* 31:536-538.

Cruz-Filho AM, Sousa-Neto M. (2011) Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod* 37(3):358-362

Cunningham, W. T., Martin, H., & Forrest, W. R. (1982). Evaluation of root canal debridement by the endosonic ultrasonic synergistic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 53(4), 401-404.

Dias, K., Soares, C., Steier, L., Versiani, M., Abi Rached-Júnior, F., & Pécora, J. et al. (2014). Influence of Drying Protocol with Isopropyl Alcohol on the Bond Strength of Resin-based Sealers to the Root Dentin. *J Endod*, 40 (9), 1454-1458.

Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gül K (2004). Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod* 30(2):84-7.

Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD (2002). Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 13(2):113-7.

Farmacopea Europea (2005). 5ª Edición. Monografías C. Clorhexidina, digluconato de disolución de [p.–1997; m.–3.0], 1215.

Fuenzalida A., Ruiz M., Barrientos C., Cornejo D., Araya P., y cols. (2017) Ethylenediaminetetraacetic Acid as an Irrigant between 5% Sodium Hypochlorite and 2%Chlorhexidine in the Formation of Para-chloroaniline Related Precipitate. *EC Dental Science* 10 (6): 158-164.

Gasic J, Popovic J, Zivković S, Petrovic A, Barac R, Nikolic M. (2012) Ultrastructural analysis of the root canal walls after simultaneous irrigation of different sodium hypochlorite concentration and 0.2% chlorhexidine gluconate. *Microsc Res Tech*; 75(8):1099-103.

Gatewood RS (2007). Endodontic materials. *Dent Clin North Am* 51(3):695-712, vii.

Gomes B, Ferraz C, Vianna M, Berber V, Teixeira F (2001). In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconato in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 34:424-428.

Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ (2001) In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod*34, 424–8.

Gomes BP, Sato E, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ (2003b) Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. *Int Endod* 36, 604–9.

Gomes BPF, Souza SFC, Ferraz CCR et al. (2003a) Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J* 36, 267–75.

Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M (2003). Interactions of ethylenediaminetetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J* 36(6):411-7.

Greenstein G, Berman C, Jaffin R (1986) Chlorhexidine: an adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 57, 370–6.

Haapasalo M, Qian W, Shen Y (2012). Irrigation: Beyond the smear layer. *Endodontic* 27:35-53.

Haapasalo, YaShen, WeiQian, Yuan Gao (2010). Irrigation in Endodontics. *Dent Clin North Am* 54(2):291-312.

Homayouni H, Majd NM, Zohrehei H, Mosavari B, Adel M, Dajmar R, Homayouni A (2014). The Effect of Root Canal Irrigation with Combination of Sodium Hypo-chlorite and Chlorhexidine Gluconate on the Sealing Ability of Obturation Materials. *Open Dent J.* 22; 8: 184-7.

Kawashima N, Wadachi R, Suda H, Yeng T, Parashos P (2009). Root canal medicaments. *Int Dent J* 59(1):5-11.

Keen JN, Austin M, Huang LS, Messing S, Wyatt JD (2010) Efficacy of soaking in 70% isopropyl alcohol on aerobic bacterial decontamination of surgical instruments and gloves for serial mouse laparotomies. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 49(6):832-7.

Krishnamurthy S., Subhakaran S (2010). Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod* 36(7): 1153-1157.

Kuçi A, Alaçam T, Yavaş O, Ergul-Ulger Z, Kayaoglu G. (2014) Sealer penetration into dentinal tubules in the presence or absence of smear layer: a confocal laser scanning microscopic study. *J Endod*; 40:1627-1631

Lin LM, Di Fiore PM, Lin J, Rosenberg PA (2006). Histological study of periradicular tissue responses to uninfected and infected devitalized pulps in dogs. *J Endod* 32(1):34-38.

Marchesan MA, Pasternak Júnior B, Afonso MM, Sousa-Neto MD, Paschoalato C (2007). Chemical analysis of the flocculate formed by the association of sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 103(5): e103-105.

Mohammadi Z, Khademi AA, Davari AR. (2008) Evaluation of the antibacterial substantivity of three concentrations of chlorhexidine in bovine root dentine. *Iran Endod J* 2, 113–25.

Mohammadi & Abbott (2009). The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J* 42(4): 288-302.

Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP (2004). Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. *Eur J Oral Sci* 112 (3):207-215.

Mortenson, D., Sadilek, M., Flake, N., Paranjpe, A., Heling, I., Johnson, J., & Cohenca, N. (2012). The effect of using an alternative irrigant between sodium hypochlorite and chlorhexidine to prevent the formation of para-chloroaniline within the root canal system. *Int Endod J*, 45(9), 878-882.

Nalla RK, Kinney JH, Tomsia AP, Ritchie RO. (2006) Role of alcohol in the fracture resistance of teeth. *J Dent Res.* 85(11):1022-6.

Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H (2002). A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J* 35:934–939.

Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, BurhanogluD. (2003). Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J* (36):423–432.

Pashley DH, Agee KA, Carvalho RM, Lee KW, Tay FR, Callison TE. (2003) Effects of water and water-free polar solvents on the tensile properties of demineralized dentin. *Dent Mater*; 19(5):347-52.

Pecora JD, Sousa-Neto MD, Estrela C. (1999) Soluções irrigadoras auxiliares do preparo do canal radicular. In: Endodontia - Princípios biológicos e mecânicos. Estrela C, Figueiredo JAP. Eds. São Paulo: Artes Médicas; 552-569.

Peters OA (2004). Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod* 30(8):559-567.

Prado M, Hervecio M (2013). Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: A Chemical Analysis. *J Endod* 39: 505-510.

Qian W, Shen Y. (2011) Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endodon.* 37(10):1437-41.

Quiroz G, Yévenes I, Fuenzalida A, Ruiz M. (2017) Distilled water as an intermediate irrigant between 5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine to prevents the formation of parachloroaniline. *EC Dentl Scien* 12 (5): 208-213.

Rahimi S, Janani M, Lotfi M, Shahi S, Aghbali A, Vahid Pakdel M, Salem Milani A, Ghasemi N. (2014) A review of antibacterial agents in endodontic treatment. *Iran Endod J* 9(3):161-168.

Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. (2008) Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *J Endod* 34(12):1521-3

Reyes Roldán, M. (2015). Rol del alcohol 70% en la formación de paracloroanilina Ex vivo en tratamiento endodóntico tras ser utilizado como irrigante intermedio entre hipoclorito de sodio 5% y clorhexidina 2%. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/141559>

Riquelme M, Correa V, Araya P, Neira M, Yévenes I (2015). Water and physiological saline to prevent the formation of p-chloroaniline. *Int. J. Odontostomat.*, 9(3):399-404.

Rosenthal S, Spångberg L, Safavi K (2004). Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 98(4):488-92.

Saatchi M, Shokraneh A, Navaei H, Maracy MR, Shojaei H (2014). Antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: a systematic review and meta-analysis. *J Appl Oral Sci* 22(5):356-65.

Sánchez, L., Martín, N., & Guldi, D. M. (2005). Hydrogen-Bonding Motifs in Fullerene Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(34), 5374-5382.

Sever M, Mordeniz C, Sever F, Dokur M (2009). Accidental chlorine gas intoxication: evaluation of 39 patients. *J Clin Med Res* 1(5):274-9.

Singh RD, Khatter R, Bal RK, Bal CS. (2013) Intracanal medications versus placebo in reducing postoperative endodontic pain--a double-blind randomized clinical trial. *Braz Dent J*. 24(1):25-9.

Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zehnder M. (2005) The Effects of Temperature on Sodium Hypochlorite Short-Term Stability, Pulp Dissolution Capacity, and Antimicrobial Efficacy. *J Endodon* 31 (9): 669-671.

Soares, I., Goldberg, F., & González, M. (2012). Endodoncia. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Souza M, Cecchin D, Farina AP, Leite CE, Cruz FF, Pereira Cda C, Ferraz CC, Figueiredo JA. (2012) Evaluation of chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. *J Endod*. 38(9):1249-52.

Spano JC, Barbin EL, Santos TC, Guimaraes LF, Pecora JD. (2001) Solvent action of sodium Hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. *BrazDent J* 12: 154-157.

Stojcic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M (2010). Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation and surfactant. *J Endod*. 36:1558–1562.

Tonea, A., Badea, M., Oana, L., Sava, S., & Vodnar, D. (2017). Antibacterial and antifungal activity of endodontic intracanal medications. *Clujul Medical*, 90(3), 344–347.

Torabinejad, M., Walton, R. E., & Fouad, A. (2014). *Endodontics-e-book: Principles and practice*. Elsevier Health Sciences.

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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 97(1):79-84.

Violich DR, Chandler NP. (2010) The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J*; 43:2-15.

World Health Organization, 2006. IARC monography on the evaluation of carcinogenic risks to human. *International Agency for Research on cancer*. Lyon, France 86, 1–25

Zancan RF, Vivian RR, Milanda Lopes MR, Weckwerth PH, de Andrade FB, Ponce JB, Duarte MA. (2016) Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Calcium Hydroxide Pastes Used as Intracanal Medication. *J Endod*. 42(12):1822-1828.

Zehnder RM (2006). Root Canal Irrigants. *J Endod* 32(5):389-98.

## ANEXO 1

### PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN

#### PRIMERA SESIÓN:

1. Cavidad de acceso: Se realizará la cavidad de acceso endodóntico con piedra de diamante de alta velocidad (0.12, 0,14) en esmalte, de acuerdo al tamaño de la cámara pulpar del diente, refrigerando hasta llegar a dentina. En dentina se cortará con fresas de carburo-tungsteno redondas de baja velocidad de acuerdo a la anatomía del diente hasta realizar la comunicación con la cámara pulpar. Una vez que se comunique se irrigará con NaClO al 5% con *Jeringa Irrigación Monoject®* 3ml. Se realizará el destechamiento con fresa Endo Z® o piedra tipo Llama de baja velocidad recorriendo el contorno del techo de la cámara pulpar. Una vez finalizado el destechamiento, se realizará el cateterismo con una lima K fina N° 10 o 15 graduada a dos tercios de la longitud aparente del diente medida en la radiografía previa, irrigando durante todo el procedimiento con NaClO al 5%. → Recolección N° 1

La siguiente etapa en el acceso serán los desgastes compensatorios que en dientes anteriores corresponden al bisel incisal y desgaste de la convexidad palatina y en premolares, abordan las vertientes internas de las cúspides vestibular y palatina. Los desgastes serán efectuados con una piedra tipo llama o fresa Endo-Z de baja velocidad.

2. Preparación 1/3 cervical y medio (Flare): Con fresas Gates-Glidden. en una secuencia que se elige de acuerdo al calibre del canal en los tercios cervical y medio. Las fresas deben graduarse a los dos tercios de la longitud aparente del diente (LAD) medido en la radiografía previa. La secuencia para canales amplios

será 3-2-1, para canales medios será 1-2-1 y para canales finos será un pre-flare con limas manuales y posteriormente la secuencia 1-2-1 irrigando con NaClO al 5%. → Recolección N° 2

3. Determinación Longitud de Trabajo (LT): Se realizará introduciendo la lima hasta que se visualice la punta de ésta por el foramen apical. Se dejará al ras con el foramen y esa longitud será definida como la longitud real del diente LRD, definiéndose la longitud de trabajo (LT) a -1mm de la LRD.
4. Preparación 1/3 Apical hasta Lima Maestra (LM) irrigando con NaClO al 5% entre cada paso de lima. → Recolección N° 3
5. Retroceso (Step-Back): desde la LM hasta alcanzar el diámetro de la última fresa Gates Glidden utilizada al realizar el flare (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-ápico-medial). Se Irrigará con NaClO al 5 % entre cada paso de lima. → Recolección N°4
6. Secado del canal (con conos de papel estériles).
7. Irrigación (IRR) con suero fisiológico. Irrigar con 3 jeringas de 3 ml cada una. → Recolección N° 5, 6 y 7
8. Secado (con conos de papel).
9. IRR con 1ml de EDTA al 10% durante 1 minuto. → Recolección N° 8
10. Secado (con conos de papel).

11. IRR con suero fisiológico. Irrigar con 3 jeringas de 3 ml cada una.  
→ Recolección N° 9, 10 y 11
  
12. Secado (con conos de papel).
  
13. IRR Final y medicación con CHX al 2%. Irrigar y medicar con 1 jeringa de 3 ml.  
→ Recolección N° 12
  
14. Doble sellado: Se obturará la cavidad de acceso del diente con doble sellado, Fermín® y Vidrio Ionómero de autocurado y se sellará el ápice con cera rosada. Luego, se pondrá el diente en vial con suero fisiológico y estufa a 37° Celsius por una semana (tiempo habitual de medicación intracanal), simulando las condiciones del medio oral.

### **SEGUNDA SESIÓN:**

1. IRR con CHX 2%. Irrigar con 1 jeringa de 3 ml repasando con la LM.  
→ Recolección N° 13

## **Anexo 2: FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

### **TOMA DE MUESTRAS DENTARIAS PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

#### **Efecto del alcohol absoluto en la formación de paracloroanilina en el tratamiento endodóntico. Estudio *ex vivo*.**

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

Camila Amaru Farías Salinas, 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. Alejandra Fuenzalida, está realizando un estudio cuyo objetivo es determinar el efecto del alcohol absoluto en la formación de PCA al ser usado después de la irrigación con NaClO 5 % y previo a la irrigación con CHX 2%.

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 (Nombre: **Camila Amaru Farías Salinas**; celular: 9 84497221)

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

---

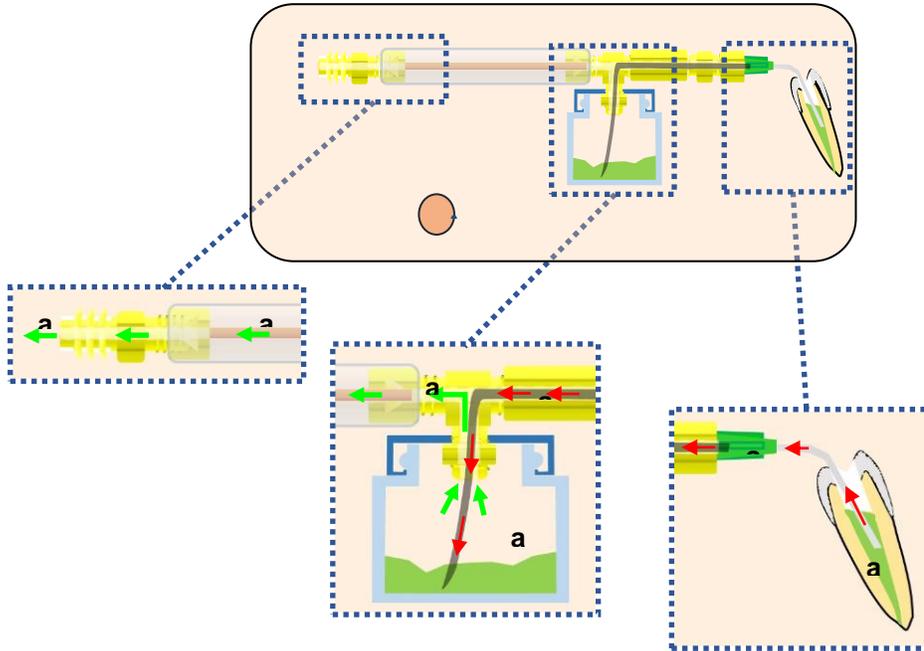
Nombre del individuo que obtiene el consentimiento

Firma

### Anexo 3: DISPOSITIVO PARA TOMA DE MUESTRAS

El dispositivo para toma de muestras fue creado y diseñado por el Dr. Mauricio Ruiz Nolf. Los materiales de construcción usados fueron elementos roscados de bronce (niples, conos de expansión y 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.



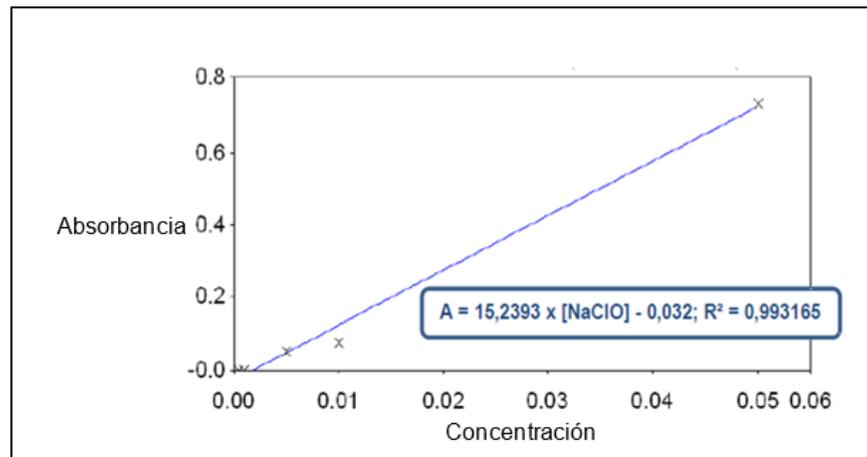
**Figura N°12:** Dispositivo para la toma de muestras fabricado por el Dr. Mauricio Ruiz Nolf.

#### Anexo 4:

### MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN LA CONCENTRACIÓN DEL HIPOCLORITO DE SODIO Y PCA.

#### 1. Determinación la concentración de NaClO:

Para la determinación de la concentración de hipoclorito se utilizó una curva de calibración construida anteriormente presentada en el gráfico 4 (Reyes, 2015). Esta curva fue construida para concentraciones entre 0,0005% y 0,05%.



**Gráfico N°4:** Curva de calibración del NaClO (Reyes, 2015).

[NaClO]: Concentración de NaClO. A: Absorbancia.

Se midió la absorbancia de las muestras recolectadas a  $\lambda_{\text{max}}$  (NaClO: 292 nm) en un espectrofotómetro utilizando una cubeta de cuarzo (1cc) contra agua destilada como blanco y se interpolaron los valores de absorbancia en la ecuación de calibración, para luego obtener el valor de su concentración.

En aquellas muestras donde la concentración de la solución no estaba dentro del rango que comprende la curva de calibración, porque ésta resultó ser mayor que este rango, la muestra fue diluida con agua destilada. En las muestras donde la

concentración estaba dentro del rango de la curva de calibración no se realizó la dilución.

Posteriormente, los valores de absorbancia fueron reemplazados en la ecuación de la curva de calibración (Figura N°13). En el caso de las muestras que fueron diluidas, se multiplicó el resultado obtenido por el factor de dilución para conocer la concentración final del irrigante en la muestra.

$$[NaClO] = \frac{A + 0,032}{15,2393}$$

**Figura N°13:** Ecuación de la curva de calibración.  
[NaClO]: Concentración de NaClO. A: Absorbancia.

## 2. Determinación de PCA:

Para determinar la concentración de PCA en las muestras se aplicó el protocolo para detección de Paracloroanilina en soluciones de digluconato de clorhexidina, descrito en la Farmacopea Europea (2005), ajustado a la cantidad de muestra que se obtuvo en esta fase del tratamiento.

El protocolo ajustado fue el siguiente:

- A 1ml de muestra se agregó 250µL de Ácido Clorhídrico diluido (73g/L) y se diluyó hasta 2mL.

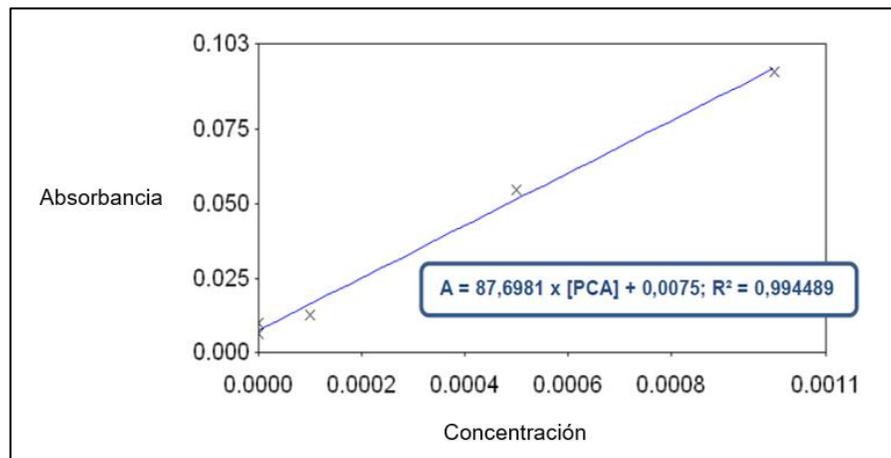
Se agregó y agitó rápidamente después de la adición de cada una de las siguientes soluciones:

- 36µL de Nitrito de Sodio (solución 100g/L)
- 200µL de Sulfamato de Amonio (solución 50g/L)

- 500µL Naftil etilindamina dihidrocloruro (solución 1g/L)
- 100µL de Alcohol (Solución Etanol 96%)

Se diluyó hasta 5 ml con agua y se dejó reposar por 30 minutos.

Utilizando una curva de calibración construida anteriormente (Reyes, 2015), se obtuvieron los valores de absorbancia de PCA. La curva de calibración se muestra a continuación:



**Gráfico N°5:** Curva de calibración de PCA (Reyes, 2015).

A: Absorbancia. [PCA]: Concentración de PCA

Los valores de absorbancia fueron reemplazados en la ecuación de la curva (Figura N°14) donde se obtuvo finalmente la concentración de PCA en las fases donde se aplicó la medicación con CHX al 2%

$$[PCA] = \frac{A + 0,0075}{87,6981}$$

**Figura N° 14:** Ecuación de la curva de calibración de PCA.

A: Absorbancia. [PCA]: Concentración de PCA