



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

**“DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PARACLOROANILINA EX VIVO
PRODUCIDO EN TRATAMIENTO ENDODÓNTICO TRAS LA UTILIZACIÓN DE
HIPOCLORITO DE SODIO 5%, CLORHEXIDINA 2% Y PERÓXIDO DE
HIDROGENO 3%”**

Pía Carolina Erices Munizaga

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

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Silvana Maggiolo Villalobos

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Ismael Yévenes López

Adscrito a Proyecto FIOUCH 13-015
Santiago - Chile
2018



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

**“DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PARACLOROANILINA EX VIVO
PRODUCIDO EN TRATAMIENTO ENDODÓNTICO TRAS LA UTILIZACIÓN DE
HIPOCLORITO DE SODIO 5%, CLORHEXIDINA 2% Y PERÓXIDO DE
HIDROGENO 3%”**

Pía Carolina Erices Munizaga

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

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Silvana Maggiolo Villalobos

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Ismael Yévenes López

Adscrito a Proyecto FIOUCH 13-015
Santiago - Chile
2018

AGRADECIMIENTOS

Al llegar al término de esta importante etapa, quisiera agradecer a todas aquellas personas, que de alguna u otra forma me acompañaron durante estos años:

A mi mamá, Carolina, por todo su amor, cariño y apoyo. Por estar siempre junto a mí, por sus retos, enseñanzas, soportar mi desorden y por sobre todo permitirme con su esfuerzo cumplir mis metas.

. A mi papá, Roberto, por ser el mejor paciente, aguantar horas en el box con tal que pudiera terminar, por quererme a pesar de mi actitud.

Al Robert, mi hermanito, por ser el alma de la casa, gracias por el apañe en momentos de estudio donde necesitamos comer, gracias por el cariño a nuestra manera.

Mi Pali, que toda la vida ha sido un pilar fundamental, no sé qué haría sin ella, me ha enseñado y guiado, me ha querido incondicionalmente y ha estado en mis momentos difíciles.

A mi pololo, José Ignacio, por su paciencia, amor y cariño infinito. Saber cuándo aterrizar y motivarme en lograr mis objetivos. Gracias por acompañarme en este proceso y por llegar en el momento indicado a mi vida.

A mis amigas y amigos de la Universidad. Muchas gracias por todas las experiencias que vivimos, por compartir conmigo los buenos y los malos momentos y por acompañarme y apoyarme siempre que lo necesité.

A mis amigos de la vida, los de siempre y los que he conocido durante este último tiempo, gracias por escucharme, animarme y alentarme a perseverar y confiar en mí.

A la Dra. Paola Carvajal, por su ayuda en esta tesis y por el apoyo estos últimos años.

A mis tutores, Prof. Ismael Yévenes y Dra. Silvana Maggiolo, por su guía y excelente disposición durante toda la realización de esta tesis.

ÍNDICE

ABREVIACIONES	I
RESUMEN	II
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEORICO	5
1. Hipoclorito de Sodio (NaClO)	5
2. Clorhexidina (CHX)	8
3. Ácido etildiaminotetraacetico (EDTA)	10
4. Interacción entre irrigantes	12
5. Interacción entre NaClO y CHX	14
6. Irrigantes intermedios	15
7. Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)	15
HIPÓTESIS	18
OBJETIVO GENERAL	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
1. Tipo de estudio	19
2. Muestra	19
3. Materiales	21
4. Procedimientos clínicos	23
5. Procedimientos de laboratorio	27
a. Determinación de la concentración de NaClO:	27
b. Determinación del espectro de absorción y concentración de H ₂ O ₂ :	27
c. Determinación del espectro de absorción y concentración de PCA:	29
6. Análisis estadístico	31
RESULTADOS	32

1. Concentración NaClO	32
2. Concentración PCA	33
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS	49
Anexo 1: Formulario de consentimiento informado	49
Anexo 2: Protocolo de irrigación	51
Anexo 3: Dispositivo para toma de muestras	54
Anexo 4: Determinación del espectro de absorción y concentración de NaClO	55
Anexo 5: Determinación del espectro de absorción y concentración del NaCl	57

ABREVIACIONES

Abreviación	Significado
CHX	Clorhexidina
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
H₂O₂	Peróxido de Hidrógeno
IRR	Irrigación
NaCl 0,9%	Suero Fisiológico
NaClO	Hipoclorito de Sodio
PCA	Paracloroanilina
PQM	Preparación Químio-Mecánica
SCR	Sistema de canales radiculares
$\lambda_{\text{máx}}$	Lambda máximo

RESUMEN

Introducción: En un tratamiento endodóntico la limpieza y desinfección del sistema de canales radiculares (SCR) no se logra con un solo irrigante, por lo que es necesario el uso combinado de irrigantes en una secuencia específica para obtener el éxito terapéutico. Sin embargo, estos no son eliminados completamente, interactuando químicamente al ponerse en contacto, formando subproductos como la paracloroanilina (PCA), que interfiere en la desinfección y sellado del SCR. El objetivo de este estudio fue determinar si la formación de PCA puede ser evitada usando Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3 % como irrigante intermedio entre hipoclorito de sodio ($NaClO$) al 5% y clorhexidina (CHX) al 2 %.

Metodología: Estudio prospectivo, experimental y explicativo ex vivo. 30 dientes extraídos (ex vivo) fueron divididos en 2 grupos: experimental (20 dientes) y grupo control (10 dientes). A ambos se les realizó un tratamiento de endodoncia utilizando el protocolo de irrigación de la Facultad de Odontología de la U. de Chile. En el grupo experimental se usó H_2O_2 al 3% como irrigante intermedio y en el grupo control, suero fisiológico. Se recolectaron 13 volúmenes correspondientes a las distintas fases del tratamiento y se determinó por medio de espectrofotometría UV y visible la concentración de $NaClO$ y PCA de las muestras obtenidas.

Resultados: Posterior al lavado del SCR con el irrigante intermedio y previo a la irrigación con CHX 2% se detectó $NaClO$ residual en concentraciones que van del 0,0043%% al 0,0063% en el grupo control y del 0,0095%% al 0,0148% en el grupo experimental. Después de la irrigación con CHX 2% se midió una concentración de PCA de 0,0011% en el grupo control y 0,001% en el grupo experimental.

Conclusiones: Se forma PCA al interior del SCR por la presencia de $NaClO$ residual y CHX 2%. El uso de H_2O_2 como irrigante intermedio permite diluir el $NaClO$ del canal radicular, sin embargo, esto no impide la formación de PCA. Se deben utilizar al menos 3 jeringas de irrigación Monoject cargadas con H_2O_2 para diluir el $NaClO$ 5% a tal punto que en contacto con CHX 2% se produzca la mínima cantidad de PCA.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento endodóntico del sistema de canales radiculares (SCR) es un procedimiento dental relativamente complejo, que se realiza principalmente en dientes en los que las patologías pulpares han llevado a la necrosis pulpar y sus complicaciones. Por lo que se ofrece como una alternativa a la exodoncia. (Fedorowicz et al. 2012)

El principal agente causal de patologías pulpares y periapicales son los microorganismos (Möller et al. 2004; Lin et al. 2006), por lo que el propósito de un tratamiento endodóntico será remover estos patógenos del interior del canal y de los túbulos dentinarios (Priyank et al. 2017), así como también el tejido pulpar inflamado o necrótico y prevenir su reinfección (Zehnder 2006). El éxito clínico de un tratamiento endodóntico, yace en la efectividad del desbridamiento del sistema de canales a través de la instrumentación, desinfección y sellado de este. (Lantigua Domínguez et al. 2018)

Debido a la compleja anatomía radicular, el uso de agentes químicos a modo de irrigación, en conjunto con la preparación mecánica del canal es necesaria antes, durante y después de la instrumentación para dejar el canal libre de tejido pulpar, bacterias, subproductos y detritus dentinario; permitiendo además una obturación exitosa y principalmente crear un ambiente favorable para la reparación y por consiguiente éxito clínico (Prado et al. 2013)

La irrigación endodóntica consiste en la introducción de una o más soluciones en el SCR con el propósito de eliminar restos de tejido pulpar vital o necrótico, detritus dentinario y microorganismos que permanecen en el canal radicular aún después de una adecuada preparación biomecánica (Lasala, 1992).

La irrigación tiene un papel fundamental en el éxito del tratamiento endodóntico. Un irrigante ideal no debe ser tóxico, presentar un amplio espectro antimicrobiano y la capacidad de disolver el tejido pulpar necrótico, inactivando endotoxinas, y prevenir la formación de una capa de barro dentinario o disolverlo. (Karkehabadi et al. 2018)

Los objetivos de la irrigación en endodoncia son: (Basrani and Haapasalo 2012)

→ Biológicos

1. Efecto antimicrobiano, teniendo una gran eficacia ante microorganismos anaeróbicos y facultativos en su estado libre y en biofilm
2. Inactivación de endotoxinas
3. No causar reacciones alérgicas ni dañinas al individuo.

→ Químicos y mecánicos:

1. Disolución y eliminación de detritus
2. Lubricación del canal
3. Disolución de tejido orgánico e inorgánico
4. Prevenir la formación de barro dentinario durante la instrumentación, o disolverlo una vez que se ha formado.

De acuerdo a estos objetivos, las características ideales de un irrigante endodóntico son: (Tabla 1)

Tabla 1: Características del irrigante ideal (Basrani y Haapasalo 2012)

1. Efectivo germicida y fungicida
2. Que no irrite tejidos periapicales
3. Estable en solución
4. Prolongado efecto antimicrobiano y sostenido efecto antibacteriano después de su uso.
5. Activo en presencia de sangre, suero y proteínas derivadas de los tejidos.
6. Capaz de eliminar por completo el barro dentinario
7. Baja tensión superficial
8. Capaz de desinfectar la dentina / túbulos dentinarios
9. Que no interfiera en la reparación de los tejidos periapicales
10. Que no tiña la estructura dentaria
11. Inactivo en un medio de cultivo
12. Que no induzca una respuesta inmune mediada por células; que sea limpio, no tóxico y no carcinogénico para tejidos celulares que rodean el diente.
13. Que no tenga efectos adversos en las propiedades físicas de la dentina expuesta.
14. Que no tenga efecto adverso en la capacidad de sellado de los materiales de relleno
15. Fácil de usar / aplicar
16. Bajo costo

Lamentablemente, no existe un irrigante que cumpla con todos los requisitos mencionados anteriormente. Además, las soluciones irrigantes poseen algunos efectos potencialmente dañinos. (Basrani and Haapasalo 2012) Es por esto que se requiere de más de una solución, cada una con una concentración, formulación, volumen y tiempo adecuados para actuar (Good et al. 2012). Por consiguiente, la irrigación óptima se basa en la combinación de dos o más irrigantes usados en una secuencia específica (Haapasalo et al. 2010).

A pesar de lo anteriormente descrito, luego de realizada la preparación quimiomecánica, algunos microorganismos pueden aun seguir sobreviviendo, por lo que se hace imprescindible la utilización de mecanismos adicionales que reduzcan el número de bacterias remanentes, mejorando el pronóstico del tratamiento endodóntico (Saatchi et al. 2014). La medicación intracanal al igual que la irrigación, es un coadyudante en la terapia endodóntica, y consiste en colocar un medicamento en los canales radiculares, que reduzca el número de bacterias remanentes mejorando el pronóstico del tratamiento endodóntico (Saatchi et al. 2014; Fuenzalida et al. 2017). Para este propósito, la clorhexidina (CHX) al 2% ha demostrado ser una sustancia con resultados favorables en infecciones persistentes.

Cuando se utiliza una combinación de irrigantes durante la terapia endodóntica, es posible que el primer irrigante utilizado no sea eliminado completamente del SCR antes de usar el siguiente. En consecuencia, éstos entran en contacto entre sí pudiendo formar subproductos (Basrani et al. 2007), como la Paracloroanilina (PCA), precipitado tóxico para el ser humano, que se forma al interaccionar Hipoclorito de Sodio (NaClO) y Clorhexidina (CHX) (Krishnamurthy and Sudhakaran 2010). Este precipitado no solo bloquea los canales laterales sino que también afecta el sellado de la obturación del canal (Orhan et al. 2016), por lo que se hace imprescindible el uso de un irrigante intermedio para prevenir su formación (Basrani and Haapasalo 2012; Gasic et al. 2012; Mortenson et al. 2012)

El protocolo de irrigación de la Clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile emplea suero fisiológico (NaCl 0,9%) como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2%. Sin embargo, un estudio *ex vivo* que evaluó el contenido residual de PCA aplicando este protocolo reveló que existe presencia de PCA en las últimas fases del tratamiento endodóntico (Alegre 2014). Por lo tanto, el propósito de esta investigación es determinar si en un tratamiento endodóntico realizado con este protocolo de irrigación se puede evitar la formación de PCA usando peróxido de hidrógeno al 3% como irrigante intermedio entre NaClO 5% y CHX 2%.

MARCO TEORICO

Como se mencionó anteriormente, el uso de irrigantes es un procedimiento fundamental en el pronóstico del tratamiento endodóntico. Sin embargo, hasta hoy, no existe uno que cumpla con todos los requisitos para asegurar el éxito del tratamiento.

Dentro de las soluciones irrigantes usadas en la actualidad están: Hipoclorito de Sodio (NaClO), Clorhexidina (CHX) y Ácido etildiaminotetraacético (EDTA) (Karkehabadi et al. 2018). A continuación se revisarán las características de los irrigantes más utilizados.

1. Hipoclorito de Sodio (NaClO)

El NaClO es un compuesto halogenado, que rutinariamente se utiliza en tratamientos endodónticos (Abuhaimed and Neel 2017), es el irrigante más usado por ser eficaz contra los microorganismos patógenos que invaden el SCR y por su capacidad de degradación del tejido orgánico vital o necrótico (Basrani and Haapasalo 2012).

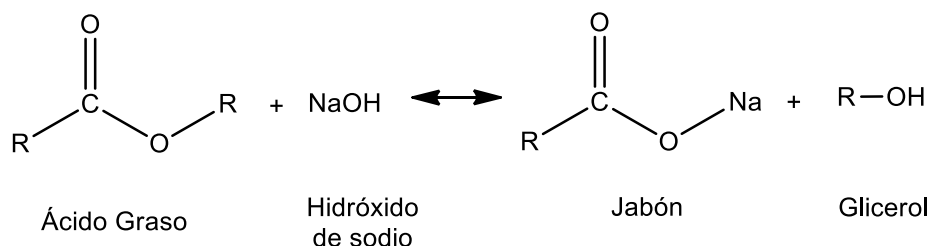
Este presenta un equilibrio dinámico como lo presenta la ecuación:

Figura N°1:



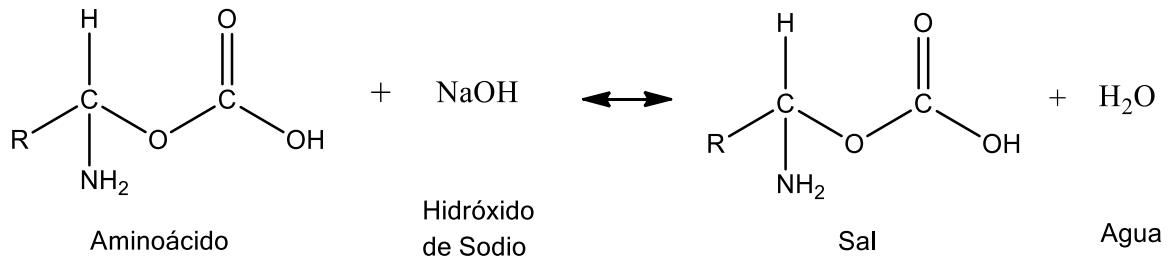
El NaClO actúa como un solvente orgánico, que degrada los ácidos grasos, transformándolos en sales de ácidos grasos (jabón) y glicerol (alcohol), reduciendo la tensión superficial de la solución remanente.

Figura N°2: Reacción de saponificación



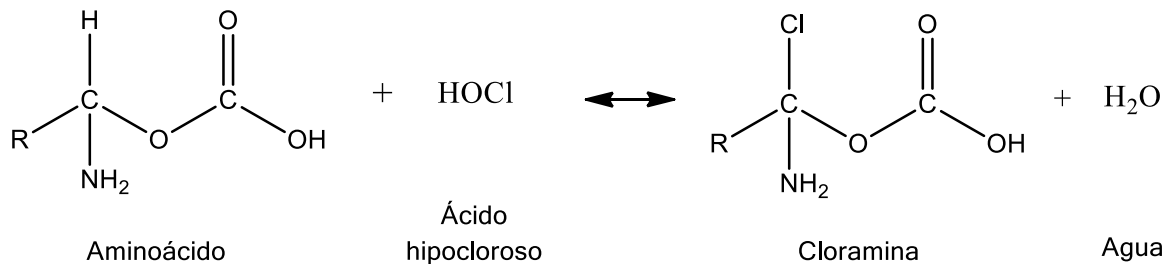
También neutraliza los aminoácidos formando agua y sal (Figura N°3). Los aminoácidos, a través de su grupo Carboxilo entregan protones, por lo que al estar en contacto con la base (NaOH) se forma la sal (Neutralización) (Estrela et al. 2002; Alegre 2014).

Figura N°3: Reacción de neutralización.



La reacción de cloraminación entre el cloro y el grupo amino (NH) forma cloraminas que interfieren en el metabolismo celular.

Figura N°4: Reacción de cloraminación



El ácido hipocloroso, una sustancia presente cuando el hipoclorito está en equilibrio, actúa como disolvente cuando está en contacto con el tejido orgánico, libera cloro que, combinado con el grupo de la proteína amino, forma cloramina (Figura N°4). Este presenta una fuerte acción antibacteriana comparada con el ClO^- , debido a su capacidad para interrumpir la fosforilación oxidativa y otras actividades asociadas a la membrana celular, así como también ejerce un efecto inhibitorio rápido sobre la función mitocondrial y la síntesis de ADN de las bacterias. (Estrela et al. 2002; Abuhaimed and Neel 2017)

El cloro libre en NaClO , que es un fuerte agente oxidante, disuelve tejidos vitales y necróticos mediante proteólisis. El cloro causa una oxidación irreversible

de los grupos -SH de enzimas esenciales, alterando las funciones metabólicas de la célula bacteriana (Priyank et al. 2017).

Es por esto que es eficiente disolviendo los compuestos orgánicos de la dentina. Tiene un amplio espectro antimicrobiano contra bacterias, bacteriófagas, esporas, levaduras y virus (Good et al. 2012) tales como microorganismos de difícil erradicación y biofilms de especies como *Enterococcus*, *Actinomyces* y *Candida*. (Rahimi et al. 2014) Sin embargo, su capacidad para remover la parte inorgánica es limitada.

Entre los agentes microbianos de difícil eliminación está el *Enterococcus faecalis*, bacteria anaeróbica, asociada a periodontitis apical y resistente a una amplia gama de agentes antimicrobianos y de difícil eliminación del SCR. (Priyank et al. 2017).

El NaClO cuando es utilizado como irrigante, requiere una concentración entre 0,5 y 6 % y un pH alcalino con valores alrededor de 11. (Fuenzalida et al. 2017). Algunos estudios *in vitro* han demostrado que el NaClO al 5,25% es más efectivo contra *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* (microorganismos comúnmente presentes en las infecciones endodónticas persistentes), que cuando es utilizado al 0,5%, 1%, 2,5% y 4% (Radcliffe et al. 2004)

Sin embargo, se ha demostrado que su concentración es directamente proporcional a su toxicidad (Gomes et al. 2001) por lo que a altas concentraciones es tóxico y causa inflamación periapical, mientras que a bajas concentraciones es ineficaz contra microorganismos específicos (Krishnamurthy and Sudhakaran 2010).

Tabla 2: Desventajas del NaClO (Basrani et al. 2007; Haapasalo et al. 2010; Krishnamurthy and Sudhakaran 2010)

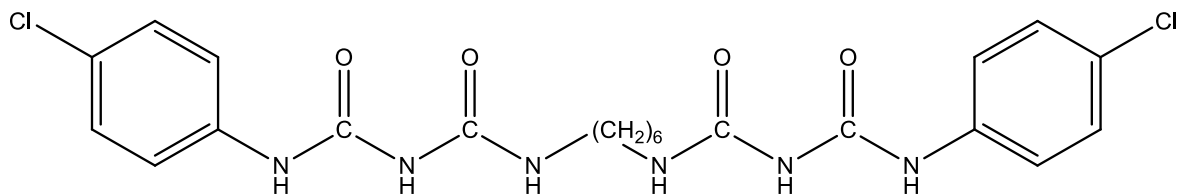
1. Tóxico
2. No presenta sustentividad antimicrobial
3. Corrosión de instrumental
4. Sabor y olor desagradable
5. Inflamación de tejidos periapicales
6. Sólo remueve la parte orgánica del barro dentinario

2. Clorhexidina (CHX)

La clorhexidina (CHX) es una bisguanida catiónica, una base estable como sal, aunque se disocia en agua a un pH fisiológico, liberando el componente con carga positiva (Mohammadi et al. 2017).

Su fórmula estructural consiste en dos anillos simétricos de 4-clorofenil y dos grupos de bisguanida conectados a una cadena central de hexametileno. (Gomes et al. 2013)

Figura N° 5:



La CHX es un agente antimicrobiano de amplio espectro, usada en odontología por ser efectiva contra bacterias gram-positivas y negativas, y levaduras. También utilizada por su sustentividad y su baja toxicidad (Mohammadi et al. 2015). Por otro lado, según los resultados de Schäfer y Bössmann la clorhexidina tiene una excelente eficacia contra *E. feacalis*, inhibiendo su crecimiento por días.

Su mecanismo de acción puede ser explicado mediante su interacción con la membrana celular de las bacterias (Bernardi and Teixeira 2015), unión electrostática entre las moléculas catiónicas y las de cargas negativas en la pared celular produce que la CHX ejerza una acción bactericida, resultando en una precipitación y coagulación de las proteínas citoplasmáticas y por consecuencia, muerte celular. Dependiendo de su concentración puede tener acción bacteriostática o bactericida. En altas concentraciones, la CHX actúa como un detergente y daña la membrana celular. En bajas concentraciones, la CHX es bacteriostática, causando la salida de sustancias de bajo peso molecular, como potasio y fósforo, sin producir un daño irreversible en la célula.(Basrani and Haapasalo 2012; Saatchi et al. 2014; Bernardi and Teixeira 2015)

Esta reacción reversible de captación y liberación de CHX conduce a una actividad antimicrobiana denominada "sustantividad". Este efecto depende de la concentración de CHX. (Basrani and Haapasalo 2012), Se ha recomendado que la propiedad de la sustantividad de CHX se debe aprovechar en endodoncia a través de su uso como un irrigante final porque su efecto residual puede permanecer hasta 12 semanas.(Bernardi and Teixeira 2015)

Actualmente, la CHX se considera el *gold standar* de los antisépticos orales y es, junto con el fluoruro, el agente preventivo más ampliamente investigado en odontología. Además de sus efectos sobre la placa dental y la gingivitis, CHX es eficaz en la prevención y el tratamiento de la caries; Infecciones secundarias a procedimientos quirúrgicos orales, y en el mantenimiento de la salud de los tejidos periimplantarios. Se ha utilizado en endodoncia como sustancia irrigante o como medicamento intracanal solo o en combinación con hidróxido de calcio, entre otros usos.(Gomes et al. 2013)

La CHX se usa como irrigante endodóntico en concentraciones de 0,2% a 2%. Se ha utilizado como agente antiséptico de rutina en el control de la placa dental y en la reducción de la microbiota endodóntica durante la irrigación del canal radicular sin eliminar endotoxinas. La molécula de CHX plantea un riesgo sistémico debido a que, al descomponerse, genera subproductos reactivos tales como paracloroanilina (PCA). (Onetto et al. 2015)

Las principales ventajas de la clorhexidina sobre el NaClO son su menor citotoxicidad, la sustentividad y no teniendo mal olor y mal sabor.

A pesar de su utilidad como irrigante, no se puede recomendar la CHX como irrigante principal debido a: (Abraham et al. 2015)

- ✗ CHX es menos eficaz en gram negativos que en bacterias gram positivas.
- ✗ CHX no puede disolver los restos de tejido necrótico

Siendo esta última su mayor desventaja al compararla con otros irrigantes endodónticos. (Haapasalo et al. 2010; Rahimi et al. 2014)

Debido a sus falencias mencionadas anteriormente es que se ha sugerido que la CHX no sea un irrigante de reemplazo del NaClO sino un paso de irrigación final suplementario después de irrigar con NaClO y EDTA. (Bui et al. 2008)

3. Ácido etildiaminotetraacético (EDTA)

Los agentes quelantes se introdujeron en la endodoncia como ayuda para la preparación de canales estrechos y descalcificados, por Nygaard –Ostby en 1957, quien recomendó el uso de 15% de EDTA a pH 7.3. (Vineet et al. 2014)

Tabla 3: Características de las soluciones descalcificantes (Basrani and Haapasalo 2012)

- | |
|--|
| • Remueve el componente inorgánico del barro dentinario |
| • Remueve el barro dentinario después de irrigar con NaClO |
| • Contribuye con la eliminación bacteriana del canal radicular |
| • Al combinar irrigantes, se amplía el espectro antimicrobiano |
| • Desmineraliza la dentina (20 – 50 µm) |
| • Baja toxicidad |

El EDTA es un ácido poliprótico, de fórmula molecular $C_{10}H_{16}N_2O_8$, cuyas sales de sodio son agentes no coloidales que pueden formar quelantes no iónicos con iones metálicos (Basrani and Haapasalo 2012; Fuenzalida et al. 2017). Es un

agente quelante utilizado para la disolución de componentes inorgánicos resultantes de la erosión de la dentina peritubular e intertubular. (Lantigua Domínguez et al. 2018)

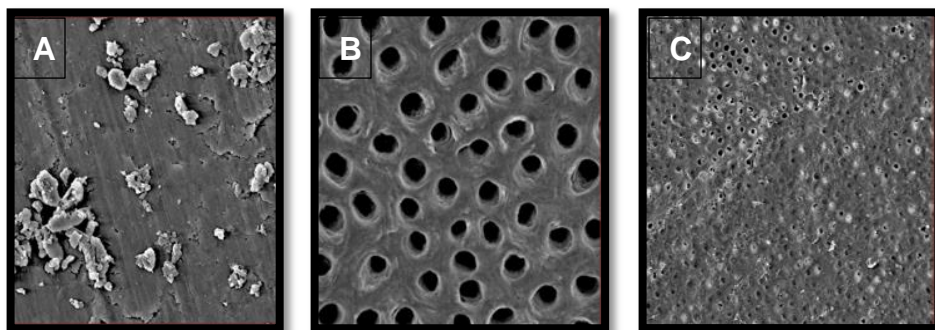
El EDTA a menudo se sugiere como irrigante ya que puede quelar y remover la porción mineralizada del barro dentinario. Su prominencia como agente quelante surge de su capacidad para "secuestrar" iones metálicos di- y tricatiónicos como el Ca^{+2} y el Fe^{+3} . El EDTA reacciona con los iones de calcio en la dentina formando quelatos de calcio solubles. (Basrani et al. 2007; Vineet et al. 2014)

Normalmente es utilizado en soluciones de concentraciones entre 10% - 17%, y su pH ha sido modificado de valores de 4 a valores entre 7 y 8 incrementando su capacidad quelante. (Fuenzalida et al. 2017)

Con la exposición directa durante un período de tiempo prolongado, el EDTA extrae proteínas de la superficie bacteriana combinándolas con iones metálicos de la envoltura celular, lo que eventualmente puede conducir a la muerte bacteriana. (Basrani et al. 2007)

Ácido etildiaminotetraacético (EDTA) remueve efectivamente el componente inorgánico del barro dentinario (Karkehabadi et al. 2018) cuando se combina con NaClO , el EDTA aumenta su efectividad en la eliminación de este al desmineralizar los componentes inorgánicos de la dentina. (Lantigua Domínguez et al. 2018) (Figura N° 6)

Figura N°6:



(Figura N°6) A. Irrigación con NaClO , no remueve el barro dentinario. B. Al irrigar con EDTA (o ácido cítrico), posterior al NaClO , se remueve el barro dentinario. C. EDTA por sí solo no remueve completamente el barro dentinario. (Haapasalo et al. 2012)

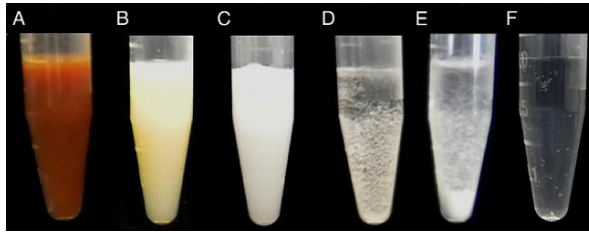
El efecto del EDTA en la dentina depende de la concentración de la solución y del tiempo que dura en contacto con ella (Abraham et al. 2015). Çalt y Serper (2002) mostraron que el EDTA después del NaClO elimina completamente la capa de barro dentinario en 1 minuto. Cuando se aplica EDTA durante 10 minutos, se observan efectos erosivos excesivos con la disolución de la dentina peritubular e intertubular. Según sus hallazgos, para inhibir la erosión de la dentina, la solución de EDTA no debe aplicarse durante más de 1 minuto.

Debido a que la solución de EDTA tiene un fuerte efecto desmineralizador, provoca el agrandamiento de los túbulos dentinarios, el reblandecimiento de la dentina y la desnaturalización de las fibras de colágeno. Estos efectos pueden causar dificultades en la adaptación de los materiales de relleno del canal radicular a la pared del canal radicular (Çalt and Serper 2002). Se ha demostrado que el volumen de irrigación no afecta la calidad de remoción del barro dentinario. Se verificó que 1 mL de EDTA por 1 minuto en contacto con la pared del canal radicular, es tan efectivo como utilizar 10 mL de solución a una misma concentración.

4. Interacción entre irrigantes

Ningún irrigante puede eliminar completamente tejido orgánico e inorgánico y al mismo tiempo impartir actividad antibacteriana durante la terapia del canal radicular (Byström and Sundqvist 1981; Peters 2004). Por lo anterior la irrigación en endodoncia involucra la combinación de dos o más sustancias en una secuencia específica para lograr una desinfección óptima del SCR (Haapasalo et al. 2010)

Se ha demostrado que cuando se usa una combinación de irrigantes, la primera solución irrigante utilizada no es completamente eliminada del SCR antes de aplicar la siguiente. Como resultado, los irrigantes entran en contacto unos con otros en el interior del canal radicular pudiendo formar subproductos (Prado et al. 2013; Fuenzalida et al. 2017). Estos subproductos pueden ser tóxicos para los tejidos periapicales y formar precipitados que pueden obliterar los túbulos dentinarios interfiriendo con la desinfección y el sellado del SCR (Krishnamurthy and Sudhakaran 2010; Rossi-Fedele et al. 2012).

Figura N° 7:

(Figura N°7) Aspecto visual de las siguientes interacciones: (A) 5,25% NaClO y 2% CHX; (B) 0,16% NaClO y 2% CHX; (C) 17% EDTA and 2% CHX; (D) Suero y 2% CHX; (E) Alcohol y 2% CHX; (F) 5,25% NaClO y 17% EDTA. (Prado et al. 2013)

Se han sugerido distintos 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.

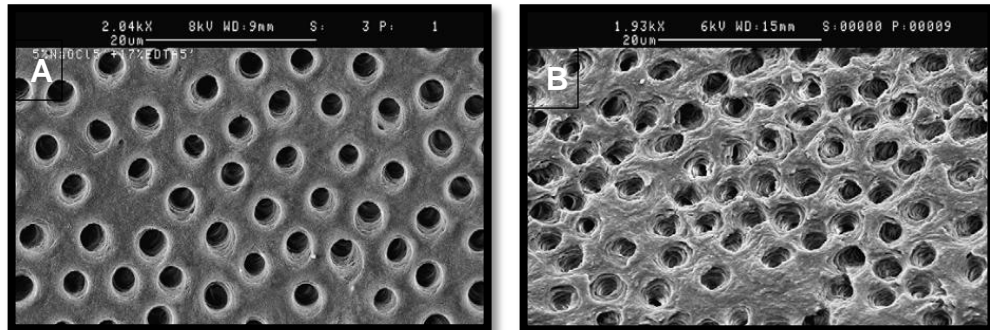
La reacción entre NaClO y el EDTA es exotérmica, su mezcla produce un precipitado blanco y resulta en una rápida disminución del cloro libre. Además se ha observado formación de gas debido a esta combinación, y se han medido bajos niveles de cloro en las emisiones gaseosas. Esta interacción se atribuye a la reacción ácido-base entre el NaClO y el EDTA. (Fuenzalida et al. 2017; Wright et al. 2017)

Grawehr et al. 2003 concluyeron que el EDTA conserva su habilidad de retener el complejo de calcio cuando se mezcla con NaClO, pero la disminución del cloro libre, reduce significativamente la capacidad del NaClO de disolver tejido orgánico. Por lo tanto, estos irrigantes deberían utilizarse de forma separada. (Vineet et al. 2014; Wright et al. 2017).

Una disminución sustancial en el contenido de cloro activo ocurre incluso con pequeñas concentraciones de EDTA. Por lo tanto, es evidente que el EDTA puede desactivar el hipoclorito de sodio antes de la irrigación o la medicación con clorhexidina y evitar la formación de PCA. (Fuenzalida et al. 2017)

La irrigación a corto plazo con hipoclorito después de EDTA al final de la preparación quimomecánica causa una fuerte erosión en la dentina de la superficie de la pared del canal (Vineet et al. 2014) (Figura N°8). Es por esto que el EDTA no debe utilizarse hasta el final del tratamiento como enjuague final. (Haapasalo et al. 2012)

Figura N° 8:



(Figura N°8) A. Pared del canal después de irrigar con NaClO y luego EDTA. B. Pared del canal después de irrigar con NaClO posterior al EDTA. (Haapasalo et al. 2012)

González-López et al. (2006) y Rasimick et al. (2008) demostraron que era difícil obtener una solución homogénea cuando se mezcla CHX con EDTA. Prado et al. (2013) mostró que esta mezcla produce un precipitado blanco lechoso, relacionado con las reacciones ácido-base. Esta reacción da como resultado una sal que puede obliterar los túbulos dentinarios, pudiendo interferir en la correcta desinfección y sellado del SCR, y al parecer la capacidad del EDTA de remover el barro dentinario se ve disminuida (Vineet et al. 2014)

5. Interacción entre NaClO y CHX

El uso combinado de NaClO y CHX se ha recomendado para mejorar sus propiedades antimicrobianas. En otras palabras, un enjuague final con CHX ofrece la ventaja de la sustentividad que prolonga la actividad antimicrobiana de CHX (Orhan et al. 2016).

Cuando CHX y NaClO se mezclan, se forma un precipitado que puede presentar consecuencias perjudiciales para el tratamiento endodóntico, incluido el riesgo de decoloración y la posible lixiviación de productos químicos no

identificados en los tejidos perirradiculares. Esta reacción química produce PCA, una sustancia naranja que para algunos autores es una amina aromática. El 2007 Basrani et al. llevó a cabo un estudio sobre la interacción de CHX y NaClO, centrándose en la PCA. En este estudio, se mostró la reacción inmediata entre estas sustancias, incluso cuando se usan concentraciones bajas de hipoclorito (0.19%). En dicho estudio se mostró que a medida que aumentaban las concentraciones de NaClO, el precipitado aumentaba en coloración y grosor, ya que dependía directamente de la concentración de hipoclorito de sodio.(Fuenzalida et al. 2017)

La PCA es mutagénica y citotóxica en microorganismos, es tóxica al ser inhalada, digerida o en contacto con la piel y también se ha demostrado que tiene potencial carcinogénico. La Agencia internacional de Investigación sobre el Cáncer la ha incluido en la lista de sustancias altamente cancerígenas para los humanos (Mohammadi et al. 2015)

La desventaja de la formación de PCA en la endodoncia es que este precipitado cubre los túbulos dentinarios, comprometiendo la permeabilidad dentinaria lo que interfiere con la medicación intracanal y con la obturación del SCR (Krishnamurthy and Sudhakaran 2010; Orhan et al. 2016)

6. Irrigantes intermedios

Los irrigantes intermedios pueden usarse entre los irrigantes principales (NaClO y CHX) para lavar el canal y diluir o remover el irrigante residual antes de utilizar otro diferente para evitar o disminuir las interacciones entre ellos (Rahimi et al. 2014). Para este propósito se han descrito otros irrigantes como agua estéril, suero fisiológico (NaCl 0,9%), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), peróxido de urea y compuestos yodados. Todos ellos, exceptuando los compuestos yodados, carecen de acción antibacteriana por sí solos o no tienen la capacidad de disolver tejido (Haapasalo et al. 2010).

7. Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

Es un compuesto altamente inestable que se descompone por el calor y la luz. El peróxido de hidrógeno es un líquido transparente e inodoro. Actúa liberando

oxígeno, al contacto con las enzimas del tejido se produce un efecto bactericida al interferir con el metabolismo bacteriano. Además, la liberación rápida de la efervescencia del oxígeno crea una acción burbujeante que se dice que ayuda en el desbridamiento mecánico al desalojar el tejido necrótico y los residuos de la dentina. (Abraham et al. 2015)

El peróxido de hidrógeno es usado al 3% debido a sus propiedades como antiséptico general, como desinfectante y a su acción efervescente. En odontología es utilizado como compuesto blanqueador a diferentes concentraciones, en el tratamiento de la pericoronaritis y en procesos gingivales agudos. Su mecanismo de acción está centrado en la reacción de iones superoxidantes y radicales libres hidroxilos que atacan la membrana lipídica, ADN y otros componentes celulares de las bacterias. (Jaña et al. 2010)

En odontología, el peróxido de hidrógeno al 3% se ha utilizado principalmente para mejorar la recuperación de la cirugía gingival y para reducir la placa, así como los niveles de organismos microbianos involucrados en la enfermedad periodontal (Marshall et al. 1995). Sin embargo, a concentraciones más altas, el peróxido de hidrogeno es tóxico para los tejidos. Pero a pesar de ello las concentraciones que van del 1 al 30% se usa en otras áreas de la odontología, mientras que el 3-5% se prefiere para los tratamientos endodónticos. Entre sus ventajas, se ha visto que es activo contra las bacterias, la levadura y los virus, sin embargo, su capacidad antimicrobiana y de disolución del tejido es pobre en comparación con el NaClO. (Abraham et al. 2015)

Muchos clínicos mezclan NaClO con peróxido de hidrógeno para irrigar los canales. A pesar de un burbujeo más vigoroso, debido a la evaporación del oxígeno, la eficacia de la mezcla no ha demostrado ser mejor que la del NaClO que cuando se usa individualmente, debido a una reacción química que resulta en la liberación de oxígeno. La ventaja de la producción rápida de oxígeno, puede ser también una complicación, ya que cuando el oxígeno reacciona con la sangre y los residuos de la pulpa, provoca una acumulación de presión que puede provocar un dolor intenso. (Vineet et al. 2014; Abraham et al. 2015) Esta reacción implica inactivación del peróxido de hidrógeno, pero también del hipoclorito, lo que podría

ser un medio para inactivar el hipoclorito de sodio residual en un tratamiento endodóntico utilizando como irrigante intermedio el peróxido de hidrogeno al 3%. (Patil and Uppin 2011; Basrani and Haapasalo 2012)

HIPÓTESIS

La utilización del Peróxido de hidrógeno al 3% como irrigante intermedio en un tratamiento endodóntico entre Hipoclorito de Sodio al 5% y Clorhexidina al 2% previene la formación de Para-cloroanilina.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si la formación de PCA puede ser evitada usando Peróxido de hidrógeno al 3 % como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y CHX al 2 %.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración de NaClO en cada etapa del tratamiento endodóntico.
- Determinar la concentración de NaClO durante la irrigación con NaCl 0,9%
- Determinar la concentración de NaClO durante la irrigación con Peróxido de Hidrógeno al 3%.
- Determinar la concentración de PCA formada al interaccionar NaClO con NaCl 0,9% , durante el tratamiento endodóntico
- Determinar la concentración de PCA formada al interaccionar NaClO con Peróxido de Hidrógeno al 3%, durante el tratamiento endodóntico

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Tipo de estudio

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

2. Muestra

El tamaño mínimo de una muestra depende de cuánto se desvía la distribución de la población de una distribución normal. Tamaños de muestra de 15 a 30 son adecuados si la población parece tener una distribución que no es lejana a la normal, en caso contrario se necesitan tamaños de muestra de 50, 100 o más altos (Triola 2004). Con un tamaño de muestra de $N=30$, la forma de la distribución de los coeficientes de correlación de la muestra es parecida a la de una distribución normal, donde solo el 0,25% de los valores de la muestra se desviará desde cero hasta en un ± 0.50 (Figura N° 9).

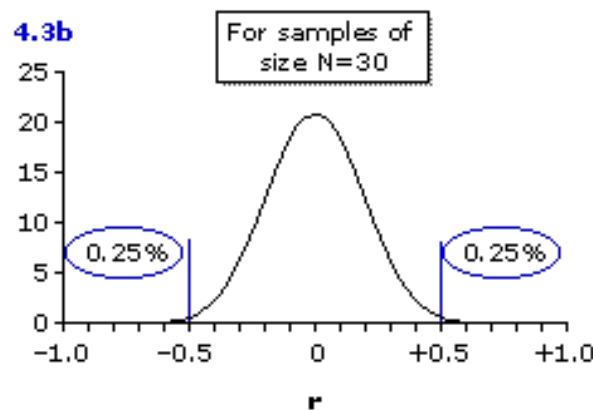


Figura N° 9: Gráfico de distribución de frecuencias

Se montó un modelo *ex vivo* de 30 dientes unirradiculares extraídos por indicación terapéutica. 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.

Estos dientes fueron limpiados, debridados, radiografiados y almacenados en NaCl al 0,9%. Previamente se explicó el procedimiento a los pacientes. Se pidió su autorización mediante un consentimiento informado; en caso de ser

menores de edad, un apoderado firmó la autorización. (Anexo 1)

Los dientes fueron divididos aleatoriamente en dos grupos: un grupo control que usó como irrigante intermedio suero fisiológico (N=10) y un grupo experimental que utilizó peróxido de hidrógeno al 3% (N=20).

A los dientes del grupo control se les realizó un tratamiento endodóntico de acuerdo al protocolo clínico de irrigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile detallado en el Anexo 2.

Mediante la aspiración con un dispositivo diseñado *ad-hoc* (Creación del Dr. Mauricio Ruiz Nolf) mostrado en la figura 10 y descrito en el anexo 3, se recolectaron las diferentes soluciones producidas durante las 13 fases del tratamiento.

Figura N° 10:



Dispositivo toma de muestras Dr. Mauricio Ruiz Nolf

3. Materiales

A continuación se detallan los materiales empleados durante los procedimientos clínicos (Tabla 4) y aquellos materiales y reactivos utilizados para realizar los procedimientos de laboratorio (Tabla 5).

Tabla 4: Materiales y reactivos para Procedimientos Clínicos	
<ul style="list-style-type: none"> • Turbina, micromotor y contrángulo convencionales W&H 	
<ul style="list-style-type: none"> • Dispositivo para la toma de muestras (Anexo 3) 	
<ul style="list-style-type: none"> • Piedras de diamante redondas de alta velocidad N°12 y N°14 SS White Burs, Inc. 1145 Towbin Avenue Lakewood, New Jersey 08701, USA. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Fresas carbide redondas de baja velocidad N°12 y N°14 SS White Burs, Inc. 1145 Towbin Avenue Lakewood, New Jersey 08701, USA. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Fresas Endo Z de baja velocidad Dentsply-Maillefer, Chemin du Verger 3, 1338 Ballaigues, Suisse. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Fresas Gates Glidden N° 1-2-3 MANI, INC. 743 Nakaakutsu, Takanezawa, Shioya, Tochigi 329-1234, Japan. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Jeringas de Irrigación Monoject Covidien lic, 15 Hampshire, Mansfield, MA 02048 USA. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Limas tipo Kerr 1era y 2da Serie Dentsply-Maillefer, Chemin du Verger 3, 1338 Ballaigues, Suisse. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Hipoclorito de Sodio 5% NaOCl, Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103, USA. 	
<ul style="list-style-type: none"> • Clorhexidina Digluconato solución tópica 2% Chlorhexidine digluconate solution 20% in H2O, Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103, USA. 	

<ul style="list-style-type: none"> • EDTA 10% EDTA, Merck Millipore, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany.
<ul style="list-style-type: none"> • Cloruro de Sodio 0,9% J.T.Baker, Mallinckrodt Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, 55320, Edo de Mex. Mexico, USA.
<ul style="list-style-type: none"> • Peróxido de Hidrógeno al 3% (PEDROGEN™ 30%) SIGMA-ALDRICH., 3050 Sprucec Street, St. Louis, MO 63103 USA
<ul style="list-style-type: none"> • Fermin DETAX GmbH & Co. KG, Carl-Zeiss-Str. 4 76275 Ettlingen, Germany.
<ul style="list-style-type: none"> • Vidrio Ionómero de autocurado DENTSPLY DeTrey GmbH 78467, Konstanz, Germany.

Tabla 5: Materiales y reactivos para Procedimientos de Laboratorio

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.

<ul style="list-style-type: none"> • Tubos Eppendorf 1,5 MI Biologix Group Limited, No.2766 Ying Xiu Road, High-Tech Industrial Development Zone Jinan, Shandong 250101 P.R., China.
<ul style="list-style-type: none"> • Micropipetas 100 y 1000 Labopette® Hirschmann, Inc. Holloway Road, Suite 104 Bluegrass Industrial Park · Louisville, KY 40299, USA.
<ul style="list-style-type: none"> • Centrífuga Hermle z216 MK HERMLE Labortechnik GmbH, Siemensstr 25 D-78564, Wehingen, Alemania.
<ul style="list-style-type: none"> • Ácido Clorhídrico J.T.Baker, Mallinckrodt Baker, S.A. de C.V. Xalostoc, 55320, Edo de Mex. Mexico, USA.

<ul style="list-style-type: none"> • Nitrito de Sodio Merck Millipore, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Alemania.
<ul style="list-style-type: none"> • Sulfamato de Amonio Sigma-Aldrich Chemie GmbH Munich, Germany.
<ul style="list-style-type: none"> • Naftil etilindiamina dihidrocloruro Sigma-Aldrich 3050 Spruce St. St. Louis, MO 63103, USA.
<ul style="list-style-type: none"> • Alcohol 96% Merck Millipore, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Alemania.
<ul style="list-style-type: none"> • Espectrofotómetro UNICAM®UV/VIS Thermo Spectronic Unicam UV-530 UV-Visible, Rochester, NY, USA.
<ul style="list-style-type: none"> • Cubetas de cuarzo 1cc Scientech, Inc. 5649 Arapahoe Avenue Boulder, CO 80303-1399, USA.

4. Procedimientos clínicos

Las muestras del grupo control se recolectaron durante 13 fases:

- Fase 1: Se realizó la cavidad de acceso endodóntico con piedra de diamante de alta velocidad (0.12, 0.14, 0.16) en esmalte, de acuerdo al tamaño de la cámara pulpar del diente, refrigerando hasta llegar a dentina. En dentina se cortó 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 comunicó se irrigó con NaClO al 5% con *Jeringa Irrigación Monoject* 3ml (recolectando parte de la primera muestra). Se realizó el destechamiento con la misma fresa con movimientos de tracción de adentro hacia afuera. Una vez finalizado el destechamiento, se realizó 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%.

La siguiente etapa en el acceso fueron 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 fueron realizados con una fresa llama o *Endo-Z* de baja velocidad.

→ Recolección N° 1 (Inmediatamente después de comunicar, luego de permeabilizar el canal y al finalizar los desgastes compensatorios).

Fase 2: Preparación del tercio cervical y medio (Crown Down) con fresas Gates-Glidden en una secuencia que se eligió de acuerdo al calibre del canal en los tercios cervical y medio. Las fresas fueron graduadas a los dos tercios de la longitud aparente del diente medido en la radiografía previa. La secuencia para canales amplios fue 3-2-1 y para canales medios fue 1-2-1 irrigando con NaClO al 5% entre cada Gates.

→ Recolección N° 2: 1 mL luego de utilizar cada *Fresa Gates-Glidden*.

Luego 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 y esa longitud fue definida como la longitud real del diente LRD, definiéndose la LT a -1mm de la LRD.

- Fase 3: Durante la preparación del tercio apical hasta la Lima Maestra (LM) se irrigó con NaClO al 5 % entre cada paso de lima. Para canales medios se definió LM #35 y para canales amplios LM #45.

→ Recolección N° 3: Al finalizar con cada lima se fue recolectando parte de la muestra.

- Fase 4: Durante el Retroceso (Step-Back): desde la LM hasta alcanzar el diámetro de la última *fresa Gates Glidden* utilizada al realizar el Crown Down (en la mayoría de los casos coincide con la fresa Gates Glidden #1 diámetro #50). Con esto se consiguió 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.

→ Recolección N°4: Al finalizar con cada lima se fue recolectando parte de la

muestra.

En cada una de estas fases se irrigó con 1 jeringa (3mL) con NaClO 5% y se recolectó lo producido. Luego se secó el canal con conos de papel estériles de acuerdo a su calibre.

- Fase 5, 6 y 7. Irrigación (IRR) con 3 jeringas de 3 ml cada una con suero fisiológico. → Recolección N° 5, 6 y 7

Luego se volvió a secar con conos de papel el SCR.

- Fase 8: IRR con 1ml de EDTA al 10% durante 1 minuto.

→ Recolección N° 8

Se volvió a secar con conos de papel el SCR.

- Fase 9, 10 y 11. IRR con 3 jeringas de 3 ml cada una con suero fisiológico.

→ Recolección N° 9, 10 y 11.

- Fase 12: IRR con CHX al 2% con 1 jeringa de 3 ml.

→ Recolección N° 12.

Se obturó la cavidad de acceso del diente con doble sellado (*Fermín* y Vidrio Ionómero de autocurado) y se selló el ápice con cera rosada. Luego, se puso el diente con suero fisiológico y estufa a 37° C por una semana (tiempo habitual de medicación intracanal), simulando las condiciones del medio oral.

- Fase 13: Pasados los 7 días, se volvió a ingresar al canal, retirando el sellado temporal de la cavidad de acceso con piedras de alta velocidad, bajo refrigeración con agua. Se irrigó con 1 jeringa (3ml) de clorhexidina 2% repasando con la LM.

→ Recolección N° 13: Inmediatamente al tener contacto con el canal y luego de repasar con la LM.

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

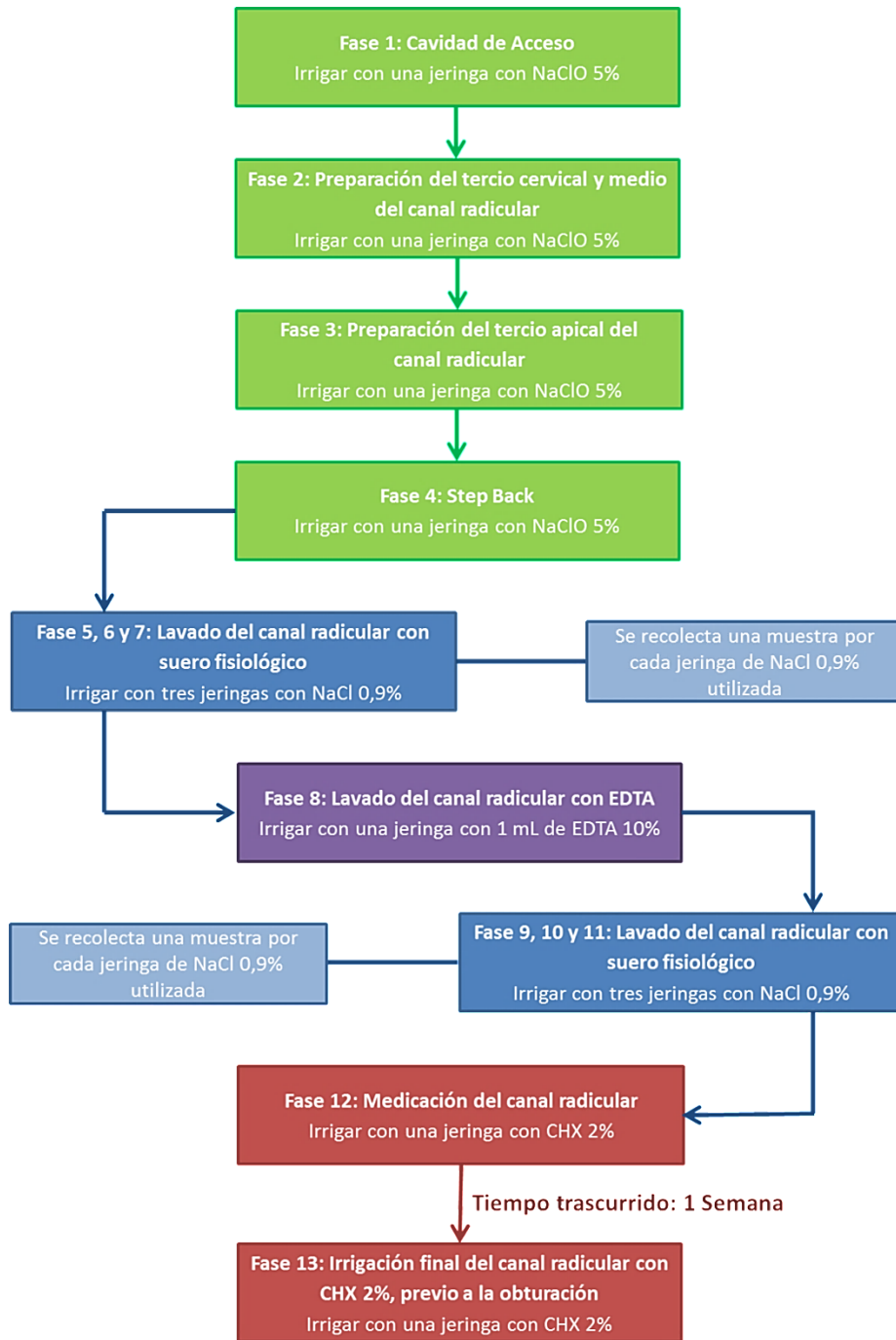


Figura N° 11: Flujograma de las fases del tratamiento endodóntico de acuerdo al protocolo clínico de irrigación de la FOUCH.(Quiroz 2015)

A los dientes del grupo experimental se les aplicó el mismo protocolo clínico de irrigación descrito anteriormente, pero en ellos **se sustituyó el suero fisiológico por Peróxido de hidrógeno al 3%**. El peróxido de hidrógeno al 3% fue utilizado en el mismo volumen que el suero fisiológico, es decir, el equivalente

a tres jeringas de irrigación de 3mL, cada vez que corresponda según el protocolo.

5. Procedimientos de laboratorio

Las muestras de las fases del tratamiento fueron trasladadas a tubos Eppendorf (1,5 ml) y centrifugados a 10.000 rpm durante 5 minutos, para precipitar posibles residuos presentes y posteriormente se procedió a su análisis químico.

Las fases específicas del tratamiento endodóntico en las que fueron medidas las concentraciones de NaClO y PCA, se muestran en la Tabla N° 6

Tabla N°6: Fases del tratamiento endodóntico donde se midieron las concentraciones de NaClO y PCA.

	Fase del tratamiento endodóntico											
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13
NaClO	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
PCA											X	X

a. Determinación de la concentración de NaClO:

Las concentraciones de NaClO se determinaron espectrofotométricamente, mediante la ecuación de la curva utilizada en los estudios de Quiroz 2015 y Reyes 2015, en el Anexo 4 se describe de forma más detallada el método utilizado para determinar la concentración del NaClO en las muestras recolectadas.

Se utilizó la siguiente ecuación, para determinar la concentración con la absorbancia de cada muestra.

$$A = 15,2393 \times [\text{NaClO}] - 0,032; R^2 = 0,993165$$

b. Determinación del espectro de absorción y concentración de H₂O₂:

Se tomó 1 mL de solución de H₂O₂ al 3%, se leyó su absorbancia (A) en el rango UV-visible (200-800 nm) y luego se graficaron los datos obtenidos para obtener su curva espectral. Los altos niveles de absorbancia no permitieron

determinar el lambda máximo (λ_{max}). Por lo tanto, a partir de la solución de H_2O_2 al 3% se realizaron una serie de diluciones seriadas, obteniendo así soluciones de concentración conocida. En estas diluciones se determinó la longitud de onda a la cual el H_2O_2 tiene máxima absorbancia, el λ_{max} , y se construyó la curva espectral del H_2O_2 . (Gráfico N°1)

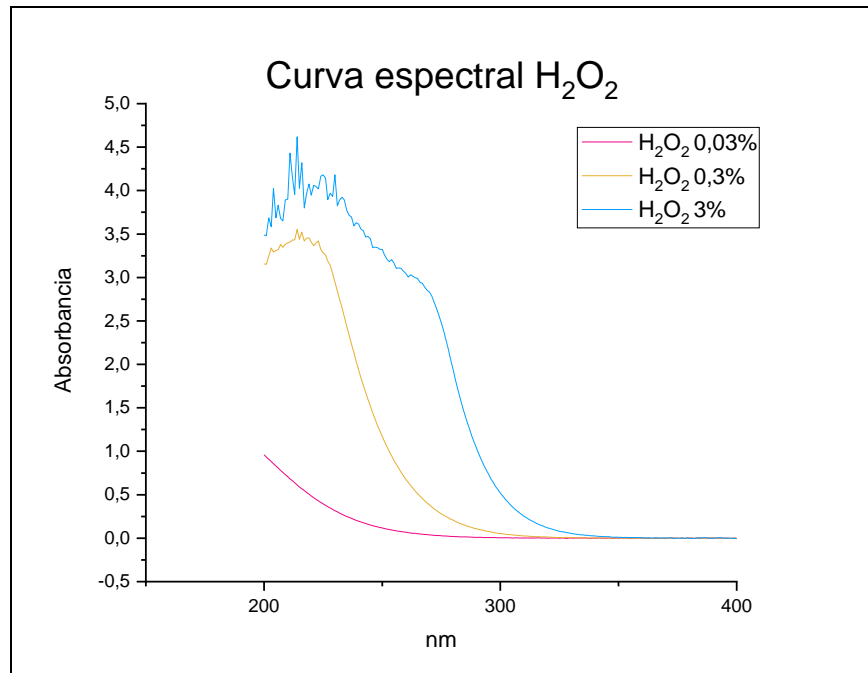


Gráfico N°1: Espectros de Absorción de H_2O_2 al 3% y diluciones a distintas concentraciones. λ_{max} : 214 nm.

Al mezclar H_2O_2 al 3%, con diluciones acuosas de NaClO, que van del 5% al 0,0005%, se distorsionó el espectro de absorción típico del NaClO demostrando que ambos compuestos reaccionaban entre sí lo que debía considerarse cuando se calculara su concentración por espectrofotometría.

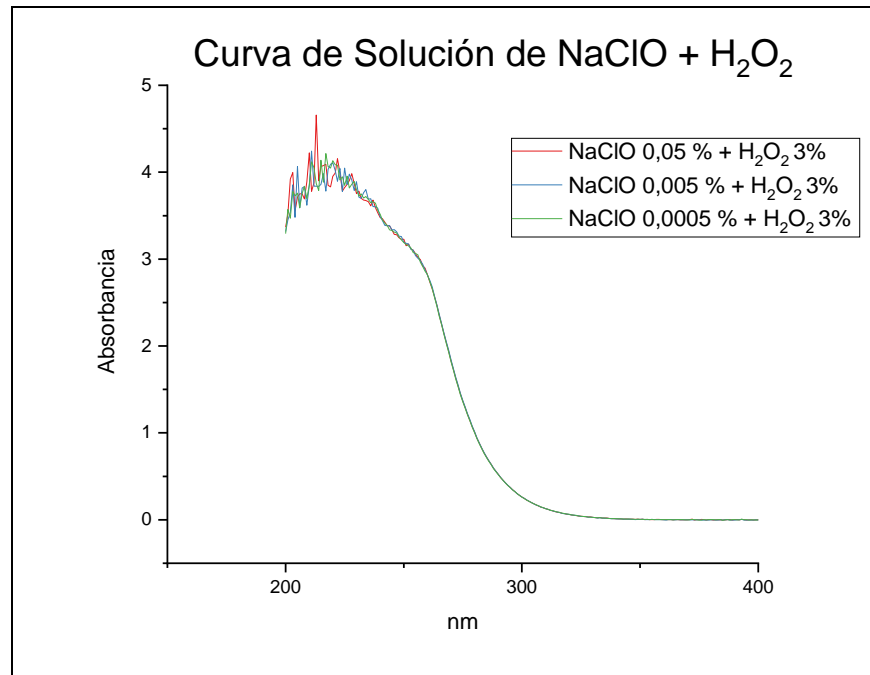


Gráfico N°2: Espectro de Absorción del NaClO a distintas concentraciones con H₂O₂ al 3%.

Se determinaron factores de conversión obtenidos de los análisis espectrofotométricos para desagregar los valores de absorbancia del H₂O₂ al 3% y del NaClO así poder determinar los valores de absorbancia de cada compuesto.

c. Determinación del espectro de absorción y concentración 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 250 μ L Ácido Clorhídrico diluido (73g/L) y se diluyó hasta 2mL.

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

- 36 μ L de Nitrito de Sodio (solución 100g/L).

- 200 μ L de Sulfamato de Amonio (solución 50g/L).
- 500 μ L Naftil etilndiamina dihidrocloruro (solución 1g/L).
- 100 μ L de Alcohol (Solución Etanol 96%).
- Se diluyó hasta 5 ml con agua y se dejó reposar por 30 minutos.

El protocolo fue aplicado a 5 estándares de soluciones de PCA Aldrich ® de concentraciones conocidas y se observó un cambio de coloración (rojo- azul) de diferente intensidad según la concentración de PCA. Se leyó su absorbancia en el rango visible (350–800 nm) y con los datos obtenidos se construyó la curva espectral para determinar su λ_{max} (gráfico N° 3).

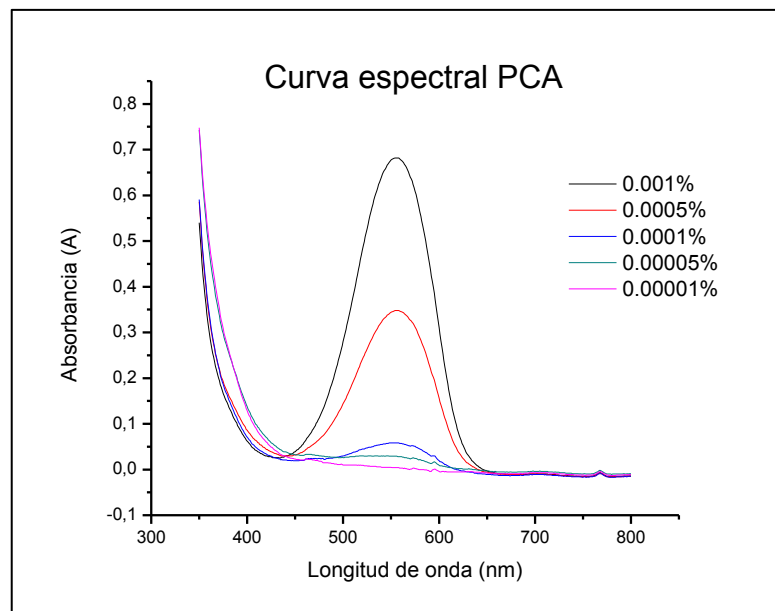


Gráfico N°3: Espectros de Absorción de soluciones de PCA a distintas concentraciones, luego de ser sometidos al protocolo de identificación de PCA.

$$\lambda_{max}: 552 \text{ nm.}$$

Con las soluciones estándares y el λ_{max} se construyó la curva de calibración, la cual se utilizó para determinar la concentración de PCA en las muestras recolectadas, a través de la ecuación $A=397,9570 \times [\text{PCA}] - 0,0239$ (Gráfico N°4).

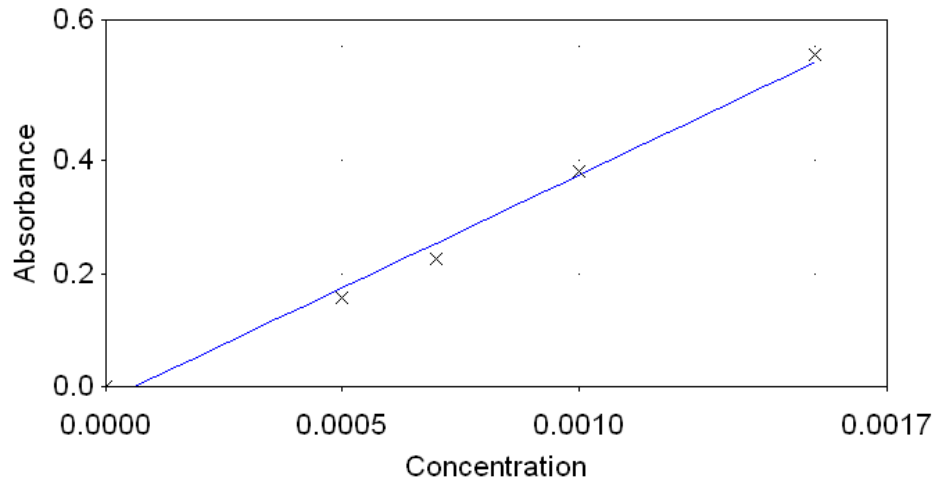


Gráfico N°4: Curva de calibración de PCA.

6. Análisis estadístico

Por medio del análisis de los resultados se buscó establecer diferencias entre las concentraciones de NaClO y PCA en el grupo control (suero fisiológico) con los valores del grupo experimental (Peróxido de hidrógeno al 3%). Los datos obtenidos fueron sometidos al test estadístico Shapiro-Wilk para determinar el tipo de distribución, el cual en las fases 2 y 3 dio con normalidad por lo que se les aplicó el Test T Student posterior al test para verificar si habían o no variancias, al resto de las fases se les aplicó el Mann-Whitney-Wilcoxon para establecer la significancia de las diferencias encontradas, estos análisis se realizaron utilizando el software estadístico STATA. Se fijó un intervalo de confianza del 95% aceptando diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Utilizando las curvas de calibración y los valores de absorbancia de las muestras se determinó la concentración de NaClO y PCA, en las distintas fases del tratamiento endodóntico bajo el protocolo de irrigación propuesto.

1. Concentración NaClO

Tabla N°7: Concentraciones de NaClO determinadas durante la preparación químico-mecánica (PQM) del canal radicular (fases 1-4).

Hipoclorito de Sodio (NaClO)					
	SUERO (Grupo Control)		Peróxido de Hidrógeno al 3% (Grupo Experimental)		Valor p
	Media	DS	Media	DS	
Fase 1	4,5166 %	0,2239	4,0968%	0,5983	0,02
Fase 2	4,4542%	0,2921	4,3718%	0,4363	0,594
Fase 3	4,5723%	0,2042	4,495%	0,4928	0,5501
Fase 4	4,6478%	0,1507	4,3573%	0,6514	0,1942

Fase 1: Cavidad de acceso. Fase 2: Preparación 1/3 cervical y medio. Fase 3: Preparación 1/3 apical. Fase 4: Step-Back. DS: Desviación estándar. p: Significancia.

La concentración inicial de NaClO del 5% disminuye posterior a la preparación químico-mecánica del canal radicular.

Tabla N°8: Concentración de NaClO en las fases 5, 6, 7, 9, 10, 11 durante la irrigación con NaCl 0,9% o Peróxido de Hidrógeno al 3%.

Hipoclorito de Sodio (NaClO)					
	SUERO		Peróxido de Hidrógeno al 3%		Valor p
	(Grupo Control)		(Grupo Experimental)		
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	
Fase 5	0,0302%	0,0169	0,0177%	0,0155	0,0820
Fase 6	0,005%	0,0036	0,0129%	0,0148	0,6518
Fase 7	0,0033%	0,0011	0,0119%	0,0151	0,3630
Fase 9	0,0043%	0,0023	0,0095%	0,0150	0,0634
Fase 10	0,0029%	0,0008	0,0117%	0,0148	0,3631
Fase 11	0,0063%	0,0074	0,0148%	0,0159	0,8577

Fase 5: Primera irrigación con NaCl 0,9% o H₂O₂ al 3%. Fase 6: Segunda irrigación con NaCl 0,9% o H₂O₂ al 3%. Fase 7: Tercera irrigación con NaCl 0,9% o H₂O₂ al 3%. Fase 9: Primera irrigación con NaCl 0,9% en el grupo control o H₂O₂ al 3% después del irrigar con EDTA. Fase 10: Segunda irrigación con NaCl 0,9% en el grupo control o H₂O₂ al 3% después del irrigar con EDTA. Fase 11: Tercera irrigación con NaCl 0,9% en el grupo control o H₂O₂ al 3% después del irrigar con EDTA. DS: Desviación estándar. *p*: Significancia.

La irrigación sucesiva con NaCl 0,9% en el grupo control y H₂O₂ al 3% en el grupo experimental, produce una disminución progresiva de la concentración promedio de NaClO de la Fase 9 a la Fase 11 del tratamiento endodóntico.

2. Concentración PCA

Utilizando la curva de calibración preparada con estándares de PCA y la absorbancia de las muestras luego de ser sometidas al protocolo de identificación de PCA, se determinó su concentración en las Fases 12 y 13 del tratamiento endodóntico posterior al uso de CHX al 2%.

Tabla N°9: Concentración de PCA determinada en las fases 12 y 13.

Paracloroanilina (PCA)					
	SUERO (Grupo Control)		Peróxido de Hidrógeno al 3% (Grupo Experimental)		Valor p
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	
Fase 12	0,0011%	0,0003	0,001%	0,0005	0,8073
Fase 13	0,00121%	0,0005	0,0013%	0,0003	0,5762

Fase 12: Primera irrigación con CHX 2%. Fase 13: Segunda irrigación con CHX 2%. DS: Desviación estándar. *p*: Significancia.

En la Fase 12, se evidencia menor concentración de PCA donde se utilizó peróxido de hidrógeno al 3% como irrigante intermedio, sin embargo no es estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Cada tratamiento endodóntico se realiza para solucionar un caso clínico distinto y todos tienen el objetivo de alcanzar el éxito terapéutico, a partir de la eliminación de los microorganismos del SCR, la remoción adecuada del tejido pulpar inflamado o necrótico y la prevención de una futura recontaminación. (Reyes 2015)

El uso de irrigantes en el tratamiento endodóntico es fundamental para lograr una completa limpieza y desinfección del canal radicular (Gatewood 2007), ya que la instrumentación mecánica por sí sola no es capaz de remover todo el 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 et al. 2014).

La solución ideal de irrigación endodóntica debe ser selectivamente tóxica y actuar como un agente antimicrobiano, pero con baja toxicidad en los tejidos perirradiculares (Karkehabadi et al. 2018). Actualmente no existe un solo irrigante que cumpla con todas las funciones requeridas, es por esto que una irrigación óptima se basa en el uso combinado de dos o más soluciones en una secuencia específica para obtener el éxito terapéutico (Haapasalo et al. 2010).

Zehnder (2006) propone un protocolo de irrigación que consiste en utilizar NaClO para disolver los componentes orgánicos, EDTA para eliminar el componente inorgánico y CHX para completar el espectro antimicrobiano y otorgar sustantividad durante el tratamiento endodóntico. Sin embargo, la mezcla de NaClO con otros irrigantes endodónticos, puede resultar no solo en una disminución de pH y concentración, sino que también en la formación de productos no deseados. Estos procesos tienen implicancias clínicas y tóxicas (Wright et al. 2017), pudiéndose complicar el tratamiento endodóntico por obliteración de túbulos dentinarios e interferencia en la limpieza y sellado de los canales radiculares (Krishnamurthy and Sudhakaran 2010, Quiroz 2015).

Se ha evidenciado que al usar NaClO en combinación con CHX, se logra un mejor efecto antimicrobiano dentro del SCR, que al usar ambos irrigantes por separado (Kuruvilla and Kamath 1998). Sin embargo, se produce una reacción ácido-base que da como resultado la formación de un precipitado insoluble que contiene Paracloroanilina (PCA) (Quiroz 2015; Farías 2017). Basrani et al. (2007) reporta que incluso a bajas concentraciones (0,23% NaClO), este producto se forma. (Fuenzalida et al. 2017)

La Paracloroanilina ha mostrado ser citotóxica en ratas y posiblemente carcinogénica en seres humanos (Quiroz 2015). Este precipitado es difícil de remover del SCR y tiñe las paredes del canal, causando la decoloración del diente comprometiendo la estética (Krishnamurthy y Sudhakaran, 2010).

Es por esto que es necesario evaluar distintos irrigantes intermedios que eviten o prevengan la formación de esta sustancia dentro del canal radicular, Riquelme et al. (2015) sugieren el uso de suero fisiológico o agua destilada como irrigantes intermedios para diluir el NaClO previo a la medicación con CHX.

El protocolo de irrigación aplicado en la Clínica de Endodoncia de la Universidad de Chile, corresponde al aplicado en el grupo control del presente estudio, y en él se emplea suero fisiológico como irrigante intermedio entre el NaClO y la CHX. En un estudio previo *ex vivo* que utilizó el mismo método usado en esta investigación para la detección de la PCA así como también el mismo protocolo de irrigación, usando NaCl al 0,9% como irrigante intermedio, reveló que existe presencia de PCA en las últimas fases del tratamiento, luego de irrigar con CHX al 2%, con concentraciones promedios de PCA que se encuentra en el orden de los 10^{-3} a 10^{-4} g/100mL (Alegre 2014).

El presente trabajo estudió la posibilidad de evitar la formación de PCA *ex vivo* al reemplazar la solución salina al 0,9% por peróxido de hidrógeno al 3% 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.

En esta investigación también se calculó la concentración de NaClO durante las primeras fases de preparación del canal radicular y se observó que en promedio esta disminuyó a 4,55% en el grupo control y 4,33% en el grupo experimental. Estudios anteriores han descrito la inactivación del NaClO al interactuar con la materia orgánica y además disminuye su concentración ya que se consumen las moléculas de NaClO involucradas (Stojcic et al. 2010). Sin embargo, la disminución en el presente estudio fue 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). Probablemente tratamientos in vivo muestren un consumo mayor de hipoclorito de sodio ya que en muchos casos podría encontrarse signos de inflamación, hemorragia y/o exudado purulento dependiendo del caso, algo que no se observó en nuestras muestras ex vivo.

En las fases 5, 6 y 7 del protocolo se utilizó un irrigante intermedio con el fin de diluir el NaClO que pudiera quedar al interior de los canales radiculares. La concentración de NaClO disminuyó considerablemente en ambos grupos, teniendo valores de 0,03% en el grupo control y 0,017% en el grupo experimental, después de la primera irrigación de irrigante intermedio. Al finalizar la fase 7, se obtuvieron valores de 0,0033% en el grupo control y 0,011% 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 (2013) observó formación de PCA desde una concentración mínima de 0,0005% de NaClO residual. Por otro lado, Riquelme et al. (2015) observaron que a partir de una concentración de 0,005% de NaClO, la formación de PCA empieza a mantenerse constante.

Siguiendo el protocolo de irrigación, después de la primera irrigación con NaCl 0,9% y H₂O₂, se realizó una irrigación con EDTA al 10% con el objetivo 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 (Cruz-filho

et al. 2011; Basrani and Haapasalo 2012). Existen estudios donde se ha empleado el EDTA como irrigante intermedio con el objetivo de lavar e inactivar el NaClO presente para prevenir la formación de PCA, sin embargo, su uso tampoco evita su formación (Mortenson et al. 2012; Fuenzalida et al. 2017).

En las fases 9, 10 y 11, se utilizaron irrigantes intermedios con el objetivo de eliminar el EDTA y NaClO residuales. Al medir la concentración de NaClO en la segunda irrigación con NaCl 0,9% y H₂O₂, 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 ($p > 0,05$).

La evidencia experimental señala que la concentración óptima para la CHX como medicación intracanal es al 2% (Mohammadi et al. 2015), ya que a esta concentración tiene acción antimicrobiana sobre *Candida Albicans* y *Enterococcus faecalis* (Krithikadatta et al. 2007; Basrani and Haapasalo 2012). Por este motivo, se decidió utilizar esta concentración de CHX en las fases 12 y 13 del estudio.

Luego de la aplicación de CHX al 2%, se determinó la concentración de PCA en las fases de 12 y 13. Para ello se obtuvo el λ_{max} de la reacción coloreada y con soluciones estándares de PCA se construyó la curva de calibración que presentó un coeficiente de correlación $R^2=0,99$.

En la fase 12 el grupo control alcanzó una concentración promedio de PCA de 0,0011%, en cambio, el grupo experimental obtuvo una concentración promedio de 0,001%, sin embargo no existe una diferencia significativa entre ambos grupos. Esto puede implicar que el H₂O₂ al parecer disminuye la formación de PCA, pero no la evita. Por otro lado, en la fase 13 del protocolo el grupo control obtuvo una concentración promedio de PCA de 0,00121% y el grupo experimental una concentración promedio de 0,0013%. A pesar de que al utilizar H₂O₂ se obtuvieron valores bajos de PCA, no existió diferencia significativa entre ambos grupos en estas etapas.

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 (Mortenson et al. 2012; Alegre 2014; Quiroz 2015; Reyes 2015; Riquelme et al. 2015; Farías 2017). Es importante recordar que la interacción entre la CHX y el suero fisiológico producen una sal que sin lugar a dudas oblitera los túbulos dentinarios, impidiendo un adecuado contacto entre las paredes del canal radicular, el cemento sellador y la guatapercha utilizada para obturar el SCR, lo que hace disminuir las posibilidades de éxito del tratamiento endodóntico.(Prado et al. 2013).

Durante la determinación de la concentración de NaClO en el grupo experimental, se observó la interacción entre el H₂O₂ y el NaClO, por lo que hubo que realizar cálculos espectrofotométricos para desagregar los valores de absorbancia y calcular la concentración de hipoclorito residual. Es por esto que se sugiere realizar el análisis de las muestras mediante la cromatografía de ultra alta presión acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS / MS) que es una técnica química que combina las capacidades de separación física de la cromatografía líquida con las capacidades de análisis de la espectrometría de masas, separando y determinando la masa de cada compuesto, obteniendo así un resultado más fidedigno.

Está sumamente claro que en los estudios realizados hasta ahora, la presencia de PCA durante todo el proceso endodóntico es inevitable, indistintamente de la etapa evaluada, ya que los protocolos de irrigación utilizados no han sido capaces de evitar la interacción de estos irrigantes. Pero, ¿Es estrictamente necesario eliminar por completo este producto? La PCA ¿Es dañina en cualquier concentración?

La Paracloroanilina ha mostrado ser citotóxica en ratas y posiblemente carcinogénica en seres humanos. Según lo establecido por la Organización Mundial de la Salud en relación a la exposición a PCA y considerando solo los efectos no neoplásicos, como por ejemplo metahemoglobinemia, el nivel máximo tolerable de exposición humana a PCA está en el orden de 2µg/kg de peso/día

(Boehncke et al. 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 H₂O₂ 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.

Si bien en este estudio el protocolo de irrigación planteado fue distinto a los utilizados en estudios previos, también se encontró PCA, lo que podría deberse a que los irrigantes intermedios utilizados en esta investigación, suero fisiológico, peróxido de hidrógeno al 3% y EDTA al 10%, en conjunto con la aspiración y secado del canal radicular con conos de papel, no lograron eliminar completamente los remanentes de NaClO del interior del SCR y mientras estos estén presentes siempre será posible encontrar PCA cuando se irriga posteriormente con CHX 2%.

Por último, aunque estudios previos indican que el uso de H₂O₂ como irrigante intermedio entre NaClO al 5% y la CHX al 2% impide la formación de PCA, en el presente trabajo el H₂O₂ al 3% no impidió dicha formación, pero sí la disminuyó en una primera irrigación, siendo más efectivo que el suero fisiológico. Cabe señalar que debido a la falta de estudios que aprueben el uso de H₂O₂ en la terapia endodóntica, la escasa evidencia que existe en relación a sus reacciones con otros irrigantes y el efecto que podría tener el H₂O₂ en los tejidos periapicales, lo sigue convirtiendo en un tema que es necesario investigar, para validar este protocolo clínico.

CONCLUSIONES

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

1. La espectrofotometría permite la medición de la concentración de NaClO y PCA resultantes de un protocolo endodóntico.
2. El constante recambio de NaClO durante la preparación quimio-mecánica del canal radicular permite que la disminución de su concentración sea mínima, evitando su inactivación y permitiendo que el NaClO mantenga sus propiedades.
3. Se detecta NaClO remanente en las fases 5, 6, 7, 9, 10 y 11 en concentraciones pequeñas, pero cuantificables.
4. Se forma PCA al interior de los canales radiculares por la presencia de NaClO residual (detectado en las fases 9, 10 y 11) y CHX al 2%.
5. La dilución del NaClO con H₂O₂ no impide la formación de PCA.
6. Se deben utilizar al menos 3 jeringas de irrigación Monoject cargadas con H₂O₂ para diluir el NaClO al 5% hasta una concentración tal que al entrar en contacto con CHX al 2% produzca la mínima cantidad de PCA.
7. Se sugiere complementar este estudio midiendo la concentración de las soluciones mediante el HPLC-masa y posteriormente en modelos *in vivo*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham S, Raj JD, Venugopal M. 2015. Endodontic Irrigants : A Comprehensive Review. *J Pharm Sci Res.* 7:3–8.
- Abuhaimed TS, Neel EAA. 2017. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. *Biomed Res Int.* 2017. doi:10.1155/2017/1930360.
- Alegre O. 2014. Determinación del contenido residual de paracloroanilina ex vivo producido en tratamiento endodóntico tras la utilización de hipoclorito de sodio 5% y clorhexidina 2%. Universidad de Chile.
- Basrani B, Haapasalo M. 2012. Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Top.* 27:74–102. doi:10.1111/etp.12031.
- Basrani BR, Manek S, Sodhi RNS, Fillery E, Manzur A. 2007. Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. *J Endod.* 33:966–969. doi:10.1016/j.joen.2007.04.001.
- Bernardi A, Teixeira CS. 2015. The properties of chlorhexidine and undesired effects of its use in endodontics. *Quintessence Int (Berl).* 46:575–82. doi:10.3290/j.qi.a33934.
- Bilbao MC. 2013. Influencia del suero fisiológico en la formación de paracloroanilina, Estudio In-Vitro. Universidad de Chile.
- Boehncke DA, Kielhorn J, Konnecker G, Pohlenz-Michel C, Mangelsdorf I. 2003. 4-CHLOROANILINE Please. Hanover, Germany.
- 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.* 34:181–185. doi:10.1016/j.joen.2007.11.006.
- Byström A, Sundqvist G. 1981. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res.* 89.

Çalt S, Serper A. 2002. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod.* 28:17–19. doi:10.1097/00004770-200201000-00004.

Cruz-filho AM, Sousa-neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pécora JD. 2011. Effect of Chelating Solutions on the Microhardness of Root Canal Lumen Dentin. *J Endod.* 37:358–362. doi:10.1016/j.joen.2010.12.001.

Estrela C, Barbin EL, Pécora JD. 2002. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. *Braz Dent J.* 13:113–117.

Farías C. 2017. Efecto del alcohol absoluto en la formación de paracloroanilina en el tratamiento endodóntico. Estudio Ex Vivo. Universidad de Chile.

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

Fedorowicz Z, Nasser M, Sequeira-Byron P, de Souza RF, Carter B, Heft M. 2012. Irrigants for non-surgical root canal treatment in mature permanent teeth. *Cochrane Database Syst Rev.* doi:10.1002/14651858.CD008948.pub2.

Fuenzalida A, Ruiz M, Barrientos C, Cornejo D, Araya P, Correa V, Yévenes I. 2017. Ethylenediaminetetraacetic Acid as an Irrigant between 5% Sodium Hypochlorite and 2% Chlorhexidine in the Formation of Para-chloroaniline Related Precipitate. *EC Dent Sci.* 10:158–164.

Gasic J, Popovic J, Živković 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.* 75:1099–1103. doi:10.1002/jemt.22036.

Gatewood RS. 2007. Endodontic Materials. *Dent Clin North Am.* 51:695–712. doi:10.1016/j.cden.2007.04.005.

Gomes BPF, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB. 2001. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 34:424–428.

Gomes BPPA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. 2013. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J.* 24:89–102. doi:10.1590/0103-6440201302188.

González-López S, Camejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V. 2006. Effect of CHX on the Decalcifying Effect of 10 % Citric. *J Endod.* 32:781–784. doi:10.1016/j.joen.2006.02.006.

Good M-L, Karim I EI, Hussey D. 2012. Endodontic ‘solutions’ part 1: a literature review on the use of endodontic lubricants, irrigants and medicaments. *Dent Update.* 39:239–246. doi:10.12968/denu.2012.39.4.239.

Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. 2003. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J.* 36:411–7.

Haapasalo M, Qian WEI, Shen YA. 2012. Irrigation: beyond the smear layer. *Endod Top.* 27:35–53. doi:10.1111/etp.12030.

Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. 2010. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* 54:291–312. doi:10.1038/sj.bdj.2014.204.

Jaña PD, Yévenes LI, Rivera AS. 2010. Estudio Clínico Comparativo entre Colutorio de p-clorofenol y peróxido de hidrógeno con Colutorio de Clorhexidina al 0.12% en el Crecimiento de Placa Microbiana y Gingivitis. *Rev Clínica Periodoncia, Implantol y Rehabil Oral.* 3:65–68. doi:10.1016/S0718-5391(10)70043-4.

Karkehabadi H, Yousefifakhr H, Zadsirjan S. 2018. Cytotoxicity of Endodontic Irrigants on Human Periodontal Ligament Cells. *Iran Endod J.* 13:390–394. doi:10.22037/iej.v13i3.20438.

Krishnamurthy S, Sudhakaran S. 2010. Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod.* 36:1154–1157. doi:10.1016/j.joen.2010.01.012.

Krithikadatta J, Indira R, Dorothykalyani AL. 2007. Disinfection of Dentinal Tubules with 2% Chlorhexidine , 2% Metronidazole , Bioactive Glass when Compared with Calcium Hydroxide as Intracanal Medicaments. *J Endod.* 33:1473–1476. doi:10.1016/j.joen.2007.08.016.

Kuruvilla JR, Kamath MP. 1998. Antimicrobial Activity of 2,5% Sodium Hypochlorite and 0,2% Chlorhexidine Gluconate Separately and Combined, as Endodontic Irrigants. *J Endod.* 24:472–476.

Lantigua Domínguez MC, Feliz Pedrinha V, Oliveira Athaide da Silva LC, Soares Ribeiro ME, Cordeiro LS, de Almeida Rodrigues P. 2018. Effects of Different Irrigation Solutions on Root Fracture Resistance: An in Vitro Study Melissa. *Iran Endod J.* 13:367–372. doi:10.1016/j.resp.2014.11.013.

Lin LM, Di Fiores PM, Lin J, Rosenberg PA. 2006. Histological Study of Periradicular Tissue Responses to Uninfected and Infected Devitalized Pulps in Dogs. *J Endod.* 32. doi:10.1016/j.joen.2005.10.010.

Marshall M V, Cancro LP, Fischman SL. 1995. Hydrogen Peroxide: Use in Dentistry A Review of Its Use in Dentistry. *J Periodontol.* 66:786–796.

Mohammadi Z, Giardino L, Palazzi F, Asgary S. 2015. Agonistic and Antagonistic Interactions between Chlorhexidine. *Iran Endod J.* 10:1–5.

Mohammadi Z, Yaripour S, Shalavi S, Palazzi F, Asgary S. 2017. Root canal irrigants and dentin bonding: An update. *Iran Endod J.* 12:131–136. doi:10.7508/iej.2017.02.002.

Möller A, Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen R. 2004. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment . Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. :207–215.

Mortenson D, Sadilek M, Flake NM, Paranjpe A, Heling I, Johnson JD, 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.* 45:878–882. doi:10.1111/j.1365-2591.2012.02048.x.

Onetto D, Correa V, Araya P, Yévenes I, Neira M. 2015. Efecto del ultrasonido endodóntico sobre clorhexidina al 2% en la formación de paracloroanilina. Estudio in vitro. *Rev Clínica Periodoncia, Implantol y Rehabil Oral.* 8:185–191. doi:10.1016/j.piro.2015.06.002.

Orhan EO, Irmak Ö, Hür D, Yaman BC, Karabucak B. 2016. Does para-chloroaniline really form after mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine? *J Endod.* 42:455–459. doi:10.1016/j.joen.2015.12.024.

Patil C, Uppin V. 2011. Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: An in vitro study. *Indian J Dent Res.* 22:22. doi:10.4103/0970-9290.79969.

Peters O. 2004. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod.* 30:559–567.

Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA, Gomes BPF. 2013. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: A chemical analysis. *J Endod.* 39:505–510. doi:10.1016/j.joen.2012.11.050.

Priyank H, Pandey V, Bagul A, Majety KK, Verma P, Choudhury BK. 2017. Evaluation of 4% sodium hypochlorite in eliminating *Enterococcus faecalis* from the root canal when used with three irrigation methods: An in vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 18:214–217. doi:10.5005/jp-journals-10024-2019.

Quiroz G. 2015. Efectividad del agua destilada usada como irrigante intermedio entre hipoclorito de sodio 5% y clorhexidina 2% para prevenir la formación de Paracloroanilina dentro del sistema de canales radiculares, estudio EX vivo. Universidad de Chile.

Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. 2004. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 37:438–446. doi:10.1111/j.1365-2591.2004.00752.x.

- 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.* 9:161–168.
- Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. 2008. Interaction between Chlorhexidine Digluconate and EDTA. *J Endod.* 34:1521–1523. doi:10.1016/j.joen.2008.08.039.
- Reyes MA. 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%. Universidad de Chile.
- Riquelme MJ, Correa V, Araya P, Neira M, Ismael Y. 2015. Water and Physiological Saline to Prevent the Formation of P-Chloroaniline. *Int J Odontostomat.* 9:399–404.
- Rossi-Fedele G, Doramac EJ, Guastalli AR, Steier L, Poli De Figueiredo JA. 2012. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *J Endod.* 38:426–431. doi:10.1016/j.joen.2012.01.006.
- 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.* 22:356–65. doi:10.1590/1678-775720140032.
- Schäfer E, Bössmann K. 2005. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Two Calcium Hydroxide Formulations Against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 31:1–4.
- Stojicic 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. doi:10.1016/j.joen.2010.06.021.
- Triola M. 2004. Estadística. 9^a. México: Pearson educación.
- Vineet A, Rajesh M, Sonali K, Mukesh P. 2014. A Contemporary Overview of Endodontic Irrigants – A Review. *J Dent Appl.* 1:105–115.

Wright PP, Kahler B, Walsh LJ. 2017. Chemical Interactions. *Materials (Basel)*. 10:1–8. doi:10.3390/ma10101147.

Yévenes I, Bilbao MC, Maggiolo S, Neira M. 2017. Saline Solution in the Formation of Para-Chloroaniline in the Reaction Between Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite. *EC Dent Sci*. 8:217–224.

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

ANEXOS

Anexo 1

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TOMA DE MUESTRAS DENTARIAS PARA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Determinación del contenido residual de paracloroanilina en *ex vivo* producido en tratamiento endodóntico tras la utilización de hipoclorito de sodio 5% y peróxido de hidrogeno al 3%

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

Pía Carolina Erices Munizaga, alumna de Odontología que realiza su Tesis de Pregrado en el Departamento de Odontología Conservadora de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, bajo la tutoría de la Dra. Silvana Maggiolo, está realizando un estudio cuyo objetivo es determinar el efecto del peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) 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: **Pía Carolina Erices Munizaga**; celular: 96306471)

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

Nombre del donante

Fecha

Firma del donante

Nombre del individuo que obtiene el consentimiento

Firma

Anexo 2

PROTOCOLO 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, 0.16) 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 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).
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 con CHX al 2%. Irrigar 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

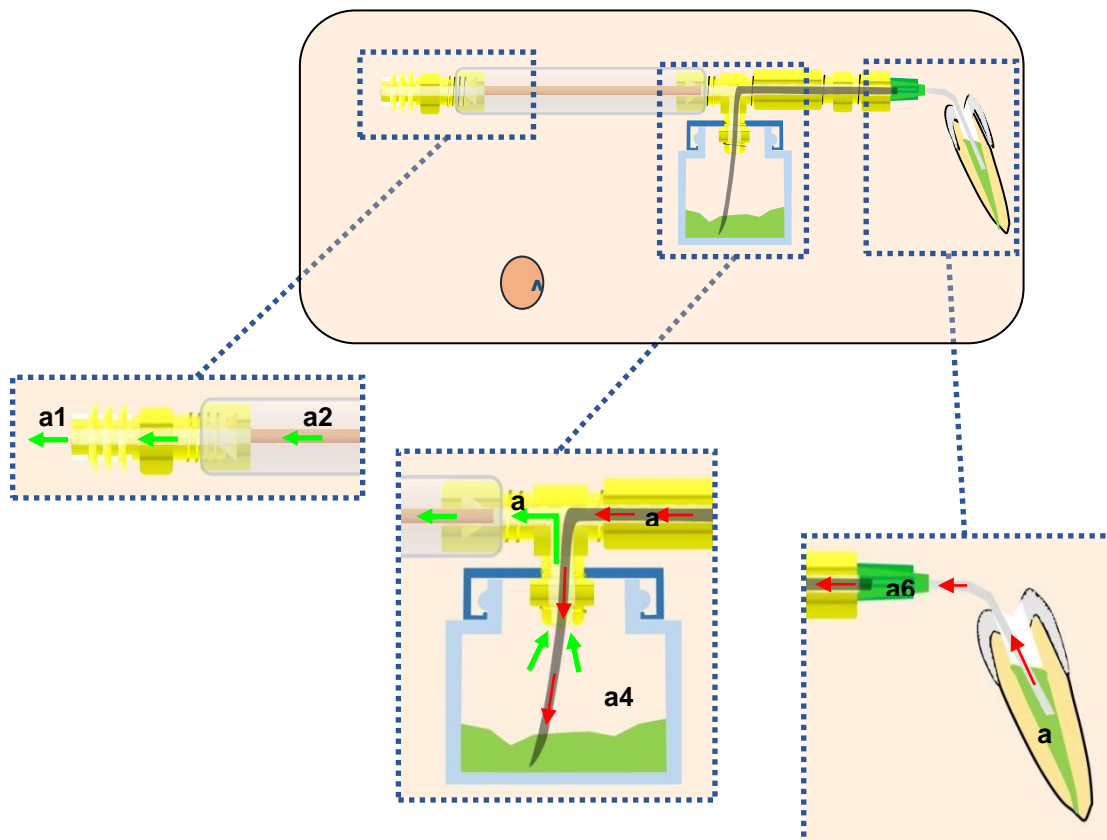
Anexo 3

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 12 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: Esquema dispositivo



Anexo 4

DETERMINACIÓN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE NaClO

Se tomó 1 mL de solución de NaClO al 5%, se leyó su absorbancia (A) en el rango UV-visible (200-800 nm) y luego se graficaron los datos obtenidos para obtener su curva espectral. Los altos niveles de absorbancia no permitieron determinar el λ_{max} . Por lo tanto, a partir de la solución de NaClO al 5% se realizaron una serie de diluciones seriadas, obteniendo así soluciones de concentración conocida. En estas diluciones se determinó la longitud de onda a la cual el NaClO tiene máxima absorbancia, el λ_{max} , y se construyó la curva de calibración (Gráfico 2), entre 0,0005% y 0,05%, la cual se utilizó para determinar la concentración de NaClO en las muestras recolectadas.

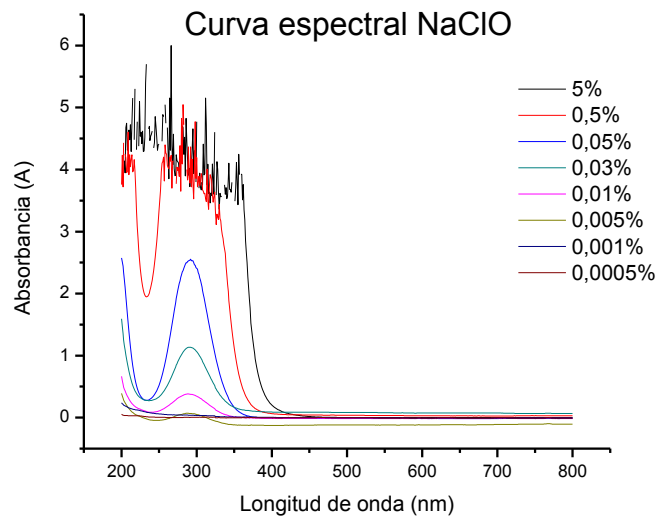


Gráfico N°5: Espectros de Absorción de NaClO al 5% y diluciones a distintas concentraciones. λ_{max} : 292 nm.

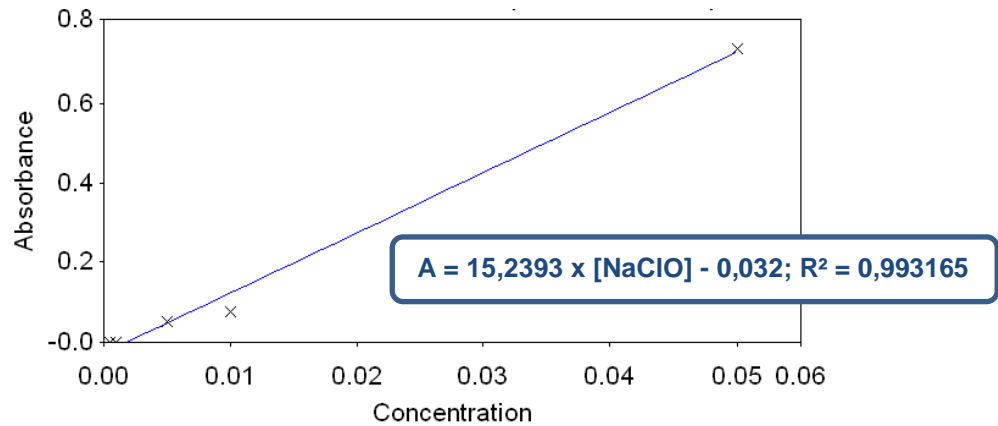


Gráfico N°6: Curva de Calibración del NaClO

Debido a que los valores de absorbancia obtenidos en las muestras recolectadas de las fases del tratamiento 1, 2, 3 y 4 medidas a λ_{max} de 292 nm, fueron mayores a los comprendidos en la curva de calibración, éstas se diluyeron por un factor de 100 y nuevamente se les midió su absorbancia. Posteriormente, se interpolaron los valores de absorbancia en la ecuación obtenida de la curva de calibración ($A = 15,2393 \times [\text{NaClO}] - 0,032$; $R^2 = 0,993165$) y se multiplicó el resultado por el factor de dilución para conseguir la concentración final de NaClO. Finalmente para las muestras 5, 6, 7, 9, 10 y 11 se utilizó el valor de absorbancia directamente en la ecuación de la curva sin diluir la solución.

Anexo 5

DETERMINACIÓN DEL ESPECTRO DE ABSORCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE NaCl:

Se tomó 1 ml de solución de suero fisiológico al 0,9%, se leyó su absorbancia en el rango UV- visible (200-800 nm) y luego se graficaron los datos obtenidos para obtener su curva espectral.

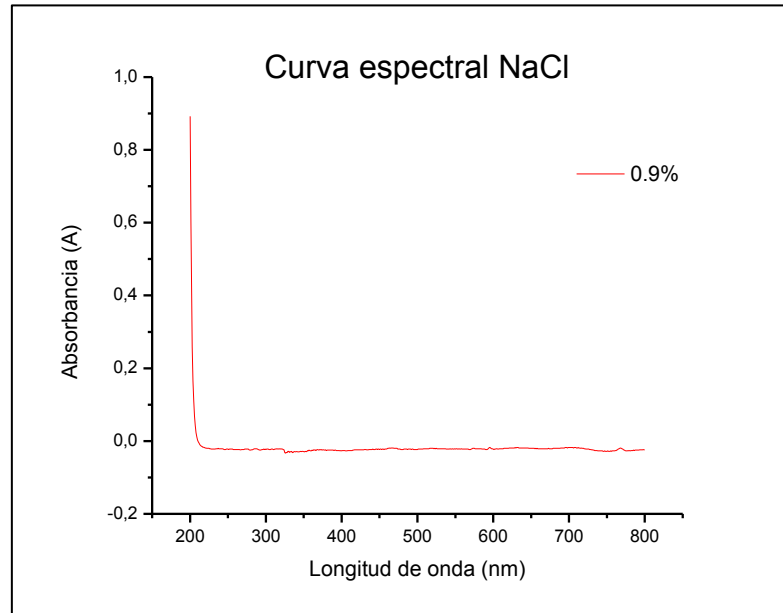


Gráfico N°7: Espectro de Absorción de NaCl 0,9%

Debido a los bajos niveles de absorbancia que presenta NaCl 0,9% y a la ausencia de una longitud de onda de máxima absorción que permita identificarlo, se estableció que para efecto de este trabajo la concentración de NaCl será de 0,9%.