



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

TESIS

**Interacciones fisicoquímicas entre la solución de NaOCl
2.4%/BAC 0.008% con irrigantes utilizados en Endodoncia**

PRESENTA

L.O. Lucero Mejía Zepeda

**PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ENDODONCIA**

Asesor de tesis: C.D.E.E. Fernando Fernández Treviño

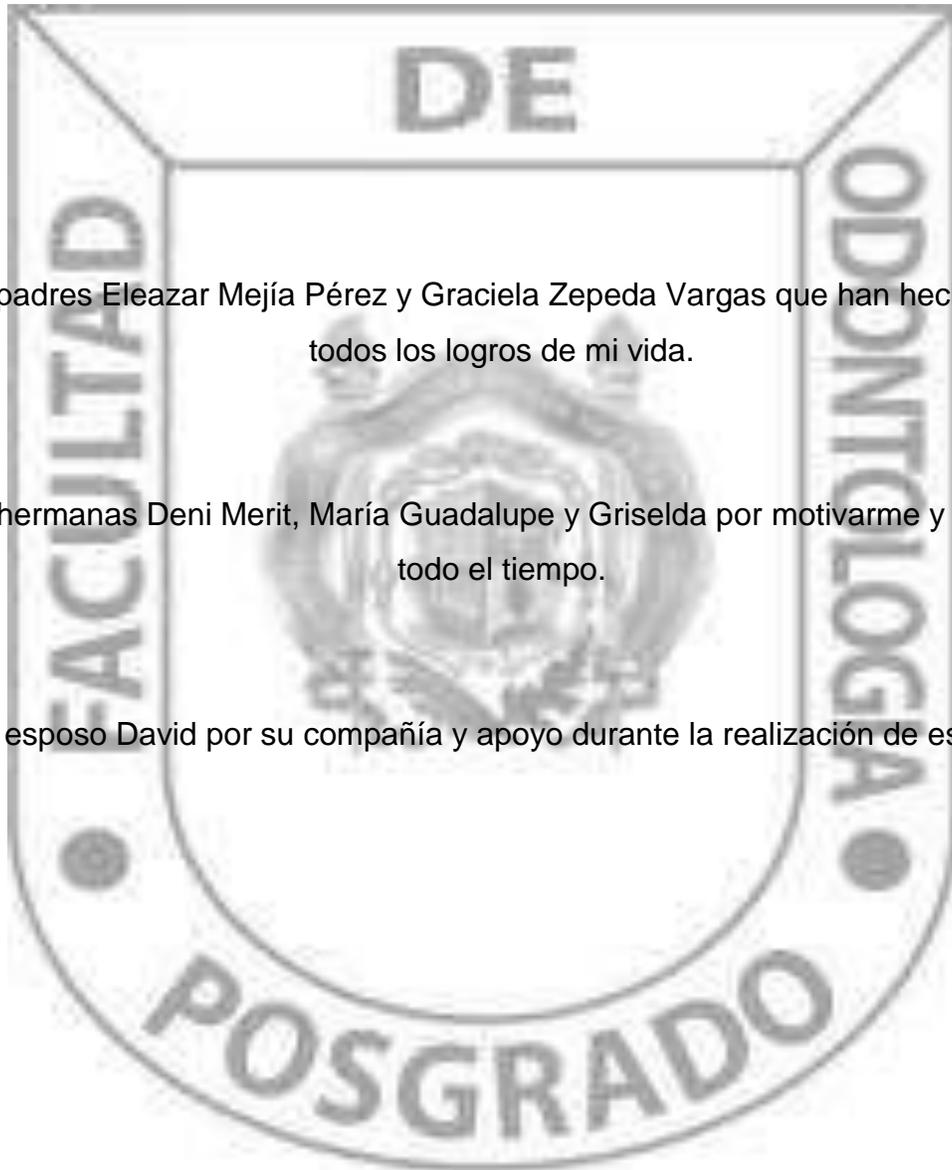
**MORELIA, MICHOACÁN
MÉXICO
Octubre, 2018**

DEDICATORIA

A mis padres Eleazar Mejía Pérez y Graciela Zepeda Vargas que han hecho posible todos los logros de mi vida.

A mis hermanas Deni Merit, María Guadalupe y Griselda por motivarme y apoyarme todo el tiempo.

A mi esposo David por su compañía y apoyo durante la realización de esta tesis.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por sus bendiciones, por la vida y por permitirme cumplir las metas que me propongo.

A mis padres, mis hermanas y mi esposo por brindarme su apoyo incondicional en mi vida.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por abrirme sus puertas para estudiar el posgrado en Endodoncia en el Centro Universitario de Estudios de Posgrado e Investigación.

Al Dr. Fernando Fernández Treviño por su dirección y asesoramiento en este proyecto de investigación.

Al M.C. Héctor Ruíz Reyes por su guía para la realización de este proyecto de investigación y por incentivarme siempre a ser un mejor ser humano.

Al C.D.E.E. Benigno Miguel Calderón Rojas por su apoyo y paciencia para aclararme dudas durante la realización de este proyecto de tesis.

A mis profesores del posgrado por compartir sus conocimientos para ser un excelente profesional el día de mañana.

Al personal administrativo porque hacen posible que podamos estudiar el posgrado.

INDICE GENERAL

Resumen	6
Abstract	8
1. Introducción	10
2. Marco teórico	12
2.1 Antecedentes generales	12
2.1.1 Biofilm.....	12
2.1.1.1 Biofilm radicular intraconducto	15
2.1.2 Irrigación en la terapia endodóntica.....	18
2.1.2.1 Objetivos de la irrigación endodóntica.....	19
2.1.2.2 Características del irrigante ideal en el conducto radicular ...	19
2.1.3 Soluciones Irrigadoras.....	19
2.1.3.1 Hipoclorito de sodio.....	20
2.1.3.2 Clorhexidina.....	23
2.1.3.3 Ácido etilendiaminotetracético	25
2.1.3.4 Cloruro de Benzalconio	25
2.2 Antecedentes específicos	27
2.2.1 Interacciones fisicoquímicas de soluciones irrigadoras.....	27
2.2.1.1 Interacción entre NaOCl y CHX.....	27
2.2.1.2 Interacciones entre NaOCl y EDTA.....	30
2.2.1.3 Interacción entre CHX y EDTA.....	30
2.2.1.4 Interacción entre NaOCl y BAC.....	32
3. Planteamiento del problema	35
3.1 Pregunta de investigación	37
4. Justificación	38
4.1 Hipótesis de trabajo	41
5. Objetivos de la investigación	42
5.1 Objetivo general	42
5.2 Objetivo específico	42
6. Material y Métodos	43

6.1	Universo de estudio	43
6.2	Clasificación del estudio	43
6.3	Criterios de elegibilidad	43
6.3.1	Criterios de inclusión	43
6.3.2	Criterios de no inclusión	44
6.4	Procedimiento Metodológico	44
6.4.1	Preparación, dilución y acondicionamiento de las soluciones químicas.....	44
6.4.2	Fase experimental 1: Determinación del potencial de Hidrógeno de las soluciones químicas NaOCl/BAC, NaOCl, CHX, EDTA y BAC, mediante potenciometría.....	45
6.4.3	Fase experimental 2: Evaluación <i>in vitro</i> de las interacciones fisicoquímicas entre las soluciones químicas.....	46
7	Resultados	49
8	Discusión	58
9	Conclusión	62
10	Referencias bibliográficas	63
11	Anexos	72
11.1	Ficha técnica de Hipoclorito de sodio.....	72
11.2	Ficha técnica de Cloruro de Benzalconio.....	73

RESUMEN

Introducción: La diversidad de especies bacterianas que colonizan los conductos radiculares, presentan en su superficie una gran variedad de polisacáridos, que sirven como biomoléculas de adhesión al tejido dentinario. Diversos autores han evaluado *in vitro* la adición del surfactante anfotérico Cloruro de Benzalconio (BAC) al Hipoclorito de Sodio (NaOCl) como solución irrigadora de conductos radiculares, y han observado que se mejora la penetración del irrigante hacia los túbulillos dentinarios, incrementando así el efecto antimicrobiano. Sin embargo, aún no se han investigado las posibles interacciones que pueda tener esta solución con los irrigantes utilizados durante el tratamiento de endodoncia.

Objetivo: Evaluar *in vitro* interacciones fisicoquímicas entre la mezcla de NaOCl 2.4%/BAC 0.008% con soluciones irrigadoras utilizadas en la limpieza de conductos radiculares.

Material y métodos: Se realizaron diluciones de las siguientes soluciones: Hipoclorito de sodio (NaOCl) 6% grado técnico a una solución 3% y 2.4%, Clorox® en concentración integra a una dilución 1:1, Cloralex® en concentración integra a una dilución 1:1, solución BAC 10% a una solución BAC 5%, BAC 3%, BAC 1% y BAC 0.008%, Clorhexidina (CHX) 2% y Ácido etilendiaminotetracético (EDTA) 17%. Se depositaron en vasos de precipitado 60 ± 15 ml de cada una de las soluciones para tomar la lectura del pH y temperatura. Posteriormente se depositaron 2 ml de cada solución en tubos de ensayo, una vez colocadas las dos soluciones la mezcla se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente para observar posibles cambios físicos o químicos tales como: formación de precipitados, cambios de coloración, liberación de gases y reacciones exotérmicas. Los resultados fueron expresados mediante histogramas.

Resultados: Las soluciones de BAC 10%, 5%, 3% y 1% presentaron los siguientes valores de pH = 7.1, 6.7, 6.6 y 6.7 respectivamente. La mezcla de NaOCl 2.4% / BAC

0.008% que se utilizó para las interacciones presento un pH=12.8. Al mezclar las soluciones de BAC 10%, 5%, 3% y 1% con NaOCl 6% grado técnico y NaOCl proporción 1:1, se observó la formación de un anillo blanco en la superficie.

Conclusión: La solución de NaOCl 2.4% / BAC 0.008% no presentó cambios al mezclarse con EDTA 17%, sin embargo, al combinarse con CHX 2% presentó la formación de un precipitado color marrón, debido a la acción oxidante del NaOCl.

Palabras clave: Irrigación, Cloruro de Benzalconio, Hipoclorito de Sodio, Clorhexidina, EDTA.

ABSTRACT

Background: The diversity of bacterial species that colonize the root canals present a broad variety of polysaccharides which serve as adhesion biomolecules to the dentin tissue. Several authors have evaluated in an *in vitro* environment the addition of the amphoteric surfactant Benzalkonium Chloride (BAC) to sodium hypochlorite (NaOCl) as irrigating solution for root canals and have made some observations about the improvement in the irrigant penetration into the dentinal tubules which leads to an increment in the antimicrobial effect. Nevertheless, the possible interactions between this solution and the irrigant agents used in the endodontic treatment have not been investigated yet.

Aim: The evaluation of the physicochemical interactions between the mixture of NaOCl 2.4%/BAC 0.008% and irrigating solutions utilized in the root canal cleaning process.

Methods: For this study dilutions of the following solutions were made: Technical degree sodium hypochlorite (NaOCl) at 6% to a 3% and 2.4% diluted solution, Clorox® in integrated concentration at a 1: 1 dilution, Chloralex® in integrated concentration at a 1: 1 dilution, BAC 10% solution diluted to BAC 5%, 3%, 1% and 0.008%, Chlorhexidine (CHX) 2% and Ethylenediaminetetracetic Acid (EDTA) 17% were also used. Approximately 60 ± 15 ml of each of these solutions were deposited in beakers to measure its pH and temperature. Subsequently, 2 ml of each solution were deposited in test tubes, once all the solutions were placed the mixture was left to rest for 30 minutes at room temperature to observe possible physical and chemical changes as: precipitate formation, color changes, gas release and exothermic reactions.

Results: The solutions of BAC 10%, 5%, 3% and 1% presented the following pH values respectively: 7.1, 6.7, 6.6 and 6.7. The mixture of NaOCl 2.4%/BAC 0.008% that was used for the experimental tests presented a value of pH = 12.8. When the solutions of BAC 10%, 5%, 3% and 1% were mixed with technical grade NaOCl 6% and NaOCl at 1:1 ratio, the formation of a white ring on the surface was observed.

Conclusion: The NaOCl 2.4%/BAC 0.008% solution did not present changes during the mixing process with EDTA 17%. However, when this solution was mixed with CHX 2%, the formation of a brown precipitate was observed due to the oxidant action of the NaOCl.

Keywords: Irrigation, Root Canals, Benzalkonium Chloride, Sodium Hypochlorite, Chlorhexidine, EDTA.

1. INTRODUCCIÓN.

Durante el tratamiento endodóntico, la irrigación de los conductos radiculares es uno de los procedimientos más importantes para lograr la desinfección y limpieza de estos. Actualmente, existen diferentes soluciones irrigadoras, las cuales se clasifican en: Soluciones antimicrobianas, Soluciones quelantes, Combinaciones (soluciones antimicrobianas y quelantes) y Soluciones con detergente (1).

Estas soluciones deben tener un amplio espectro antimicrobiano, contra microorganismos (MO'S) anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, así como la capacidad de disolver restos de tejido de pulpa vital y necrótica para utilizarse durante el tratamiento de endodoncia (2).

Cabe señalar que una de las causas más frecuentes del fracaso en el tratamiento endodóntico es la reinfeción de los conductos radiculares, esto en varias ocasiones se deriva de la presencia de biofilm dentro del conducto, el cual es difícil de eliminar completamente con la instrumentación (2). Debido a esto, se vuelve necesario el contar con un adecuado protocolo de irrigación que facilite el desprendimiento del biofilm de la superficie dentinaria y de esta manera lograr un mejor pronóstico del tratamiento.

El cloruro de benzalconio (BAC) es un detergente catiónico que presenta en su composición química un nitrógeno cuaternario positivo, este interactúa con los principales grupos de fosfolípidos de membranas celulares bacterianas. Dicha interacción incrementa la tensión superficial y disminuye el potencial adhesivo, así como las funciones fisiológicas de las adhesinas bacterianas, lo cual produce una disminución de la adhesión bacteriana (3).

En un estudio realizado por Jaramillo et al. (4) observaron que la solución de BAC interfiere en el mecanismo de adhesión del biofilm lo que podría prevenir su formación dentro del conducto.

Las propiedades surfactantes de la solución BAC podrían ser útiles para potencializar la limpieza de los conductos radiculares. Bukiet et al. (5) evaluaron el efecto de la adición de 0.008% BAC al NaOCl 2.4%, y mencionan que esta solución irrigante actúa sobre los MO's organizados en biofilm e inactivan las endotoxinas de estos también, al añadir este surfactante al NaOCl permite una mejor penetración en espacios diminutos, siendo un irrigante prometedor en el tratamiento de endodoncia.

Más tarde Baron et al. (6) midieron el efecto de NaOCl y BAC en la eliminación de biofilm de *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) en modelos de dientes humanos y compararon la difusión del irrigante dentro de los túbulos dentinarios con y sin surfactante usando un microscopio láser de escaneo confocal observando que esta solución tiene mayor alcance en comparación con la solución de NaOCl.

Sin embargo, antes de utilizar esta solución durante el tratamiento de conductos es necesario realizar una serie de pruebas previas con la solución compuesta de NaOCl 2.4%/BAC 0.008%, tales como la realización de ensayos de interacción fisicoquímica entre BAC y la solución compuesta por NaOCl 2.4%/BAC 0.008% con las soluciones químicas utilizadas convencionalmente en la irrigación de conductos radiculares, debido a que se han reportado interacciones químicas entre Hipoclorito de Sodio (NaOCl) y Clorhexidina 2% (CHX), dando como resultado precipitados y compuestos carcinogénicos como para-cloroanilina (7-11).

Por lo tanto, el presente trabajo de investigación experimental *in vitro* está enfocado en la detección de posibles interacciones fisicoquímicas no deseadas, como son la liberación de gases, formación de precipitados, reacciones exotérmicas o cambios de coloración que puedan presentarse al llevar a cabo interacciones entre soluciones de BAC/NaOCl vs CHX, BAC/NaOCl vs EDTA, BAC vs NaOCl, BAC vs CHX y BAC vs EDTA.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 ANTECEDENTES GENERALES.

Uno de los objetivos del tratamiento de endodoncia es desinfectar el conducto radicular, eliminando bacterias y también previniendo una reinfección de éste, al realizar dicho tratamiento, se promoverá la cicatrización y/o curación de los tejidos periapicales. Sin embargo, cuando la endodoncia fracasa comúnmente se debe al resultado de una reinfección en el sistema de conductos radiculares, debido a la alta complejidad en la morfología de los conductos y a la existencia de zonas de difícil acceso para los instrumentos o soluciones antimicrobianas que permitan realizar una adecuada limpieza y desinfección (12).

El fracaso del tratamiento endodóntico puede ocasionarse por la presencia de bacterias organizadas en forma de *biofilm*, lo cual les permite sobrevivir e incluso causar lesiones periapicales (13).

2.1.1 Biofilm

El biofilm se define como la unión de varias comunidades bacterianas a una superficie sólida. Dichas comunidades están incrustadas a una matriz que las mismas bacterias fabricaron, la cual está hecha de sustancias poliméricas extracelulares. La matriz les confiere protección contra agentes desinfectantes (14).

Los MO's tienen la capacidad de formar biofilms sobre cualquier superficie que tiene nutrientes. Para que el biofilm se comience a formar necesita de tres componentes principales: bacterias celulares, una superficie sólida y un medio de fluido de nutrientes (15).

La formación de la microcomunidad en una superficie requiere de ciertas etapas: deposición de la película acondicionante, adhesión y colonización de MO's

planctónicos en una matriz, la adhesión de otros MO's (también llamada agregación), y por último el desprendimiento o liberación de estos en su entorno (16) como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Etapas de la formación del biofilm. Adaptado de Basrani, (1).

Los MO's bacterianos poseen flagelos, fimbrias y pilis, los cuales juegan un papel importante en la adhesión de estos a la superficie, específicamente en los receptores que se encuentran en la película acondicionante, no obstante, para que esta unión se realice existen otros factores que pueden contribuir, como la composición de la membrana externa de la célula bacteriana y las propiedades físicas de la superficie.

La adhesión entre el microorganismo y la superficie puede ser reversible al inicio e irreversible posteriormente esto es debido a que la bacteria se encapsula en una matriz polimérica que está misma produce brindándole así mayor protección. Posterior a esta etapa comienza la agregación, la cual consiste en la adhesión célula-célula, esta se realiza por medio de la secreción de toxinas, la señalización molecular de estos microorganismos ya adheridos y también de los factores ambientales (17).

Con el tiempo, el biofilm continúa creciendo y adaptándose al medio en el que habita a través de productos químicos, nutrientes y oxígeno. De igual manera tiene la capacidad de percibir y procesar información química, denominada *quórum sensing*, la cual contribuye a que se realice su adaptación al medio en el que se encuentra (16, 18).

El *quórum sensing* es un proceso de comunicación célula-célula basado en la densidad de población de microorganismos a través de moléculas de señalización que tienen la capacidad de activar o desactivar genes, lo que les permite adaptarse al medio, de igual manera pueden estimar su densidad celular, para realizar algún mecanismo de manera selectiva que les brinde ventaja, o realizar algún mecanismo de defensa (19). Algunas de las moléculas de señalización que utilizan son; *acil homoserina lactona*, *péptidos*, *autoinductores-2*, *factores de señalización por difusión* y *α -hidroxicetonas*, entre otras. En las bacterias Gram positivas las moléculas de señalización son *metil péptidos* y en Gram negativas son *N-Acil homoserina lactonas* (20, 21).

El biofilm crece en comunidades de estructuras tridimensionales prominentes de la superficie. Dentro de su estructura contiene conductos que ayudan al transporte de fluidos, sustratos, desechos y también para comunicación a través de señales moleculares (16, 22). Se ha observado que las moléculas de la MEC pueden actuar también como andamios de estructura, unión intercelular y la adhesión en la superficie del biofilm, como es el caso de los exopolisacáridos (23).

La MEC generalmente está cargada negativamente, esto favorece la interacción de iones cargados positivamente como Calcio (Ca^{2+}) o Magnesio (Mg^{2+}) que se encuentran en el conducto radicular (24). Esto contribuye a mantener la viscosidad, resistencia y arquitectura del biofilm, también proporciona una barrera física a los agentes antimicrobianos (25).

El biofilm tiene diversos elementos que lo caracterizan entre los cuales se encuentran los siguientes:

- Habilidades para auto-organizarse (autopoiesis).
- Resiste a perturbaciones ambientales (homeostasis).
- Eficaz en asociación que en aislamiento (sinergia).
- Responde a los cambios ambientales como una unidad y no individualmente (comunidad) (14).

Cuando el biofilm se somete a estrés, éste reacciona de diferente manera para sobrevivir, induciendo la mutagénesis o mandando señales de ayuda, entre otros mecanismos (17).

2.1.1.1 Biofilm radicular intraconducto

En el área de endodoncia, se menciona la formación de biofilm dentro del conducto radicular, en la porción periapical y en la parte externa de la raíz, debido a la gran variedad de bacterias planctónicas que se encuentran en la saliva y entran a través del conducto radicular (14).

También se encuentra en conductos radiculares debido a la primera invasión de MO's planctónicos a la cámara pulpar, la pulpa se inflama y las bacterias profundizan en dirección apical, el tejido pulpar presente contiene gran cantidad de proteínas y glicoproteínas que brinda nutrientes a la comunidad bacteriana para avanzar (16). Se han mostrado secciones histobacteriológicas, en donde el biofilm se encuentra en las paredes del conducto y cubre la superficie del tejido inflamado (26).

Cuando los MO's bacterianos están en contacto con el tejido pulpar, ocurre un proceso inflamatorio agudo, de igual manera se enfrentan a un gran número de neutrófilos, así como radicales de oxígeno, enzimas lisosómicas y altas concentraciones de óxido nítrico liberado por los neutrófilos, provocando así que solo cierto número de bacterias sobrevivan y profundicen dentro del conducto radicular (27, 28) como lo muestra la Figura 2.

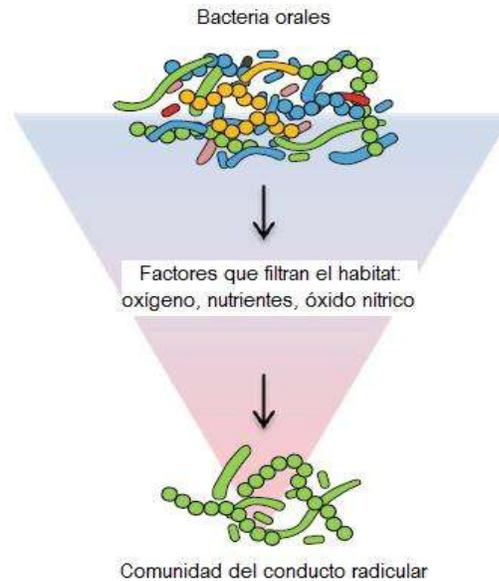


Figura 2. Esquema que muestra el proceso de sobrevivencia de bacterias a la región del conducto radicular. Adaptado de Chávez de Paz, Kishen & Sedgley (43).

El óxido Nítrico es un radical pequeño, lipófilo y libremente difusible que tiene fuertes propiedades citotóxicas debido a su alta reactividad, también afecta directamente a la actividad de enzimas en bacterias mediante la reacción con radicales libres unidos o con iones metálicos, de la misma forma perturba la respiración bacteriana y la biosíntesis de aminoácidos causando así la detención del crecimiento y supresión de la síntesis de ADN de estos MO's bacterianos (29-31).

El oxígeno es un receptor de electrones en la respiración de MO's aeróbicos (28). Aunque los gradientes de oxígeno pueden ser relativamente estables en el tiempo, el oxígeno parece ser un factor importante en el medio del conducto radicular porque promueve el desarrollo de una microbiota anaeróbica (32-33).

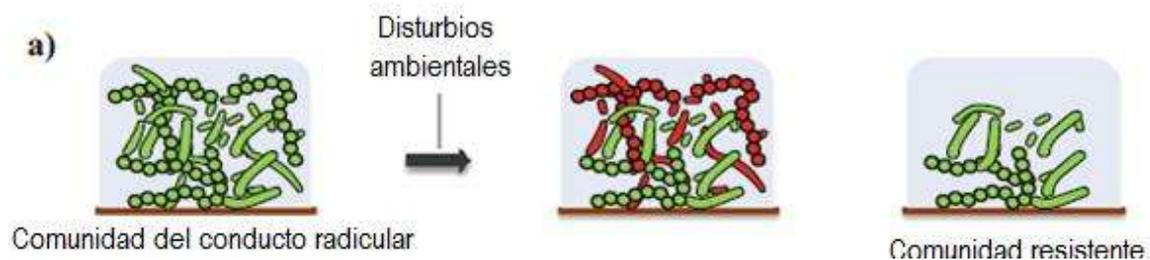
Dado que es difícil la entrada de oxígeno en el conducto radicular, se han visto mayormente MO's anaeróbicos que aumentan con el tiempo, así como MO's anaeróbicos facultativos (34-36).

El biofilm tiene un mecanismo de desarrollo que consiste en: las células que aún están libres comienzan a adherirse a superficies invadidas por otros microorganismos bacterianos para aumentar su resistencia ante tensiones exógenas lo que les permitirá la supervivencia bacteriana incluso en condiciones desfavorables y contra agentes desinfectantes (22, 37).

La mejor manera de eliminar el biofilm, es removerlo de la superficie infectada de forma física, también se puede lograr alterando las características físicas de las células bacterianas o de la superficie en la que se encuentra; de esta manera se afecta el proceso de señalización de las bacterias y se inhiben las interacciones entre carbohidratos y proteínas por lo que interfiere con su adhesión y permite que éste se desprenda de la superficie (38).

Es complejo eliminar el biofilm dentro del conducto radicular, por ello uno de los procesos del tratamiento endodóntico consiste en la instrumentación la cual permite ampliar su diámetro, lo que ayuda a eliminar la mayor cantidad de tejido pulpar, microorganismos existentes y biofilm presentes en las paredes, esto también favorece una penetración eficaz de soluciones de irrigación y/o medicamentos intraconducto para alcanzar áreas que no son accesibles para las limas endodónticas (39). Este proceso perturba el medio por lo que las comunidades bacterianas tienen respuestas que se determinan principalmente por sus niveles de resistencia y resiliencia (40).

La resistencia se define como el grado en que una comunidad es sensible a un disturbio. Y la resiliencia es la tasa en la cual una comunidad vuelve a una condición previa a la perturbación (41, 42) como lo muestra la Figura 3.



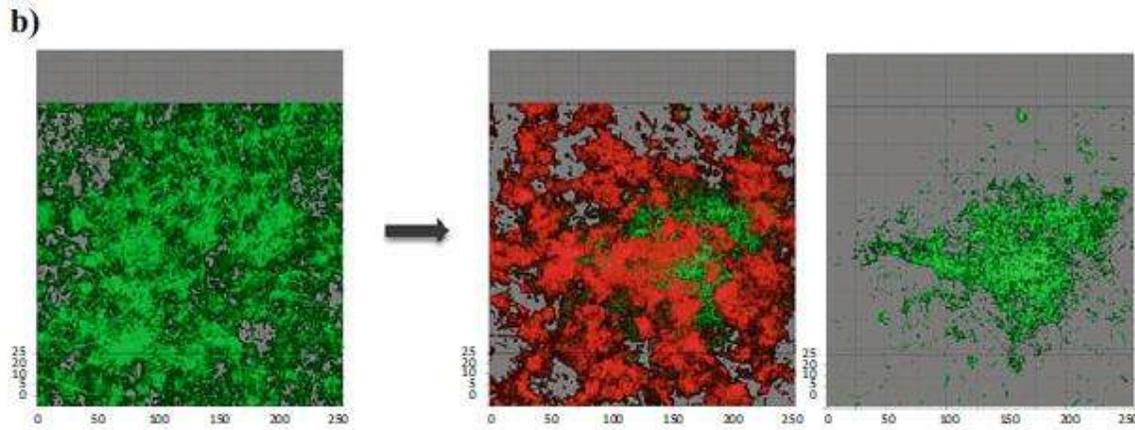


Figura 3. Mecanismo de resistencia y resiliencia de la comunidad microbiana ante una perturbación. Tomado de Chávez de Paz, Kishen & Sedgley, (41).

Algunos artículos han reportado cuales MO's bacterianos dentro del conducto radicular sobreviven después de realizar el tratamiento de endodoncia y observaron que también forman parte de la microbiota oral como es el caso de *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia* así como varios *lactobacilos*, *enterococos*, predominando las bacterias anaeróbicas facultativas (16, 28). También se ha encontrado *E. faecalis* aunque este no pertenece a la microflora normal de la cavidad bucal del huésped, ya que es de naturaleza exógena, también se encuentra dentro de los conductos radiculares (44).

En la actualidad se han propuesto muchos métodos y agentes antibacterianos contra el biofilm intraconducto, uno de ellos es el uso de irrigantes, los cuales son eficaces al entrar en contacto con los microorganismos alojados dentro del conducto radicular (18). Por ello, se realiza un protocolo de irrigación durante el tratamiento endodóntico que se considera crucial para lograr la pérdida completa de la viabilidad celular, así como la degradación y remoción de microorganismos bacterianos y biofilm (45).

2.1.2 Irrigación en la terapia endodóntica

La irrigación durante el tratamiento de endodoncia es la introducción de una o más soluciones en la cámara pulpar y en los conductos radiculares con una aspiración

subsecuente. Además, es un complemento esencial en la instrumentación; es por ello que está se debe realizar antes, durante y después de la instrumentación en el tratamiento de endodoncia (46).

2.1.2.1 Objetivos de la irrigación endodóntica

La irrigación durante el tratamiento de endodoncia tiene como finalidad efectuar la disolución y el desprendimiento de tejido pulpar, restos de dentina, barrillo dentinario (o los productos de la instrumentación), MO's (planctónicos y biofilm), sus productos o sustratos de la pared del conducto radicular, así como su eliminación fuera del sistema de conductos radiculares (1).

2.1.2.2 Características del irrigante ideal en el conducto radicular

Las características que debe cumplir un irrigante ideal son: tener un amplio espectro antimicrobiano, alta eficacia contra microorganismos anaerobios y facultativos organizados en biofilm, capacidad de disolver restos de tejido de pulpa necrótica, capacidad de inactivar endotoxinas, la habilidad de prevenir la formación de una capa de barrillo dentinario durante la instrumentación o para disolver el barrillo dentinario una vez que se ha formado. La solución irrigante no debe ser tóxica cuando entra en contacto con los tejidos vitales, no cáustico a los tejidos periodontales y con poco potencial de causar una reacción anafiláctica (2).

2.1.3 Soluciones irrigadoras

Las soluciones irrigantes empleadas en endodoncia se pueden clasificar de la siguiente manera; soluciones antimicrobianas, soluciones quelantes, combinaciones (soluciones antimicrobianas y quelantes) y soluciones con detergente (1).

2.1.3.1 Hipoclorito de sodio

La solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) es definida por la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) en 2016, como un líquido claro, pálido, verde-amarillento, altamente alcalino y que presenta una acción disolvente sobre el tejido orgánico, así como potencial antimicrobiano (47); es utilizado para irrigar conductos radiculares ya sea en concentración completa o con soluciones diluidas. Una concentración común de NaOCl usada por endodoncistas es del 2% al 5% (48).

El NaOCl es la solución irrigante más utilizada en la práctica endodóntica debido a su efectividad en la eliminación de tejido vital y no vital, así como su amplio efecto contra bacterias, esporas, hongos y virus. Aunque es extremadamente tóxico en los tejidos periapicales cuando se inyecta más allá del ápice del diente (49).

La solución de NaOCl actúa como disolvente orgánico degradando ácidos grasos y transformándolos en sales de ácidos grasos (jabón) y glicerol (alcohol) lo cual reduce la tensión superficial de la solución restante (50) como lo muestra la Figura 4.

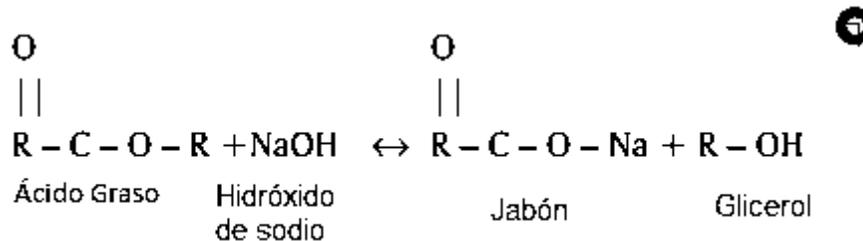


Figura 4. Acción del hipoclorito de sodio en contacto con ácidos grasos. Adaptado de Estrela et al. (51).

El NaOCl neutraliza aminoácidos que forman agua y sal, y con la salida de los iones hidroxilo hay una reducción del potencial de Hidrogeno (pH) véase Figura 5.

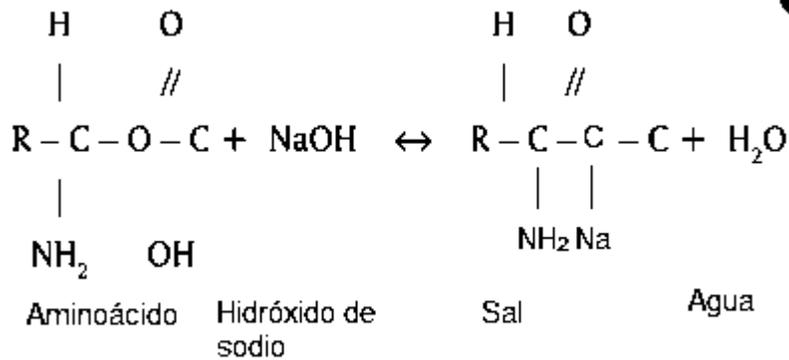


Figura 5. Neutralización de aminoácidos, Adaptado de Estrela et al. (51).

Las propiedades antibacterianas y de disolución de los tejidos del NaOCl 5.25% disminuyen al diluirlo (51). Cuando se añade NaOCl al agua, se forma ácido hipocloroso mostrando la reacción de la Figura 6:

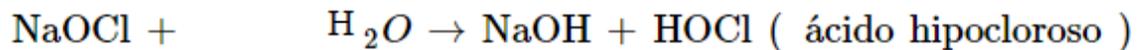


Figura 6. Reacción del hipoclorito de sodio con agua, tomado de Kandaswamy & Venkateshbabu (50).

El ácido hipocloroso parcialmente se disocia con el anión de hipoclorito (OCl⁻) como se observa en la Figura 7.



Figura 7. Disociación del ácido hipocloroso. Tomado de Kandaswamy & Venkateshbabu, (50).

Cuando el ácido hipocloroso entra en contacto con tejido orgánico actúa como disolvente y libera cloro, que a su vez se combina con el grupo amino de la proteína para formar cloraminas. El ácido hipocloroso (HOCl) y los iones hipoclorito (OCl⁻) conducen a la degradación e hidrólisis de los aminoácidos (50), como se muestra en la Figura 8.

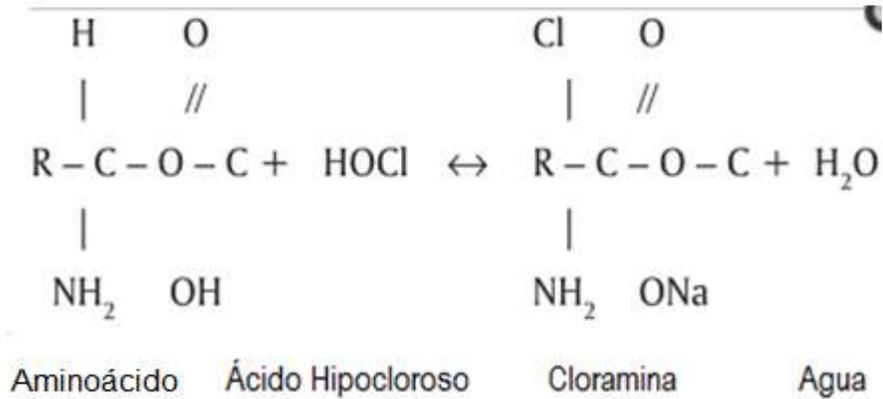


Figura 8. Reacción del ácido hipocloroso cuando entra en contacto con el tejido orgánico. Adaptado de Estrela et al. (51).

Las cloraminas interfieren con el metabolismo celular, el cloro tiene una acción antimicrobiana debido a que inhibe el metabolismo celular; el cloro es un oxidante que inhabilita las enzimas bacterianas esenciales por la oxidación irreversible de grupos sulfhidrilo (50).

La solución de NaOCl es una base fuerte pH > 11, su eficacia antimicrobiana basado en el pH (acción del ion hidroxilo) es similar al mecanismo de acción de hidróxido de calcio. Este interfiere con la integridad de la membrana citoplasmática debido a la acción enzimática irreversible, así como alteraciones biosintéticas en el metabolismo celular y la degradación de fosfolípidos observada en la peroxidación lipídica (50).

Ordinola-Zapata et al., (52) evaluaron el biovolumen residual de células bacterianas vivas en un modelo de biofilm en dentina, el cual lo trataron con las soluciones de CHX 2%, NaOCl 1%, ácido cítrico 10%, EDTA 17% y agua destilada, con lo que concluyeron que la solución de NaOCl 1% fue el único irrigante que tuvo un efecto de limpieza sobre las superficies dentinarias obteniendo un rango de $1.60 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ sin embargo, se observó biofilm residual firmemente unido al tejido dentinario.

2.1.3.2 Clorhexidina

La solución de clorhexidina (CHX) es un potente agente antimicrobiano de amplio espectro. Es más eficaz contra MO's gram-positivos que gram-negativos y levaduras. De igual manera, es capaz de inactivar muchos MO's endodónticos resistentes, al estar en contacto con estos en un periodo de tiempo de 15 segundos (53).

La CHX está disponible como un acetato, gluconato y sal hidrocoloide. Es extensamente utilizada como irrigante endodóntico y medicamento. Su composición química es un compuesto catiónico sintético bi-guadina que consiste en 2 anillos simétricos de 4 clorofenil y dos grupos bi-guanidas conectados por una cadena central de hexam-etileno (54).

Es una molécula con carga positiva, hidrofóbica y lipofílica que interactúa con los fosfolípidos y lipopolisacáridos que se encuentran en la membrana de las bacterias y penetra en la célula a través de algún tipo de transporte activo o pasivo (55).

Su eficacia se debe a la interacción de la carga positiva de la molécula con los grupos fosfato cargados negativamente en las paredes celulares microbianas, que altera el equilibrio osmótico de las células. Esto aumenta la permeabilidad de la pared celular, lo que permite la penetración de la molécula de CHX en la bacteria (56, 57). El daño a esta delicada membrana es seguido por la fuga de los componentes intracelulares, en particular de entidades de fosfato tales como el trifosfato de adenosina y los ácidos nucleicos. Como consecuencia, el citoplasma reduce la filtración; por lo tanto, hay un efecto bifásico sobre la permeabilidad de la membrana. La actividad antimicrobiana de la CHX depende del pH, siendo el intervalo óptimo entre 5.5-5.7 (58) como se muestra en la Figura 9.

Tiene una carga cationica que la hace capaz de unirse de forma electrostática a las cargas superficiales de las bacterias (59) dañando la pared celular y su permeabilidad (60-63).

Dependiendo de su concentracion puede tener efecto bactericida o bacteriostático, a altas concentraciones la CHX actúa como detergente y ejerce un efecto bactericida dañando la membrana celular y provocando la precipitación del citoplasma. En cambio, a bajas concentraciones es bacteriostático, causando sustancias de bajo peso molecular (es decir, fosfato y fósforo) para filtrar fuera de la membrana celular sin que la célula este permanentemente dañada (1).

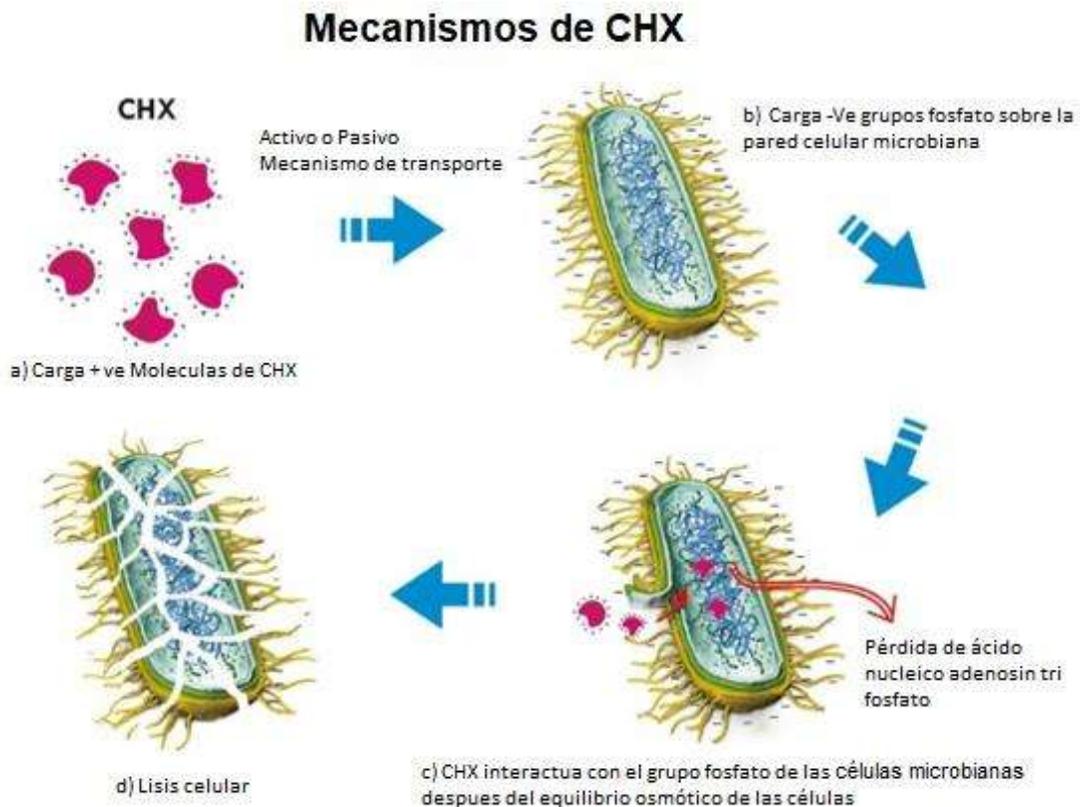


Figura 9. Mecanismo de acción de la clorhexidina. Modificado de Kandaswamy & Venkateshbabu, (49).

Comúnmente se utiliza la CHX al 2% en presentaciones de uso oral debido a que es bactericida, provocando una precipitación sobre los contenidos del citoplasma lo que

resulta la muerte celular (55). Sin embargo, carece por completo de la capacidad de disolución de tejido.

2.1.3.3 Ácido etilendiaminotetracético

El ácido etilendiaminotetracético (EDTA) es un ácido aminopolicarboxílico. Es un sólido soluble en agua e incoloro (1) y un quelante que reacciona con los iones de calcio en la dentina y forma quelatos de calcio solubles (64).

En la exposición directa durante un tiempo prolongado, el EDTA extrae las proteínas bacterianas de la superficie por la combinación de iones metálicos de la membrana celular los cuales pueden conducir a la muerte bacteriana. El EDTA forma un complejo estable con el calcio cuando todos los iones disponibles han sido ligados, se forma un equilibrio y ya no se disuelve más, por ello se puede mencionar que es auto limitado (65).

Se ha reportado que el EDTA descalcifica dentina a una profundidad de 20-30 μm en 5 minutos (64). Un enjuague continuo con 5ml de EDTA al 17% como un enjuague final durante 3 minutos elimina eficazmente la limalla dentinaria en las paredes del conducto radicular (66). Estudios reportan que existe una mayor eliminación de limalla dentinaria cuando se irriga EDTA durante 1 minuto mediante irrigación ultrasónica que durante 15 o 30 segundos (67).

2.1.3.4 Cloruro de benzalconio

El cloruro de benzalconio (BAC) es un detergente catiónico, el cual tiene una alta afinidad para proteínas de membrana. El potencial antibacteriano de BAC se basa en los cambios provocados sobre la resistencia iónica de las membranas celulares. BAC es ampliamente utilizado en oftalmología y en odontología como desinfectantes en enjuagues bucales (68).

El mecanismo de acción de BAC sobre las células bacterianas implica una perturbación general de la bicapa lipídica de la membrana citoplasmática bacteriana, tal acción conduce a una fuga generalizada y progresiva de materiales citoplasmáticos del medio (3).

2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.

2.2.1 Interacciones físico químicas de soluciones irrigadoras

Cuando se combinan dos o más soluciones ocurre una interacción físicoquímica entre ellas y puede dar como resultado algunos subproductos químicos como cambios de coloración, liberación de gases, reacciones exotérmicas y formaciones de precipitado; esto puede afectar la obturación del tratamiento de endodoncia.

2.2.1.1 Interacción entre NaOCl y CHX

Un estudio realizado por Basrani et al. (8) determinaron la concentración mínima de NaOCl que causa cambio de coloración y formación de un precipitado con 2% de CHX. Se colocaron 9 microtubos de NaOCl en las siguientes concentraciones; 6%, 3%, 1.5%, 0.75%, 0.38%, 0.19%, 0.094%, 0.047%, 0.023%. Dos microtubos más se añadieron como controles, conteniendo 6% de NaOCl solo, y el otro contenía 2% de CHX. Se añadió 0.5 ml de 2% de CHX en los 9 microtubos y se observó el cambio de color y la formación del precipitado cada 15 min durante 2 horas y una vez más después de 1 semana. Las pruebas se repitieron 10 veces. Se lavó el precipitado con agua estéril y se centrifugó, posteriormente se secó y se analizó con espectroscopia de fotoelectrones con rayos X para determinar la composición química y el índice atómico de las muestras. Se observó cambio de color en las 9 muestras con un rango de color durazno a café, este se hizo inmediatamente y no cambio con el tiempo. Observaron que NaOCl 0.19% combinado con 2% de CHX, da como resultado la formación de un precipitado que contiene Para-cloroanalina (PCA), este precipitado se incrementa directamente con el aumento en la concentración de NaOCl como se muestra en la Figura 11. Chhabra et al. (7) observaron que el PCA es cancerígeno en ratas, debido al incremento de sarcomas en el bazo. Estos autores mencionan que su principal efecto es la formación de metahemoglobina, dando como resultado cianosis.

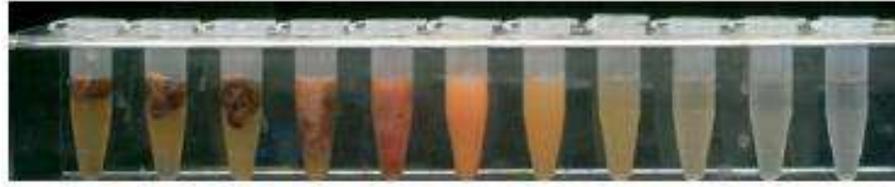


Figura 11. Imagen de los resultados del estudio realizado por Basrani et al. (8).

Autores como Thomas & Sem (9) usaron la resonancia magnética nuclear (RMN) para determinar si PCA se forma mediante la reacción de la mezcla de NaOCl y CHX. Una muestra de acetato de clorhexidina disponible comercialmente y PCA fueron analizados con un espectroscopio de RMN H^1 . Se preparó 2% de solución de CHX, y se calentó a $37^\circ C$, se mezcló con 50ml de NaOCl 5.25%, inmediatamente se formó un precipitado café y se tomaron 2 ml de la muestra en 60 min. La mitad se colocó en tubos de microfuga y se centrifugó a 14000 rpm por 2.5 minutos. El precipitado sólido se removió y se disolvió. Se realizó un estándar interno de 0.5 μl de 1-propanol limpio y se colocó en cada muestra. Esta solución se dividió a la mitad y 0.1mg/ml de PCA puro se añadió a una de las dos muestras y los espectros de RMN de cada una de las muestras se completaron a los $25^\circ C$. Los resultados indican algún tipo de P sustituto de benzeno pero no la formación de PCA en la reacción (9).

Nowicki & Sem (69) determinaron la composición química del precipitado formado por la mezcla de NaOCl y CHX, así como el peso relativo molecular de sus componentes. CHX disponible comercialmente se analizó por RMN H^1 , se preparó la solución de CHX y se calentó a $37^\circ C$ posteriormente se mezcló con NaOCl 5.25%, se formó el precipitado inmediatamente y se centrifugó a 14 000 rpm por 2.5 minutos. Se removió el precipitado y se analizó. Reportan la formación de dos productos, uno de los cuales es clorofenilurea que es similar a la cloroguanidina y una molécula relacionada a un compuesto alifático.

Calderón et al. (10), analizaron la formación y coloración de los precipitados resultantes de la interacción entre soluciones comerciales a base de NaOCl y CHX,

además evaluaron el pH de las soluciones mediante potenciometría. La muestra se dividió en 8 grupos experimentales:

Grupo 1: NaOCl de uso experimental al 6% y colutorio de digluconato de CHX al 0.12%, grupo 2: NaOCl de uso experimental al 6% y CHX al 2%, grupo 3: NaOCl 5.25% y CHX al 2%, grupo 4: NaOCl 5.25% y colutorio de digluconato de CHX al 0.12%, grupo 5: NaOCl de uso dental al 5.25% y colutorio de digluconato de CHX al 0.12%, grupo 6: NaOCl de uso dental al 5.25% y CHX al 2%, grupo 7: NaOCl al 2% y colutorio de digluconato de CHX al 0.12% y grupo 8: NaOCl 2% y CHX al 2%. Se mezclaron 500 µl de cada solución en los tubos de eppendorff de 1.5ml dejando reaccionar por 10 min. Se observaron los cambios de coloración en todos los grupos experimentales, excepto en los grupos 5 y 7, la formación de precipitados de color marrón y consistencia firme en los grupos 2 y 4, mientras que en los grupos 6 y 8 una coloración azul de consistencia friable se apreció en los precipitados formados como se muestra en la Figura 10. Se analizó la presencia de PCA en todos los grupos. En los grupos 2, 4-8 se observó la presencia de PCA y en los grupos 1 y 3 no se observó. Estos autores mencionan que las soluciones de NaOCl para uso doméstico y dental al interactuar con soluciones de CHX de uso clínico, promueven la degradación parcial o total de esta última y corroboran la presencia de PCA. También reportan que los hipocloritos de uso dental a concentración de 5.25% presentaron un pH=9.68 y el NaOCl del 2% un pH=9.49.

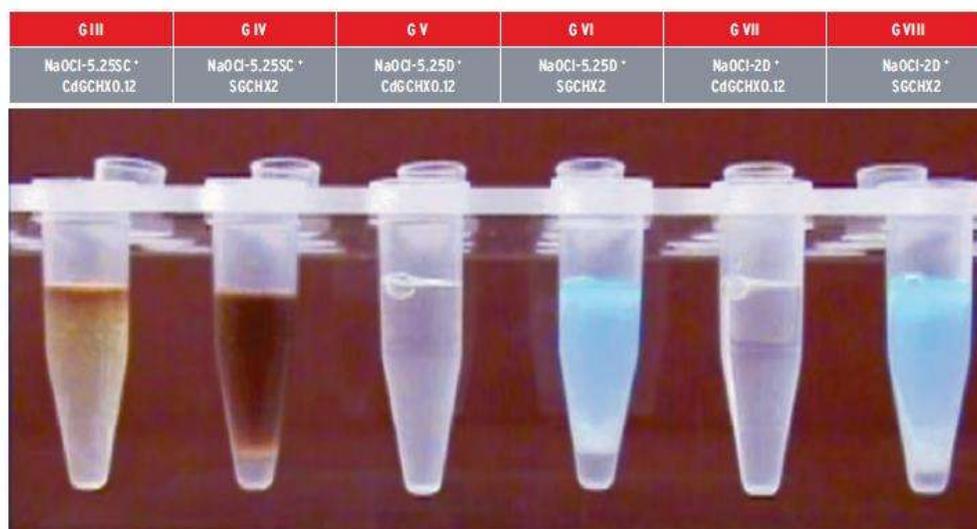


Figura 10. Imagen de las reacciones químicas realizadas por Calderón et al. (10).

2.2.1.2 Interacciones entre NaOCl y EDTA

En los experimentos realizados por Grawehr et al. (70) cuyo propósito fue evaluar algunos efectos de la mezcla entre las soluciones de NaOCl y EDTA. Se estudió su potencial quelante de calcio, el contenido en cloro libre, la capacidad de disolución del tejido y la efectividad antimicrobiana. Se mezcló EDTA 17% y NaOCl 0.5%, se compararon en proporción 1:1, en la mezcla de EDTA 17% y NaOCl 1% se evaluaron las propiedades antimicrobianas y la disolución de tejido, utilizando mucosa palatina porcina, y usando una prueba en platos con *Enterococcus faecalis* o *Candida albicans*. La cantidad de cloro disponible disminuyó 0.06% en la combinación de EDTA 17% y NaOCl 1%, tampoco disolvió más tejido que una solución de EDTA pura. Concluyeron que el EDTA conserva su habilidad de complejo de calcio, pero esto causa que el NaOCl disminuya su habilidad de disolución de tejido y virtualmente no se detectó cloro libre en esta combinación.

Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Grande et al. (71) cuyo objetivo fue esclarecer las interacciones químicas entre EDTA y NaOCl y analizar la reacción de oxidación a 1.5, 4.5, 7, 11, 16, 25, 50, 80 y 120 minutos mediante RMN. Se observó un proceso de oxidación del EDTA, el cual comenzó en un intervalo de tiempo de 7 a 11 minutos. Concluyeron que el NaOCl no limita la función del EDTA en ese intervalo de tiempo lo cual difícilmente ocurre durante el tratamiento clínico (71).

2.2.1.3 Interacción entre CHX y EDTA

Por otra parte, Rasimick et al. (72) determinaron si el precipitado blanco que se forma con la mezcla entre CHX y EDTA, implica la degradación química de cualquiera de los componentes. Se agregó CHX 2% a EDTA 17%, a CHX 20% a EDTA 17% y 17% de EDTA a 20% de CHX, se realizaron 3 muestras de cada una. Una porción del precipitado se disolvió en 0.1% de ácido trifluoroacético acuoso (TFA) con agitación formando una solución de 150 ppm. Se realizó una separación por cromatografía líquida de alta resolución, se formó un complejo absorbente de ultravioleta para

detectar los componentes. Los análisis de precipitados indican que más del 90% del precipitado estaba compuesto de EDTA o CHX. La relación molar en el precipitado fue de 1.6 a 1. También evaluaron la posible presencia de PCA en este precipitado por cromatografía líquida (HPLC), el umbral detectado para p-cloroanalina es de 1.5 ppm; por lo cual concluyen que P-cloroanalina no se detectó en el precipitado.

Prado et al. (11) realizó mezclas de diferentes soluciones utilizadas en endodoncia (Tabla 1) observando las interacciones químicas que se presentaban, así como subproductos formados por la asociación de los irrigantes y se analizaron a través del análisis de Electro spray por Ionización cuádruple y espectrometría de masas (ESI-QTOF-MS), las mezclas se realizaron en relación 1:1 y por triplicado. Observaron al mezclar soluciones a base de CHX 2% con NaOCl (5.25%, 2.5%, 1%, 0.16%) precipitados color naranja-café, sin presencia de PCA. La interacción entre soluciones de CHX 2% y EDTA 17% formaron un precipitado blanco lechoso debido a una reacción ácido-base. Al mezclar NaOCl con EDTA 17% ocurrió una formación de burbujas. En la tabla 1 se muestran algunos de sus resultados, así como en la Figura 12;

Tabla 1. Resultado de algunas interacciones químicas realizadas por Prado et al. (11).

Acceso	Solución 1	Solución 2	Apariencia de la asociación resultante
1	2% CHX solución	5.25% NaOCl	Precipitado Naranja-café.
2	2% CHX solución	2.5% NaOCl	Precipitado Naranja-café.
3	2% CHX solución	1% NaOCl	Precipitado Naranja-café.
4	2% CHX solución	0.16% NaOCl	Precipitado Naranja-blanco.
5	2% CHX solución	17% EDTA	Precipitado blanco lechoso.
6	2% CHX solución	Solución salina	Precipitación de sal.
7	2% CHX solución	Agua destilada	Sin cambios.
8	5.25% NaOCl	17% EDTA	Formación de burbujas.
9	5.25% NaOCl	Solución salina.	Sin cambios.
10	5.25% NaOCl	Agua destilada	Sin cambios.

11	2.5% NaOCl	17% EDTA	Formación de burbujas.
12	2.5% NaOCl	Solución salina.	Sin cambios.
13	2.5% NaOCl	Agua destilada	Sin cambios.
14	1% NaOCl	17% EDTA	Formación de burbujas.
15	1% NaOCl	Solución salina.	Sin cambios.
16	1% NaOCl	Agua destilada	Sin cambios.
17	0.16% NaOCl	17% EDTA	Sin cambios.
18	0.16% NaOCl	Solución salina.	Sin cambios.
19	0.16% NaOCl	Agua destilada	Sin cambios.

Estos autores recomiendan la aplicación abundante de agua destilada cada vez que se utilice una solución irrigadora distinta en un protocolo de irrigación, con la finalidad de remover la solución previamente utilizada.

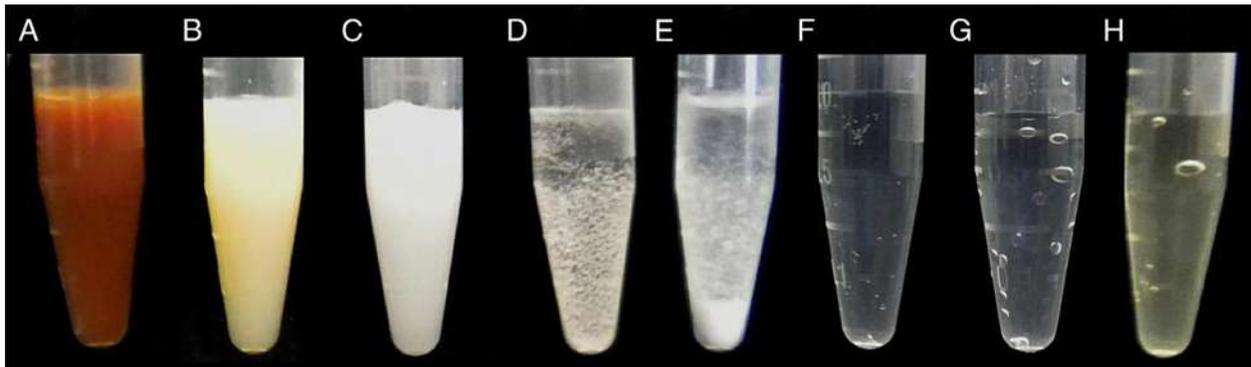


Figura. 12 Tomada de Prado et al. (9): (A) NaOCl 5.25% y CHX 2%; (B) NaOCl 0.16% y CHX 2%; (C) EDTA 17% y CHX 2%; (D) solución salina y CHX 2%; (E) etanol y CHX 2%; (F) NaOCl 5.25% y EDTA 17%; (G) NaOCl 5.25% y ácido cítrico 10%; (H) NaOCl 5.25% y ácido fosfórico 37%.

2.2.1.4 Interacción entre NaOCl y BAC

Jaramillo et al. (4) evaluaron y compararon el efecto del revestimiento superficial con BAC sobre la formación de biofilm por bacterias orales y del conducto radicular en un modelo de biofilm ex vivo y un sistema de biofilm in vitro. Se realizó en bloques de dentina radicular, las cuales se enjuagaron con 5ml de solución BAC 13% y NaOCl 1% por 1 hora. Después se recubrieron de cultivo, 4 días posteriores se tomaron imágenes

en el microscopio electrónico de barrido (SEM). En los grupos que no se revistieron, tuvieron una viabilidad celular mayor al 89%, el grupo de NaOCl presentó 59% de población viable a las 96 horas, en cambio, el grupo con BAC fue igual de alta que en los grupos control con un 88% de células viables, por lo que se sugiere que BAC no daña la membrana de los MO's, pero si interfiere en el mecanismo de adhesión de éstos. BAC tiene un potencial de reducción del biofilm que al parecer está relacionado con la etapa inicial de la formación del biofilm. Lo que podría prevenir la colonización bacteriana como suplemento de medicación intraconducto a través de obturaciones temporales.

Bukiet et al. (5) evaluaron el efecto de la adición de BAC al NaOCl en la humectabilidad, determinaron la concentración micelar crítica (CMC) del BAC en NaOCl. Investigaron la influencia de la adición del BAC sobre el nivel de cloro libre, citotoxicidad y actividad antibacteriana de la mezcla. Se investigaron 9 diferentes mezclas de NaOCl 2.4% con cloruro de benzalconio a concentraciones que varían de 0 a 1%. Se prepararon justo antes de cada experimento utilizando un agitador magnético inmediatamente antes de tomar las medidas. La solución como control fue de NaOCl al 2.4% sin BAC. La adición de 0.008% de BAC no modifico el nivel de cloro libre del irrigante, tampoco modifico la citotoxicidad, ni altero la propiedad antiséptica del irrigante contra *E. faecalis*. Esta solución irrigante actúa sobre los MO's organizados en biofilms e inactivan endotoxinas de estos. Añadiendo el surfactante, teóricamente permite un mejor alcance del irrigante en espacios diminutos. Adicionando 0.008% de BAC al NaOCl parece ser una técnica prometedora.

Baron et al. (6) midieron el efecto de NaOCl y BAC en la eliminación de biofilm de *E. faecalis* en modelos de dientes humanos y compararon la difusión del irrigante dentro de los túbulos dentinarios con o sin surfactante usando un microscopio láser de escaneo confocal. Lo realizaron en dientes anteriores extraídos de humanos y los dividieron en Grupo control, Grupo de NaOCl 6% y Grupo de 6% NaOCl/ BAC 0.008% preparado como Bukiet et al. (5). Después se hizo un análisis de pulverización y análisis CLSM por triplicado. Ambos grupos experimentales indicaron eficacia con

respecto a las bacterias reduciendo la carga bacteriana. El 68.8% del grupo NaOCl/BAC mostraron la eliminación completa de bacterias del conducto. La reducción media de carga en el grupo NaOCl fue del 71,8%, en comparación con el grupo NaOCl / BAC que fue de 87,8%. En las imágenes que obtuvieron del microscopio de escaneo confocal se observa que la solución NaOCl/BAC penetra más a través de los túbulos dentinarios en comparación con la solución de NaOCl, los investigadores de este trabajo concluyen que existe una mayor reducción bacteriana con las técnicas irrigantes combinadas con surfactantes (NaOCl/BAC) como se muestra en la Figura 13 (6).

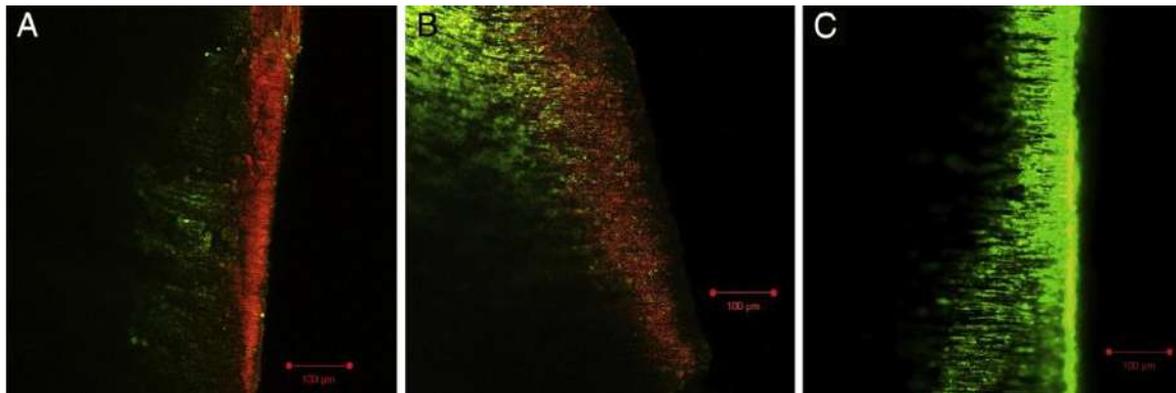


Figura 13. Tomada de Baron et al. (6): Imágenes representativas del microscopio laser de escaneo confocal. A) Diente del grupo NaOCl; la fluorescencia roja del yoduro es indicativa de muerte celular bacteriana, el área negra es el espacio del conducto y el área verde son células vivas (*E. faecalis*). B) diente del grupo NaOCl/BAC muestra la penetración de la solución a través de los túbulos dentinarios indicando la muerte celular. C) Imagen representativa del control positivo se observa una gruesa banda verde de células vivas en la pared del conducto.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Utilizar una solución irrigadora en el conducto radicular y no retirarla completamente antes de aplicar otro irrigante cuando se emplean protocolos de irrigación puede dar como resultado subproductos químicos que pueden ser tóxicos para los tejidos periapicales, además podrían formar precipitados que funcionan como una barrera entre el material de obturación y la superficie dentinaria. Esto a futuro podría ocasionar microfiltración.

En la literatura algunos autores reportan la presencia de reacciones no deseables cuando interactúan diferentes soluciones químicas que se utilizan en la irrigación de conductos radiculares, por ejemplo: la formación y coloración de los precipitados resultantes de la interacción entre soluciones comerciales a base de NaOCl de uso doméstico y dental con CHX de uso clínico, además corroboran mediante resonancia magnética nuclear la presencia de Para-cloroanilina (PCA) (10). La AAE establece que el NaOCl utilizado en la terapéutica endodóntica deben presentar un pH altamente alcalino (47). Calderón et al. (10) reportaron que los hipocloritos de uso dental, a concentración de 5.25% presentaron un pH=9.68 y el NaOCl del 2% un pH=9.49, por lo tanto, no cumplen con los criterios establecidos por la AAE.

Otro estudio realizado por Basrani et al. (8) determinaron la concentración mínima de NaOCl que causa cambio de coloración y formación de un precipitado, la cual fue de 0.19% combinado con 2% de CHX, dando como resultado la formación de PCA, este precipitado incrementa directamente con el aumento en la concentración de NaOCl. Chabra et al. (7) mencionan que el PCA es cancerígeno en ratas, debido al incremento de sarcomas en el bazo, en donde su principal efecto es la formación de metahemoglobina, dando como resultado cianosis. Por otra parte, Rasimick et al. (72) reportan la formación de un precipitado blanco en la interacción entre CHX 2% y EDTA 17%, también evaluaron la posible presencia de PCA en este precipitado por cromatografía líquida (HPLC), mencionando que no se existe la formación de PCA.

Autores como Thomas & Sem (9) y Nowicki & Sem (69), mencionan la formación de un precipitado color marrón al realizar interacciones químicas entre NaOCl 5.25% y CHX 2%, sin embargo, cuando analizan el PCA por RMN H¹ indican algún tipo de P sustituto de benceno, pero no la formación de PCA y reportan la formación de dos productos, uno de los cuales es clorofenilurea que es similar al cloroguanidina y una molécula relacionada a un compuesto alifático.

En los experimentos realizados por Grawehr et al. (70) mencionan que al momento de interactuar soluciones de NaOCl 1% y EDTA 17%, la cantidad de cloro disponible disminuye 0.06%, lo que altera la capacidad de disolución del tejido, pero no modifica la acción antimicrobiana de NaOCl. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Grande et al. (71) quienes concluyen que NaOCl no limita la función del EDTA en un periodo de tiempo entre 7 a 11 minutos.

El NaOCl tiene un efecto de blanqueamiento, disolución de tejido y también es un desinfectante eficaz, sin embargo, al utilizar EDTA en el conducto radicular y posteriormente colocar el NaOCl sin remover previamente el EDTA con solución salina estéril, sucede un proceso de oxidación, lo cual altera su efecto de disolución de la pulpa en lugares inaccesibles en el conducto radicular, por lo cual puede afectar en el pronóstico del tratamiento endodóntico.

Prado et al. (11) observaron que al mezclar soluciones a base CHX 2% con NaOCl (5.25%, 2.5%, 1%, 0.16%) se forman precipitados color naranja-café, sin presencia de PCA, también mencionan que la interacción entre soluciones de CHX 2% y EDTA 17% forman un precipitado blanco lechoso debido a una reacción ácido-base. Estos autores recomiendan la aplicación abundante de agua destilada cada vez que se utilice una solución irrigadora distinta en un protocolo de irrigación, con la finalidad de remover la solución previamente utilizada.

Debido a estos antecedentes, es importante evaluar interacciones químicas entre las soluciones antisépticas que se proponen utilizar en un protocolo de irrigación en

conductos radiculares, debido a que pueden dar como resultado formación de precipitados, cambios de coloración, creación de compuestos tóxicos y liberación de gases. Se desconoce la interacción química que pueda ocurrir entre NaOCl 2.4%/ BAC 0.008%, BAC a diferentes concentraciones y las soluciones químicas que son utilizadas convencionalmente en la irrigación de conductos radiculares: NaOCl (a diferentes concentraciones), CHX 2% y EDTA 17%, motivo por el cual resulta importante identificarlas, antes de utilizar la solución NaOCl 2.4%/ BAC 0.008% durante los tratamientos de endodoncia.

3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Qué cambios fisicoquímicos se presentarán al mezclar una solución de NaOCl 2.4%/ BAC 0.008% con soluciones irrigadoras a base de CHX 2% y EDTA 17%?

4. JUSTIFICACIÓN

Se conoce que las principales especies bacterianas que se encuentran en los conductos radiculares infectados en la porción apical son; *Actinomyces*, *Lactobacilos*, *Peptostreptococos*, *Veillonela párvula*, *Bacteroides*, *Enterococos faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Streptococcus mutans*, predominando las especies anaerobias estrictas con un 68% (73) en cambio en los órganos dentarios con retratamiento endodóntico y presencia de lesiones periapicales persistentes, se ha observado que el 80% de esos MO's presentes son Gram + y 58% anaerobios facultativos, las especies bacterianas más frecuentes en este caso son *E. faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Peptoespreptococos prevotii* y *Actinomyces naeslundii* (74).

Estas especies bacterianas se investigan por tener diferentes polisacáridos unidos a un complejo lipídico llamado lípido A. Formando así la porción lipídica de la membrana celular de estos MO's (75) se ha observado que los polisacáridos intervienen en el fenómeno de adhesión en el tejido dentinario y en el fenómeno de coagregación bacteriana durante la formación del biofilm.

Theilacker y cols. (76) reportan que la cepa 12030 de *E. faecalis* tiene dos polisacáridos parecidos a la estructura del ácido lipoteicoico uno está compuesto por poliglicerol fosfato, y el otro por poliglicerol fosfato sustituido con alanina en la posición C-2 de residuos de glicerol y la cepa MMH594 *E. faecalis* tiene un polisacárido denominado pCPS307 compuesto por ramnosa, glucosamina, galactosamina, glucosa, galactosa y fosfato.

En 2004 Theilacker, Krueger, Kropec & Huebner (77) mencionan que la cepa EFS 12030 de *E. faecalis* tiene dos polisacáridos; uno compuesto por ramnosa, glucosa, glucosamina y galactosamina y el segundo por glucosa, glicerol y fosfato en una proporción de 2: 1: 2.

Se ha reportado que *S. sanguis* tiene un polisacárido denominado 34 el cual está compuesto de ramnosa, glucosa, galactosa, y N-acetilgalactosamina y cumple la función de adhesina con *Actinomyces viscosus* T14V (78).

Mergenhagen (79) identifican que *Veillonella párvula* tiene dos polisacáridos denominados LPS1 compuesto por glucosa, galactosa y metilpentosa; LPC compuesto por glucosa, glucosamina y galactosamina.

En cambio, los polisacáridos presentes en *S. mutans* TW295 y TW871 están compuestos por polímeros de ramnosa y glucosa con una cadena principal de ramnosa y cadenas laterales de residuos glucosídicos (80).

En un artículo publicado por Bergström, Jansson, Kilian & Sorensen (81), indican que *S. mitis* SK 137 tiene dos polisacáridos; uno denominado C el cual tiene una cadena principal de hidratos de carbono y dos residuos de fosfocolina, ambos residuos de galactosamina en forma N-acetilada el cual tiene la función de antígeno común de una especie estrechamente relacionada a *Streptococcus pneumoniae* y el otro es un ácido teicoico el cual está compuesto por una unidad repetitiva de fosfato heptasacárido.

La diversidad de especies bacterianas que colonizan los conductos radiculares presentan en su superficie una gran variedad de polisacáridos, por ello se propone el uso de la solución BAC, ya que es un surfactante anfotérico que contiene moléculas anfipáticas como nitrógeno cuaternario asociado a un hidrófobo sustituyente que es capaz de reducir la tensión superficial y aumentar el área superficial hidrofóbica. El efecto repelente de los surfactantes se basa en sus propiedades fisicoquímicas y/o cambios estéricos provocados por cambios hidrofóbicos y de repulsión electrostática. Esta acción repulsiva puede estar asociada al nitrógeno cuaternario de su composición química puesto que está cargado positivamente e interactúa con los principales grupos de fosfolípidos junto con las membranas celulares bacterianas, en este caso las que se encuentran dentro del conducto radicular. Estas interacciones pueden incrementar la presión superficial en el espacio expuesto de las membranas y disminución del

potencial adhesivo dirigiéndose a funciones de osmoregulación y fisiológicas de las adhesinas bacterianas produciendo así la pérdida de adhesión de la bacteria (3).

En un estudio realizado por Jaramillo et al. (4) se observó que BAC interfiere en el mecanismo de adhesión del biofilm lo que parece estar relacionado con el estadio inicial de su formación, esto podría prevenir la colonización bacteriana al utilizar este compuesto como una medicación intraconducto y así evitar la formación del biofilm.

En otra investigación elaborada por Bukiet, et al. (5) crearon una solución a base de BAC de 0.008% y NaOCl 2.4% y se observó que esta combinación no modificó el nivel de cloro libre del irrigante, tampoco modificó la citotoxicidad en fibroblastos cultivados, ni alteró la propiedad antiséptica del irrigante contra un medio de cultivo de *E. faecalis*. Esta mezcla se propone como irrigante de conductos, ya que actúa sobre los microorganismos organizados en biofilms e inactivan endotoxinas. Añadiendo el surfactante a la solución, permite un mejor alcance del irrigante en espacios diminutos debido a que disminuye su tensión superficial presente en los conductos radiculares (5).

Por consiguiente, Baron et al. (6) midieron el efecto de NaOCl y BAC en la eliminación de biofilm de *E. faecalis* en modelos de dientes humanos y compararon la difusión del irrigante dentro de los túbulos dentinarios con o sin surfactante usando un microscopio láser de escaneo confocal. Estos autores mencionan que el 68.8% del grupo NaOCl 2.4%/BAC 0.008% mostraron la eliminación completa de bacterias del conducto, en las imágenes que obtuvieron del microscopio de escaneo confocal se observa que la solución NaOCl 2.4%/BAC 0.008% penetra más a través de los túbulos dentinarios en comparación con la solución de NaOCl.

A causa de estos hallazgos, se observa que las propiedades surfactantes de la solución BAC podrían ser útiles para potencializar la limpieza de los conductos radiculares, sin embargo, previo a esto es importante realizar ensayos de interacción fisicoquímica entre las distintas soluciones irrigadoras que comúnmente son utilizadas

durante los protocolos de limpieza, con la finalidad de detectar posibles interacciones no deseadas en los conductos radiculares, como la formación de precipitados, reacciones exotérmicas, cambios de coloración, liberación de gases etc., que pudieran interferir en el tratamiento endodóntico.

4.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO

Ht: La mezcla de NaOCl 2.4%/BAC 0.008% inducirá cambios fisicoquímicos al realizar ensayos de interacción con soluciones de CHX 2% y EDTA 17%.

5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

5.1 Objetivo General:

Evaluar *in vitro* interacciones fisicoquímicas entre la mezcla de NaOCl 2.4%/BAC 0.008% con soluciones irrigadoras utilizadas en la limpieza de conductos radiculares.

5.2 Objetivos Específicos:

1.- Determinar el potencial de Hidrógeno mediante potenciometría de las diferentes soluciones químicas a base de BAC, NaOCl, CHX, EDTA, NaOCl/BAC utilizadas durante los ensayos de interacción fisicoquímica.

2.- Evaluar *in vitro la formación de* precipitados, liberación de gases, cambios de coloración y reacciones exotérmicas en interacciones fisicoquímicas entre BAC vs NaOCl, BAC vs CHX, BAC vs EDTA, NaOCl/BAC vs CHX, NaOCl/BAC vs EDTA.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Universo de estudio:

Soluciones químicas utilizadas en los ensayos de interacciones físicoquímicas;

* NaOCl 6% grado técnico, Clorox®, Cloralex®, Clorhexidina 2%, EDTA 17%, BAC 10% grado técnico como se muestra en la Figura 14.



Figura 14. Soluciones químicas empleadas en el experimento.

6.2 Clasificación del estudio: Experimental-comparativo.

6.3 Criterios de elegibilidad

6.3.1 Criterios de inclusión

- Soluciones antimicrobianas a base de NaOCl: Clorox®, Cloralex® y grado técnico 6%.
- Gluconato de Clorhexidina 2%.
- Solución detergente cuaternaria Cloruro de Benzalconio 10%.
- Solución quelante EDTA 17%.
- En relación a las soluciones grado técnico deben presentar la hoja de certificación.

6.3.2 Criterios de no inclusión

- Soluciones con fecha de caducidad ya vencida.
- Soluciones con tapón de seguridad alterado.

6.4 Procedimiento Metodológico

6.4.1 Preparación, dilución y acondicionamiento de las soluciones químicas.

- Se realizaron diluciones de las siguientes soluciones:
 - De una solución de NaOCl 6% grado técnico a una solución al 3%
 - De una solución de NaOCl 6% grado técnico a una solución al 2.4%
 - De una solución de Clorox® en concentración integra a una dilución 1:1
 - De una solución de Cloralex® en concentración integra a una dilución 1:1
 - De una solución BAC 10% a una solución BAC 5%
 - De una solución BAC 10% a una solución BAC 3%
 - De una solución BAC 10% a una solución BAC 1%
 - De una solución BAC 10% a una solución BAC 0.008%, véase Figura 15.
- Formula estequiométrica utilizada para preparar las diluciones:

$$C_1 \times V_1 = C_f \times V_f$$

C₁ = Concentración inicial (solución 1).

V₁ = Volumen inicial (solución 1).

C_f = Concentración final (Solución 2).

V_f = Volumen final (solución 2).

Nota: Para realizar el afore de las diluciones se utilizó agua bidestilada estéril PiSA®.

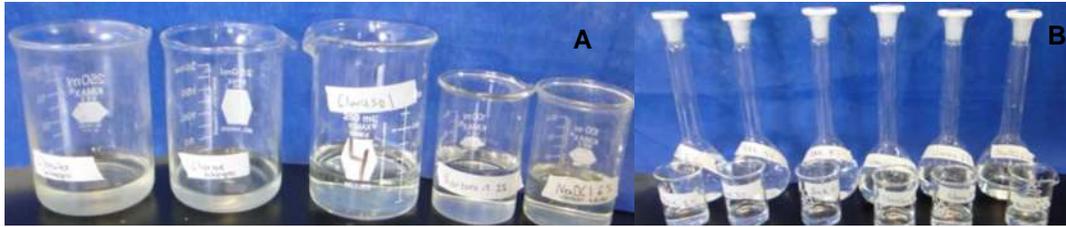


Figura 15. Soluciones químicas empleadas **A)** Soluciones integras en los vasos de precipitado, **B)** soluciones diluidas en matraces volumétricos y vasos de precipitado.

6.4.2 FASE EXPERIMENTAL 1: Determinación del potencial de Hidrógeno de las soluciones químicas NaOCl/BAC, NaOCl, CHX, EDTA y BAC, mediante potenciometría.

- Se depositaron en vasos de precipitado 60 ± 15 ml de cada una de las soluciones para tomar la lectura del pH y temperatura, mediante un potenciómetro HM DIGITAL®. Se sumergió el electrodo en la solución durante 10 a 15 segundos hasta que la lectura se estabilizara y se reportó la lectura. Utilizando una piceta con agua destilada estéril se realizó la limpieza del electrodo entre cada solución como se muestra en la Figura 16. Los datos se recolectaron en una tabla 2 de contingencia en la hoja de cálculo Excel.

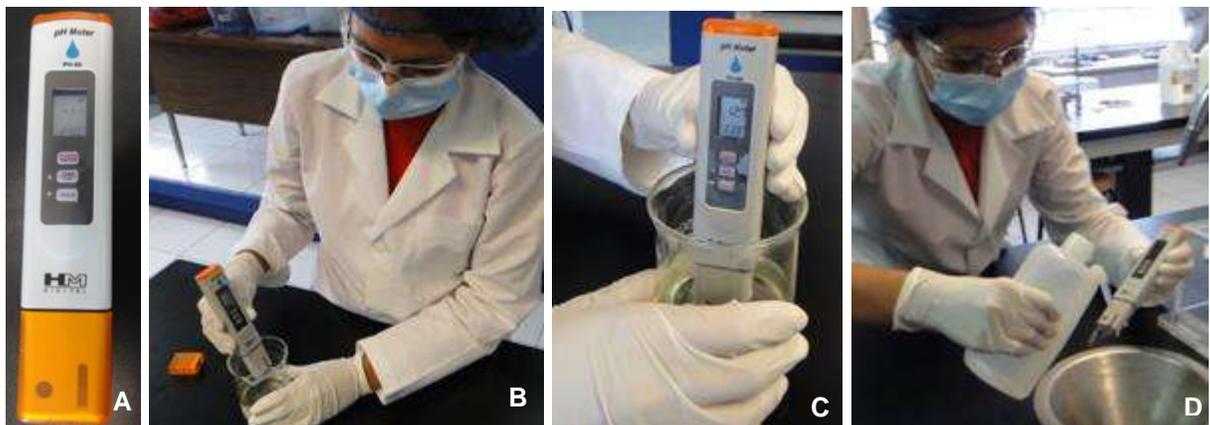


Figura 16. Medición de pH de las soluciones, **A)** potenciómetro HM DIGITAL®, **B)** inmersión del potenciómetro en las soluciones, **C)** lectura del pH **D)** lavado del electrodo.

Tabla 2. Representa la lista de soluciones químicas a las cuales se registró su pH y temperatura.

Soluciones químicas	pH	Temperatura
NaOCl 2.4% / BAC 0.008%		
NaOCl 6% Tec.		
NaOCl 6% Tec. 1:1		
Clorox® integra		
Clorox® 1:1		
Cloralex® integra		
Cloralex® 1:1		
CHX 2%		
EDTA 17%		
BAC 10% Tec.		
BAC 5%		
BAC 3%		
BAC 1%		

6.4.3 FASE EXPERIMENTAL 2: Evaluación *in vitro* de las interacciones fisicoquímicas entre las soluciones químicas.

- Se utilizó una micropipeta, puntas azules, tubos de ensayo con tapón de rosca, y aplicadores de madera para llevar a cabo las mezclas entre cada una de las soluciones (Figura 17).

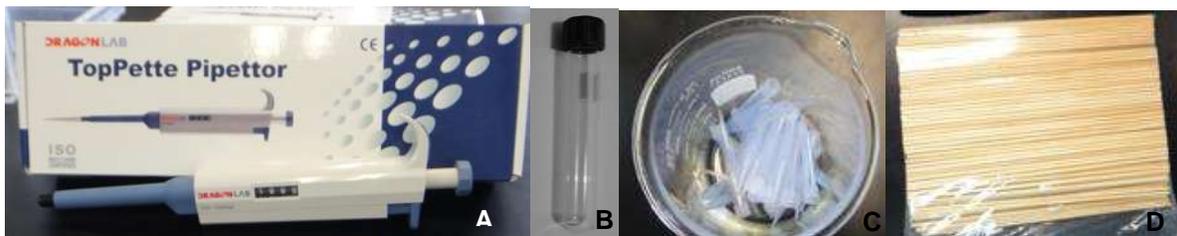


Figura 17. Material utilizado para la realización de interacciones fisicoquímicas de las soluciones. **A)** Micropipeta DRAGON LAB, **B)** tubo de ensayo con tapón de rosca, **C)** puntas azules y **D)** aplicadores de madera.

- Con ayuda de la micropipeta DRAGON LAB se insertó una punta azul y se tomó 2 ml de cada solución, después se depositó el contenido en tubos de ensayo, una vez colocadas las dos soluciones la mezcla se dejó reposar durante 30 minutos para observar posibles cambios físicos o químicos como: formación de precipitados, cambios de coloración, liberación de gases, reacciones exotérmicas, etcétera.
- En la Tabla 3 se registraron las observaciones de las mezclas, colocando un signo + cuando la prueba se reportaba como positiva y un signo – cuando la interacción entre las soluciones no presentaba algún cambio fisicoquímico.

Tabla 3. Representa la lista de soluciones químicas que se mezclaron en cada tubo de ensayo.

INTERACCIONES QUÍMICAS						
Solución 1	Solución 2	Precipitado	Color	Gases	Reacción exotérmica	Otras observaciones
NaOCl 2.4% / BAC 0.008%	CHX 2%					
NaOCl 2.4% / BAC 0.008%	EDTA17%					
NaOCl 2.4%	CHX 2%					
NaOCl 2.4%	EDTA17%					
BAC 0.008%	CHX 2%					
BAC 0.008%	EDTA17%					
NaOCl 6% tec.	CHX 2%					
NaOCl 6% tec.	EDTA 17%					
NaOCl 6% tec.	BAC 10% Tec.					
NaOCl 6% tec.	BAC 5%					
NaOCl 6% tec.	BAC 3%					
NaOCl 6% tec.	BAC 1%					
NaOCl 6% tec. 1:1	CHX 2%					
NaOCl 6% tec. 1:1	EDTA 17%					
NaOCl 6% tec. 1:1	BAC 10% Tec.					
NaOCl 6% tec. 1:1	BAC 5%					
NaOCl 6% tec. 1:1	BAC 3%					
NaOCl 6% tec. 1:1	BAC 1%					
Clorox® integra	CHX 2%					

INTERACCIONES FISICOQUIMICAS ENTRE LA SOLUCIÓN DE NaOCI 2.4%/BAC 0.008% CON IRRIGANTES UTILIZADOS EN ENDODONCIA

Clorox® integra	EDTA 17%					
Clorox® integra	BAC 10% Tec.					
Clorox® integra	BAC 5%					
Clorox® integra	BAC 3%					
Clorox® integra	BAC 1%					
Clorox® 1:1	CHX 2%					
Clorox® 1:1	EDTA 17%					
Clorox® 1:1	BAC 10% Tec.					
Clorox® 1:1	BAC 5%					
Clorox® 1:1	BAC 3%					
Clorox® 1:1	BAC 1%					
Cloralex® integra	CHX 2%					
Cloralex® integra	EDTA 17%					
Cloralex® integra	BAC 10% Tec.					
Cloralex® integra	BAC 5%					
Cloralex® integra	BAC 3%					
Cloralex® integra	BAC 1%					
Cloralex® 1:1	CHX 2%					
Cloralex® 1:1	EDTA 17%					
Cloralex® 1:1	BAC 10% Tec.					
Cloralex® 1:1	BAC 5%					
Cloralex® 1:1	BAC 3%					
Cloralex® 1:1	BAC 1%					
CHX 2%	EDTA 17%					
CHX 2%	BAC 10% Tec.					
CHX 2%	BAC 5%					
CHX 2%	BAC 3%					
CHX 2%	BAC 1%					
EDTA 17%	BAC 10% Tec.					
EDTA 17%	BAC 5%					
EDTA 17%	BAC 3%					
EDTA 17%	BAC 1%					

7. RESULTADOS.

Tabla 4. Representación del potencial de Hidrógeno y temperatura de las soluciones químicas: BAC, NaOCl, CHX, EDTA, NaOCl/BAC mediante potenciometría.

Soluciones químicas	Potencial de Hidrógeno	Temperatura
NaOCl 2.4% / BAC 0.008%	12.8	26.6°C
NaOCl 6% Tec.	12.9	23.4 °C
NaOCl 6% Tec. 1:1	12.6	24.5 °C
Clorox® integra	10.5	23.1 °C
Clorox® 1:1	10.5	24.5 °C
Cloralex® integra	12.9	23.2 °C
Cloralex® 1:1	12.6	24.6 °C
CHX 2%	6	23.5 °C
EDTA 17%	8.4	23.2 °C
BAC 10% Tec.	7.1	23.3 °C
BAC 5%	6.7	24.5 °C
BAC 3%	6.6	24.4 °C
BAC 1%	6.7	24.8 °C

Tabla 5. Representa los resultados de la evaluación *in vitro* respecto a la formación de precipitados, liberación de gases, cambios de coloración y reacciones exotérmicas entre las interacciones fisicoquímicas: BAC vs NaOCl, BAC vs CHX, BAC vs EDTA, NaOCl/BAC vs CHX, NaOCl/BAC vs EDTA.

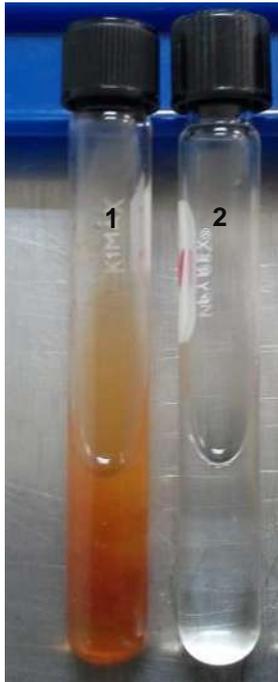
INTERACCIONES QUÍMICAS						
Solución 1	Solución 2	Precipitado	Color	Gases	Reacción exotérmica	Otras observaciones
NaOCl 2.4% / BAC 0.008%	CHX 2%	+	Marrón	-	-	
NaOCl 2.4% / BAC 0.008%	EDTA17%	-	-	+	-	
NaOCl 2.4%	CHX 2%	+	Marrón	-	-	
NaOCl 2.4%	EDTA17%	-	-	+	-	
BAC 0.008%	CHX 2%	-	-	-	-	

INTERACCIONES FISICOQUIMICAS ENTRE LA SOLUCIÓN DE NaOCI 2.4%/BAC 0.008% CON IRRIGANTES UTILIZADOS EN ENDODONCIA

BAC 0.008%	EDTA17%	-	-	-	-	
NaOCI 6% tec.	CHX 2%	+	Marrón	-	-	
NaOCI 6% tec.	EDTA 17%	-	-	-	-	Espuma en la superficie
NaOCI 6% tec.	BAC 10% Tec.	-	Blanco	-	-	Anillo blanco grueso en la superficie.
NaOCI 6% tec.	BAC 5%	-	Blanco	-	-	Anillo blanco delgado en la superficie.
NaOCI 6% tec.	BAC 3%	-	Blanco	-	-	Anillo blanco delgado en la superficie.
NaOCI 6% tec.	BAC 1%	-	Blanco	-	-	Anillo blanco delgado en la superficie.
NaOCI 6% tec. 1:1	CHX 2%	+	Marrón	-	-	Precipitado en la superficie.
NaOCI 6% tec. 1:1	EDTA 17%	-	-	+	-	Ligera espuma en la superficie
NaOCI 6% tec. 1:1	BAC 10% Tec.	-	Ligeramente turbia	-	-	Ligeramente turbio.
NaOCI 6% tec. 1:1	BAC 5%	-	Blanco lechoso	-	-	Anillo blanco grueso en la superficie.
NaOCI 6% tec. 1:1	BAC 3%	-	Blanco lechoso	-	-	Anillo blanco delgado en la superficie.
NaOCI 6% tec. 1:1	BAC 1%	-	Blanco	-	-	Anillo blanco muy delgado en la superficie.
Clorox [®] integra	CHX 2%	+	Marrón	-	-	Precipitado en la superficie.
Clorox [®] integra	EDTA 17%	-	-	-	-	Espuma en la superficie.
Clorox [®] integra	BAC 10% Tec.	-	-	-	-	
Clorox [®] integra	BAC 5%	-	-	-	-	
Clorox [®] integra	BAC 3%	-	-	-	-	
Clorox [®] integra	BAC 1%	-	-	-	-	
Clorox [®] 1:1	CHX 2%	+	Marrón	-	-	Precipitado en la superficie.
Clorox [®] 1:1	EDTA 17%	-	-	-	-	
Clorox [®] 1:1	BAC 10% Tec.	-	-	-	-	
Clorox [®] 1:1	BAC 5%	-	-	-	-	
Clorox [®] 1:1	BAC 3%	-	-	-	-	
Clorox [®] 1:1	BAC 1%	-	-	-	-	
Cloralex [®] integra	CHX 2%	+	Marrón	-	-	Precipitado en la parte inferior.
Cloralex [®] integra	EDTA 17%	-	-	-	+	Espuma en la superficie.
Cloralex [®] integra	BAC 10% Tec.	-	-	-	-	
Cloralex [®] integra	BAC 5%	-	-	-	-	
Cloralex [®] integra	BAC 3%	-	-	-	-	
Cloralex [®] integra	BAC 1%	-	-	-	-	
Cloralex [®] 1:1	CHX 2%	+	Marrón	-	-	Precipitado en la superficie.
Cloralex [®] 1:1	EDTA 17%	-	-	-	-	
Cloralex [®] 1:1	BAC 10% Tec.	-	-	-	-	
Cloralex [®] 1:1	BAC 5%	-	-	-	-	

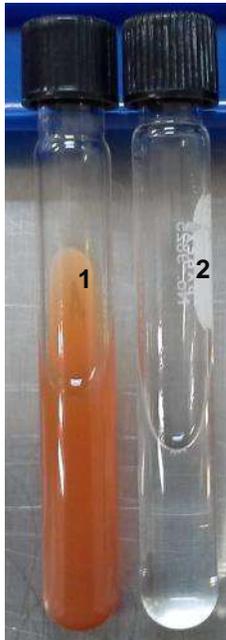
Cloralex® 1:1	BAC 3%	-	-	-	-	
Cloralex® 1:1	BAC 1%	-	-	-	-	
CHX 2%	EDTA 17%	-	Blanco	-	-	
CHX 2%	BAC 10% Tec.	-	-	-	-	
CHX 2%	BAC 5%	-	-	-	-	
CHX 2%	BAC 3%	-	-	-	-	
CHX 2%	BAC 1%	-	-	-	-	
EDTA 17%	BAC 10% Tec.	-	-	-	-	
EDTA 17%	BAC 5%	-	-	-	-	
EDTA 17%	BAC 3%	-	-	-	-	
EDTA 17%	BAC 1%	-	Turbio	-	-	

- Se tomó imagen de los tubos de ensayo una vez realizadas las mezclas de soluciones.



1	NaOCl 2.4% / BAC 0.008%	CHX 2%
2	NaOCl 2.4% / BAC 0.008%	EDTA 17%

Figura 18. Interacciones químicas, se observa en: 1) Formación de precipitado marrón en la superficie, 2) Formación de burbujas en la superficie.



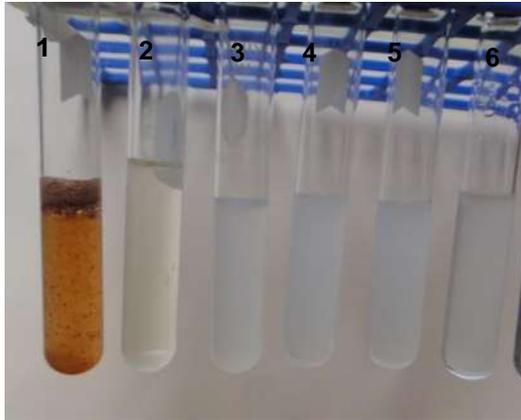
1	NaOCl 2.4%	CHX 2%
2	NaOCl 2.4%	EDTA17%

Figura 19. Interacciones químicas donde se observa en la mezcla 1) Formación de precipitado marrón en la superficie, 2) Formación de burbujas en la superficie.



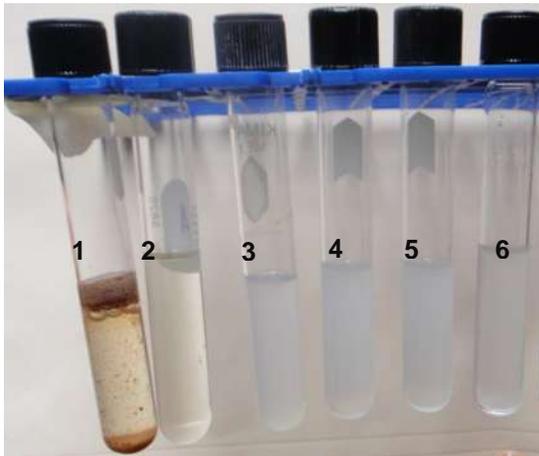
1	BAC 0.008%	CHX 2%
2	BAC 0.008%	EDTA17%

Figura 20. Interacciones químicas en las cuales no se observa ningún cambio.



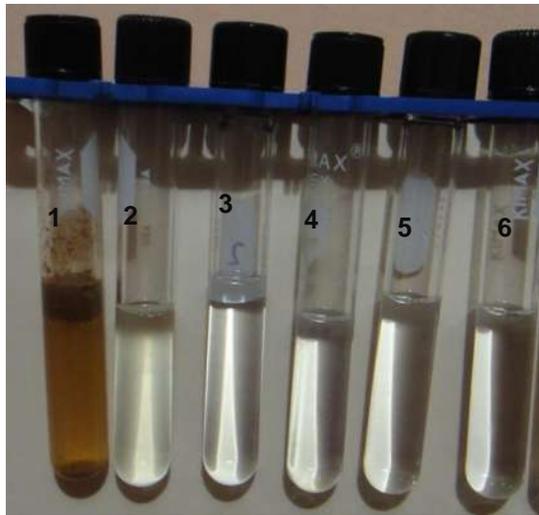
1	NaOCl 6% <u>tec.</u>	CHX 2%
2	NaOCl 6% <u>tec.</u>	EDTA 17%
3	NaOCl 6% <u>tec.</u>	BAC 10% <u>Tec.</u>
4	NaOCl 6% <u>tec.</u>	BAC 5%
5	NaOCl 6% <u>tec.</u>	BAC 3%
6	NaOCl 6% <u>tec.</u>	BAC 1%

Figura 21. Interacciones químicas donde se muestra; 1) La formación de precipitado color marrón, 2) Formación de burbujas en la superficie, 3, 4, 5, 6 Anillo blanco grueso en la superficie.



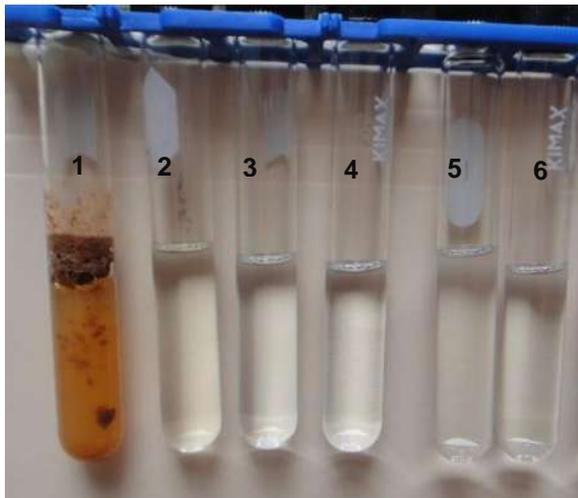
1	NaOCl 6% <u>tec.</u> 1:1	CHX 2%
2	NaOCl 6% <u>tec.</u> 1:1	EDTA 17%
3	NaOCl 6% <u>tec.</u> 1:1	BAC 10% <u>Tec.</u>
4	NaOCl 6% <u>tec.</u> 1:1	BAC 5%
5	NaOCl 6% <u>tec.</u> 1:1	BAC 3%
6	NaOCl 6% <u>tec.</u> 1:1	BAC 1%

Figura 22. Interacciones químicas: 1) Formación de precipitado marrón en la superficie, 2) Formación de burbujas en la superficie y liberación de gases 3) Turbidez, 4, 5) Anillo blanco lechoso grueso en la superficie, 6) Anillo blanco grueso en la superficie, 7) coloración blanquecina al momento de mezclar las soluciones.



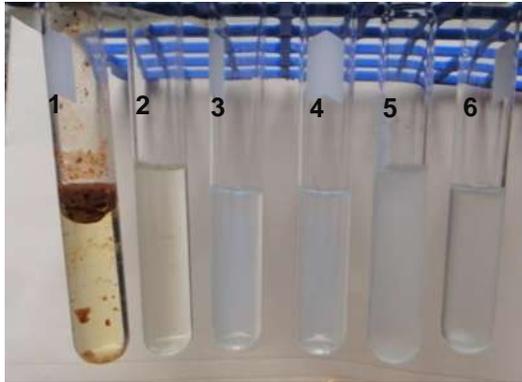
1	<u>Clorox</u> integra	CHX 2%
2	<u>Clorox</u> integra	EDTA 17%
3	<u>Clorox</u> integra	BAC 10% <u>Tec.</u>
4	<u>Clorox</u> integra	BAC 5%
5	<u>Clorox</u> integra	BAC 3%
6	<u>Clorox</u> integra	BAC 1%

Figura 23. Interacciones químicas que muestran 1) Formación de precipitado marrón, 2) Formación de burbujas en la superficie.



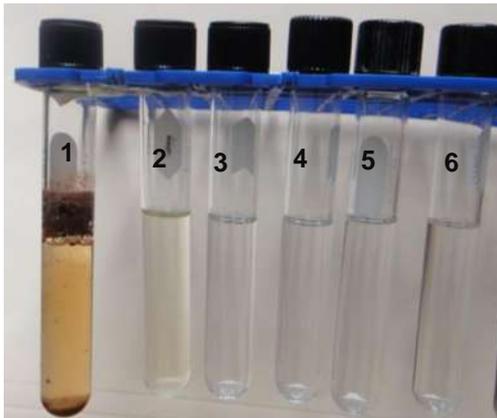
1	<u>Clorox</u> 1:1	CHX 2%
2	<u>Clorox</u> 1:1	EDTA 17%
3	<u>Clorox</u> 1:1	BAC 10% <u>Tec.</u>
4	<u>Clorox</u> 1:1	BAC 5%
5	<u>Clorox</u> 1:1	BAC 3%
6	<u>Clorox</u> 1:1	BAC 1%

Figura 24. Interacciones químicas: 1) Formación de precipitado marrón en la superficie.



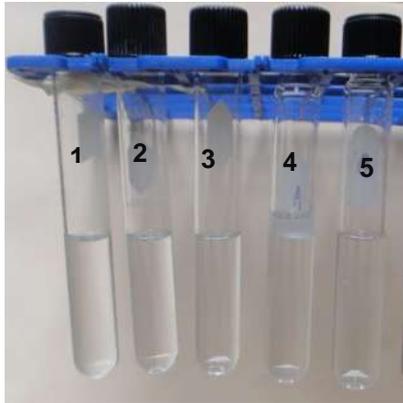
1	Cloralex integra	CHX 2%
2	Cloralex integra	EDTA 17%
3	Cloralex integra	BAC 10% <u>Tec.</u>
4	Cloralex integra	BAC 5%
5	Cloralex integra	BAC 3%
6	Cloralex integra	BAC 1%

Figura 25. Interacciones químicas que muestran: 1) Formación de precipitado marrón en la superficie, 2) Formación de burbujas en la superficie y reacción exotérmica.



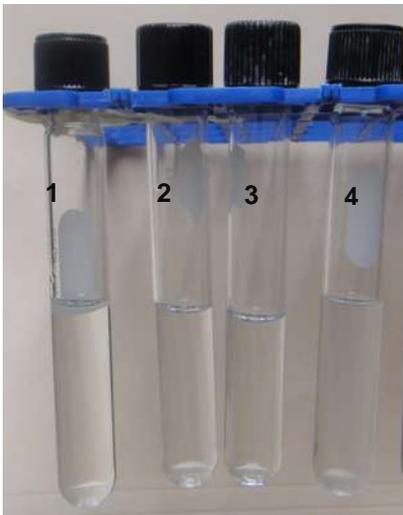
1	Cloralex 1:1	CHX 2%
2	Cloralex 1:1	EDTA 17%
3	Cloralex 1:1	BAC 10% <u>Tec.</u>
4	Cloralex 1:1	BAC 5%
5	Cloralex 1:1	BAC 3%
6	Cloralex 1:1	BAC 1%

Figura 26. Interacciones químicas, en las cuales se observa 1) Formación de precipitado marrón en la superficie.



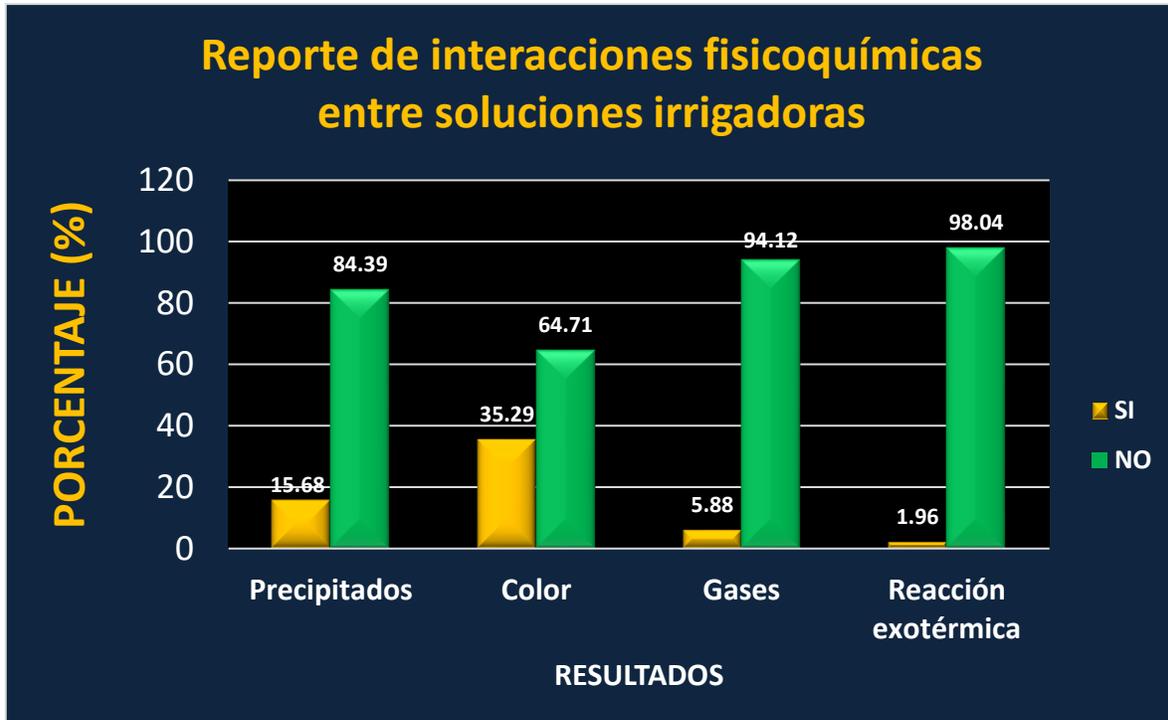
1	CHX 2%	EDTA 17%
2	CHX 2%	BAC 10% <u>Tec.</u>
3	CHX 2%	BAC 5%
4	CHX 2%	BAC 3%
5	CHX 2%	BAC 1%

Figura 27. Interacciones químicas, mostrando en 1) Coloración blanquecina, 2) Cambio de coloración amarilla.

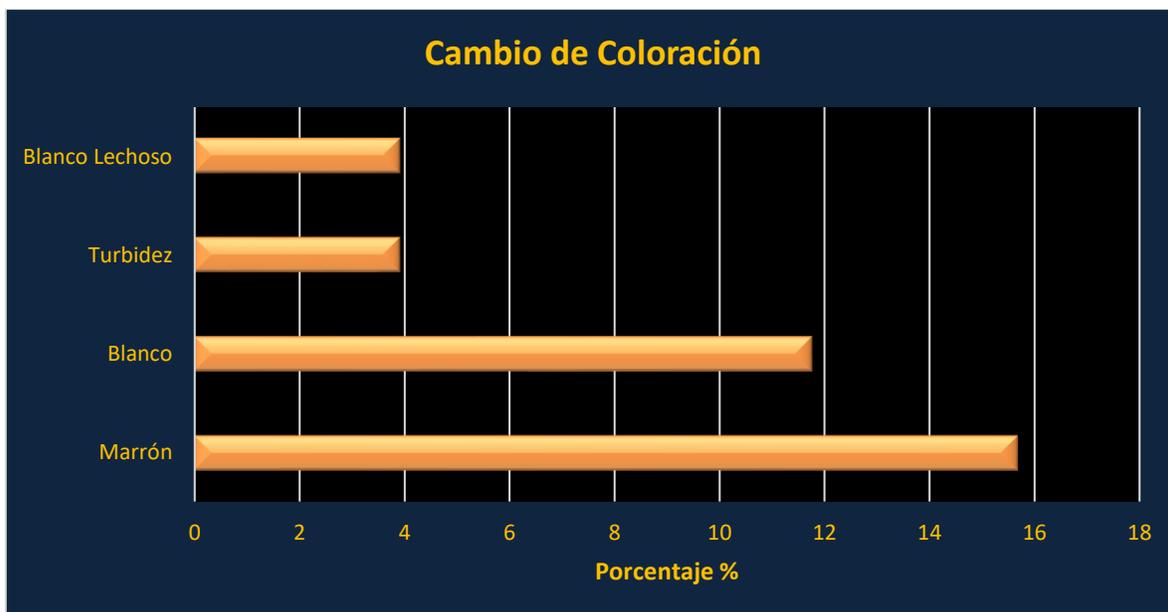


1	EDTA 17%	BAC 10% <u>Tec.</u>
2	EDTA 17%	BAC 5%
3	EDTA 17%	BAC 3%
4	EDTA 17%	BAC 1%

Figura 28. Interacciones químicas, observando en el número 4) Turbidez.



Gráfica 1. En esta gráfica se aprecia que el 35.29% de las interacciones entre las soluciones presentó cambio de color, 15.68% formó precipitados, 5.88% liberaron gases y 1.96% tuvieron una reacción exotérmica.



Gráfica 2. El 35.29% cambio de color, de los cuales 4 tomaron una coloración blanco lechoso y turbio, 6 presentaron color blanco y 8 mostraron un color marrón.

8. DISCUSIÓN.

Al proponer una solución antimicrobiana a base de BAC en protocolos de irrigación de conductos radiculares, es de vital importancia evaluar sus posibles interacciones con las soluciones que convencionalmente se utilizan durante el tratamiento endodóntico, con la finalidad de identificar posibles productos tóxicos que puedan influir en el éxito del tratamiento. El presente estudio de investigación experimental *in vitro* proporcionó información muy valiosa en relación a estas interacciones.

Las soluciones de BAC 10%, 5%, 3% y 1% presentaron los siguientes valores de pH respectivamente 7.1, 6.7, 6.6 y 6.7, se aprecia que los valores tienden a ser de naturaleza ácida. Por otra parte, las soluciones de NaOCl de uso doméstico analizadas en este estudio presentaron valores alcalinos: Cloralex® pH= 12.9 y Clorox® pH=10.5. Por lo tanto, al realizar las interacciones entre estas soluciones se esperaría un efecto oxidante por parte de las soluciones de NaOCl a las soluciones de BAC, induciendo así la formación de posibles sales y neutralización de las soluciones a base de BAC. Sin embargo, al mezclar las soluciones de BAC 10%, 5%, 3% y 1% con Clorox® y Cloralex® íntegros y diluidos en proporción 1:1, no se presentó ninguna reacción fisicoquímica visible, independientemente de los valores de pH de las soluciones.

En cambio, se originó una interfase al mezclar BAC 10%, 5%, 3% y 1% con NaOCl grado técnico en proporción 1:1, observándose la formación de un anillo blanco con una coloración blanquecina en la superficie, esto posiblemente se debe a los cambios de densidad entre los principios activos: BAC = 0.95 gr/ml la cual es menor que la solución de NaOCl= 1.04 gr/ml. Por otra parte, al realizar las mezclas entre BAC a sus diferentes concentraciones con CHX 2% no se observaron cambios visibles en los productos resultantes. Aunque al mezclar BAC 1% con EDTA 17% se generó una turbidez debido a la posible formación de sales, posiblemente al pH del EDTA, ya que éste es alcalino y BAC es ácido, así como la baja concentración de BAC, pero al mezclar EDTA 17% con BAC 10%, 5% y 3% no se observó ningún cambio fisicoquímico.

Por otra parte, al realizar la solución entre NaOCl 2.4% / BAC 0.008%, se observó que su pH=12.8, el cual es muy similar al pH obtenido a la solución de NaOCl 6% grado técnico y Cloralex, lo que indica que BAC no modifica las propiedades antimicrobianas del NaOCl, como lo menciona Bukiet et al. (5). Sin embargo, al mezclar la solución de NaOCl 2.4% / BAC 0.008% con CHX 2% se forma un precipitado de color marrón en la superficie, precipitado semejante al que reporta Calderón Rojas et al. (10).

Además, al mezclar la solución de NaOCl 2.4% / BAC 0.008% con EDTA 17% se presentó liberación de gases, formando burbujas en la superficie, esta reacción también fue reportada por Grande et al. (71). Al mezclar NaOCl a diferentes concentraciones de EDTA, estos autores mencionan la presencia de una reacción de oxidación del EDTA por parte del NaOCl. Razón por la cual se debe tener cuidado de no mezclar estas soluciones durante los tratamientos de conductos radiculares.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en el presente estudio se propone investigar dos protocolos de irrigación durante el tratamiento de endodoncia, en los cuales se podría utilizar la solución BAC/NaOCl con el objetivo de mejorar la limpieza en los conductos radiculares.

Uno de los protocolos de irrigación propuestos una vez terminado el proceso de instrumentación consistiría en la irrigación ultrasónica con EDTA 17% durante 20 segundos para remover el barrillo dentinario, ya que De castro et al. (82) observaron que los túbulos dentinarios estaban permeables al utilizarlo durante este tiempo, a continuación se irrigaría con agua destilada estéril, y posteriormente se llevaría a cabo una irrigación ultrasónica con una solución compuesta por NaOCl 2.4% y 0.008% BAC el cual permite una mejor penetración de la solución en los túbulos dentinarios debido a que BAC disminuye la tensión superficial de la solución y a la vez permite que actúe el NaOCl en la acción antimicrobiana. Finalmente, se colocaría agua destilada estéril y se secaría el conducto radicular para poder proceder al proceso de obturación.

Bukiet et al. (5) proponen el uso de una solución compuesta por BAC 0.0008% y NaOCl 2.4% durante el tratamiento de endodoncia puesto que BAC no modificó la propiedad antibacteriana de NaOCl y permitió la reducción de la tensión superficial y el ángulo de contacto, lo cual mejora la penetración de la solución en espacios inaccesibles para los instrumentos endodónticos. Más tarde Baron et al. (6) utilizaron esta solución en dientes con biofilm de *E. faecalis* y observaron que se eliminaron hasta un 68.8% de los microorganismos presentes, también mencionan la existencia de una mejor penetración de la solución a través de los túbulos dentinarios en comparación con la solución de NaOCl de forma independiente.

La segunda propuesta de protocolo de irrigación durante el tratamiento de endodoncia consiste en realizar una irrigación ultrasónica con EDTA 17% durante 20 segundos, una vez terminado el proceso de instrumentación, y posteriormente se lavaría con agua destilada estéril para remover el EDTA y el barrillo dentinario, a continuación se colocaría BAC a una concentración menor de 0.001% con irrigación ultrasónica, lo que permitirá una mejor penetración de la solución en los túbulos dentinarios debido a que tiene una tensión superficial menor, y al mismo tiempo interactúa con los fosfolípidos de las membranas celulares bacterianas, disminuyendo así su potencial adhesivo célula-célula y célula-superficie dentinaria (biofilm). Posteriormente se irrigaría con NaOCl 2.4% y 0.008% BAC, finalmente se lavaría con agua destilada estéril con irrigación ultrasónica. Por último, se secaría el conducto para poder obturarlo.

Es necesario comprender la complejidad de la formación de biofilm dentro de los conductos radiculares para lograr mejorar la limpieza y desinfección de éstos durante la terapia endodóntica. Los microorganismos comienzan a penetrar dentro de la cámara pulpar cuando se encuentran en estado planctónico, se multiplican y se adhieren dentro del conducto radicular a través de fimbrias, pilis o adhesinas para lograr una adhesión mecánica en las paredes dentinarias (83). En este estadio, la adhesión es aún reversible y podemos lograr su eliminación a través la solución irrigante BAC, ya que actúa contra los fosfolípidos de membrana celular bacteriana, lo

que hace que aumente la presión superficial de las membranas y disminuya así su potencial adhesivo realizando de esta manera la pérdida de adhesión bacteriana (3).

Jaramillo et al. (4) comprueba esto en su estudio, observando que BAC interfiere en el mecanismo de adhesión del biofilm en su estadio inicial de formación, lo que podría prevenir y eliminar la colonización bacteriana en la dentina.

Es importante que el clínico tenga conocimiento de la gran variedad de soluciones irrigantes que pueden emplearse durante el tratamiento de conductos radiculares para que de esta manera pueda planear un protocolo de irrigación de acuerdo a las necesidades de cada caso clínico y así aumentar el éxito del tratamiento endodóntico.

9. CONCLUSIONES

- La solución de NaOCl 2.4% / BAC 0.008% no presento cambios al mezclarse con EDTA 17%, sin embargo, al combinarse con CHX 2% presentó la formación de un precipitado color marrón, debido a la acción oxidante del NaOCl.
- Las mezclas entre BAC-NaOCl de uso doméstico, BAC-CHX y BAC-EDTA no presentaron formación de precipitados, liberación de gases ni reacciones exotérmicas, solamente se observaron cambios de coloración y formación de un anillo blanquecino en las mezclas entre BAC 10%, 5%, 3%, 1% y NaOCl grado técnico, debido a la diferencia entre las densidades de las soluciones.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Basrani B. Endodontic Irrigation. Chemical disinfection of the root canal system. Suiza: Springer; 2015.
2. Zehnder, M. Root canal Irrigants. *J Endod.* 2006; 32(5): 389-98. DOI: 10.1016/j.joen.2005.09.014
3. Gilbert P, Moore LE. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J Appl Microbiol.* 2005; 99(4): 703-715. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x
4. Jaramillo DE, Arriola A, Safavi K, Chávez de la paz LE. Decreased Bacterial Adherence and Biofilm Growth on Surfaces Coated with a Solution of Benzalkonium Chloride. *J Endod.* 2012; 38(6): 821-825. DOI: 10.1016/j.joen.2012.03.012
5. Bukiet F, Couderc G, Camps J, Tassery H, Cuisinier F, About I, Charrier A, Candoni N. Wetting properties and critical micellar concentration of benzalkonium chloride mixed in sodium hypochlorite. *J Endod.* 2012; 38(11):1525-9. DOI: 10.1016/j.joen.2012.07.008.
6. Baron A, Lindsey K, Sidow SJ, Dickinson D, Chuang A, McPherson JC. Effect of a Benzalkonium Chloride Surfactant-Sodium Hypochlorite Combination on Elimination of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2015; 42(1):145-9. DOI: 10.1016/j.joen.2015.08.035.
7. Chhabra RS, Huff JE, Haseman JK, Elwell MR, Peters AC. Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food Chem Toxicol.* 1991; 29(2):119-24.
8. Basrani, BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. *J Endod.* 2007; 33(8): 966-969. DOI:10.1016/j.joen.2007.04.001
9. Thomas JE, Sem DS. An in vitro spectroscopic analysis to determine whether para-chloroaniline is produced from mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod.* 2010; 36(2): 315-7. DOI:10.1016/j.joen.2009.10.028.

10. Calderón Rojas BM, Loeza Ramírez MA, Ruiz Reyes H, Morán López G, Gómez Hurtado MA, Rodríguez GG. Análisis fisicoquímico de la interacción hipoclorito de sodio y clorhexidina. *Endo Act.* 2013; 8(1): 30-35.
11. Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA, Gomes BP. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis. *J Endod.* 2013; 39(4): 505-10. DOI: 10.1016/j.joen.2012.11.050
12. Wong DTS, Cheung GSP. Extension of bactericidal effect of sodium hypochlorite into dentinal tubules. *J Endod.* 2014; 40(6): 825–829. DOI: 10.1016/j.joen.2013.09.045
13. Sousa BC, Gomes FA, Ferreira CM, Rocha MMNP, Barros EB, Albuquerque DS. Persistent extraradicular bacterial biofilm in endodontically treated human teeth: Scanning electron microscopy analysis after apical surgery. *Microsc Res Tech.* 2017; 80(6): 662-667. DOI: 10.1002/jemt.22847
14. Mohammadi Z, Palazzi F, Giardino L, Shalavi S. Microbial biofilms in endodontic infections: an update review. *Biomed J.* 2013; 36(2): 59-70. DOI: 10.4103/2319-4170.110400.
15. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, Marrie TJ. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol.* 1987; 41: 435-464. DOI: 10.1146/annurev.mi.41.100187.002251
16. Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics.* 2004; 9: 27–36.
17. Donné J, Dewilde S. The Challenging World of Biofilm Physiology. *Adv Microb Physiol.* 2015; 67, 235-292. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2015.09.003
18. Mohammadi Z, Soltani MK, Shalavi S. An Update on the Management of Endodontic Biofilms Using Root Canal Irrigants and Medicaments. *Iran Endod J.* 2014; 9(2): 88-97.
19. Mangwani N, Kumari S, Das S. Bacterial biofilms and quorum sensing: fidelity in bioremediation technology, *Biotechnol Genet Eng Rev.* 2016; 32(1-2): 43-73. DOI: 10.1080/02648725.2016.1196554

20. Huang Y, Zeng Y, Yu Z, Zhang J, Feng H, Lin X. In silico and experimental methods revealed highly diverse bacteria with quorum sensing and aromatics biodegradation systems – A potential broad application on bioremediation. *Bioresour Technol.* 2013; 148: 311–316. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.08.155
21. Venkatesan N, Perumal G, Doble M. Bacterial resistance in biofilm-associated bacterial. *Future Microbiol.* 2015; 10(11): 1743-50. DOI: 10.2217/fmb.15.69.
22. De la Fuente-Nuñez C, Reffuveille F, Fernández L, Hancock RE. (2013). Bacterial biofilm development as a multicelular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Curr Opin Microbiol.* 2013; 16(5): 580-9. DOI: 10.1016/j.mib.2013.06.013.
23. Absalon C, Van Dellen K, Watnick PI. A communal bacterial adhesin anchors biofilm and bystander cells to surfaces. *PLoS Pathog.* 2011; 7(8): 1002-10. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002210
24. Van der Waal SV, Van der Sluis LW. Potential of calcium to scaffold an endodontic biofilm, thus protecting the micro-organisms from disinfection. *Med Hypotheses.* 2012; 79(1): 1-4. DOI: 10.1016/j.mehy.2012.03.012.
25. Körstgens V, Flemming HC, Wingender J, Borchard W. Influence of calcium ions on the mechanical properties of a model biofilm of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *Water Sci Technol.* 2001; 43(6): 49-57.
26. Siqueira JF Jr, Rôças NI, Ricucci D. Biofilms in endodontic infection. *Endod topics.* 2012; 22(1), 33-49. DOI: 10.1111/j.1601-1546.2012.00279.x
27. Bergenholtz, G. (2001) Factors in pulpal repair after oral exposure. *Adv Dent Res.* 2001; 15: 84. DOI: 10.1177/08959374010150012201
28. Chávez de Paz LE, Dahlén G, Molander A, Möller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J.* 2003; 36(7): 500-508.
29. Kim HA, Kim SH, Ko HM, Choi JH, Kim KJ, Oh SH, Cho KO, Choi IW, Im SY. Nitric oxide plays a key role in the platelet-activating factor-induced enhancement of resistance against systemic candidiasis. *Immunol.* 2008; 124(3): 428–435.

30. Zagryazhskaya AN, Lindner SC, Grishina ZV, Galkina SI, Steinhilber D, Sudina GF. Nitric oxide mediates distinct effects of various LPS chemotypes on phagocytosis and leukotriene synthesis in human neutrophils. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010; 42(6): 921–931. DOI: 10.1016/j.biocel.2010.01.025
31. Pearl JE, Torrado E, Tighe M, Fountain JJ, Solache A, Strutt T, Swain S, Appelberg R, Cooper AM. Nitric oxide inhibits the accumulation of CD4 + CD44hiTbet + CD69lo T cells in mycobacterial infection. *Eur J Immunol.* 2012; 42(12): 3267–3279.
32. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992; 18(9): 427–430.
33. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg, Oral Med, Oral Path.* 1994; 78(4): 522–530.
34. Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Öhman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scan J Dent Res.* 1981; 89(6): 475-484.
35. Dahlén G, Fabricius L, Holm SE, Möller A. Interactions within a collection of eight bacterial strains isolated from a monkey dental root canal. *Oral Microbiol Immunol.* 1987; 2(4): 164–170.
36. Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP, Möller AJ. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur J Oral Sci.* 2006; 114(4): 278-285.
37. Jhajharia K, Parolia A, Shetty KV, Mehta L K. Biofilm in endodontics: A review. *J Intl Soc Prev Community Dent.* 2015; 5(1): 1-12. DOI: 10.4103/2231-0762.15195
38. Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Hultgren JS. Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. *CSH Perspect Med.* 2013; 3: 1-23.
39. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *J endod.* 2006; 32(2): 93-98. DOI:10.1016/j.joen.2005.10.049

40. Shade A, Peter H, Allison SD, Baho DL, Berga M, Burgmann H, Huber DH, Langenheder S, Lennon JT, Martiny JB, Matulich KL, Schmidt TM, Handelsman J. Fundamentals of microbial community resistance and resilience. *Front Microbiol.* 2012; 3: 417. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00417
41. Ding C, He J. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. *Appl Microbiol Biotech.* 2010; 87(3): 925–941.
42. Wardle DA, Jonsson M. Long-term resilience of above- and below ground ecosystem components among contrasting ecosystems. *Ecology.* 2014; 95(7): 1836-1849.
43. Chávez de Paz LE, Kishen A, Sedgley CM. *The root canal biofilm.* Heidelberg, Alemania: Springer; 2015.
44. Vidana R, Sullivan A, Billström H, Ahlquist M, Lund B. Enterococcus faecalis infection in root canals - host-derived or exogenous source?. *Lett Appl Microbiol.* 2011; 52(2): 109-15. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2010.02972.x
45. Mohammed SA, Vianna ME, Penny MR, Hilton ST, Mordan N, Knowles JC. Confocal laser scanning, scanning electron, and transmission electron microscopy investigation of Enterococcus faecalis biofilm degradation using passive and active sodium hypochlorite irrigation within a simulated root canal model. *Microbiology Open.* 2017; 6(4): 1-9. DOI: 10.1002/mbo3.455
46. Basrani E, Cañete M. Irrigation and aspiration. In: *Endodontics. Clinical and preclinical techniques.* Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1988.
47. Asociación Americana de Endodoncia. *Glosario de términos endodónticos.* 9ª ed. Chicago: Asociación Americana de Endodoncia. 2015, pp. 30
48. Van der Waal S, Connert T, Laheij A, de Soet J, Wesselink P. Free available chlorine concentration in sodium hypochlorite solutions obtained from dental practices and intended for endodontic irrigation: are the expectations true?. *Quintessence Int.* 2014; 45(6): 467-74. DOI: 10.3290/j.qi.a31805
49. Siqueira, J.F.Jr., Rocas, I.N., Favieri, A. & Lima, K.C. (2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5% and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000; 26(6): 331-334. DOI: 10.1097/00004770-200006000-00006

50. Kandaswamy D, & Venkateshbabu, N. (2010). Root canal irrigants. *J Conserv Dent.* 2010; 13(4): 256-64. DOI: 10.4103/0972-0707.73378.
51. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002; 3(2): 113-7.
52. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Cavenago B, Graeff MS, Gomes de Moraes I, Marciano M, Duarte MA. Antimicrobial effect of endodontic solutions used as final irrigants on a dentine biofilm model. *Int Endod J.* 2012; 45(2): 162-8. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2011.01959.x
53. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg, Oral Med, Oral Path, Oral Radiol, Endod.* 2004; 97(1): 79-84. DOI: 10.1016/S1079210403003603
54. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine: An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol.* 1986; 57(6): 370–6.
55. Athanassiadis B, Abbou PV, Walsh LJ (2007). The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aus dent J.* 2007; 52(1): 64-275.
56. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *In vitro*. *Int Endod J.* 2003; 36(4): 267-75.
57. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009; 42(4): 288–302. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2008.01540.x
58. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 12(1): 147-79.
59. Davies A. The mode of action of chlorhexidine. *J Periodontal Res.* 1973; 8(12): 68–9.
60. Hugo W, Longworth A. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *J Pharm Pharmacol.* 1964; 16: 655-62.

61. Hugo WB, Longworth AR. The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituents, dehydrogenase activity and cell walls of excherichia coli and staphylococcus Aureus. *J Pharm Pharmacol.* 1966; 18(9): 569–78.
62. Hennessey TS. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontal Res.* 1973; 12, 61-7.
63. Denton G. (1991). Chlorhexidine. Disinfection, sterilization and preservation. 4th ed. Philadelphia: Lea and Febiger.
64. Von der Fehr FR, Nygaard-Ostby B. Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol.* 1963; 16: 199-205.
65. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J.* 2003; 36(12): 810-30.
66. Mello I, Kammerer BA, Yoshimoto D. (2010). Influence of Final Rinse Technique on Ability of Ethylenediaminetetraacetic acid of removing smear layer. *J Endod.* 2010; 36(3): 512-4. DOI: 10.1016/j.joen.2009.11.004
67. Saito K, Webb TD, Imamura GM, Goodell GG. Effect of Shortened Irrigation Times with 17% Ethylene diamine tetra-acetic acid on smear layer removal after rotary canal instrumentation. *J Endod.* 2008; 34(8): 1011-4. DOI: 10.1016/j.joen.2008.05.014
68. Pozarowska D, Pozarowski P. Benzalkonium chloride (BAK) induces apoptosis or necrosis, but has no major influence on the cell cycle of Jurkat cells. *Folia histochem cytobiol.* 2011; 49(2): 225-230. DOI 10.5603/FHC.2011.0031
69. Nowicki JB, Sem DS. An In Vitro Spectroscopic Analysis to Determine the Chemical Composition of the Precipitate Formed by Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. *Journal of Endodontics.* 2011; 37(7): 983-988. DOI:10.1016/j.joen.2011.03.033.
70. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J.* 2003; 36(6): 411-7.

71. Grande NM, Plotino G, Falanga A, Pomponi M, Somma F. (2006). Interaction between EDTA and sodium hypochlorite: a nuclear magnetic resonance analysis. *J Endod.* 2006; 32(5): 460-464. DOI:10.1016/j.joen.2005.08.007
72. Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *J Endod.* 2008; 34(12): 1521-1523. DOI:10.1016/j.joen.2008.08.039
73. Baumgartner JC, Falkler WA Jr. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod.* 1991; 17(8): 380-3.
74. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* 2003; 18(2):100-3.
75. Somerville JE Jr, Cassiano L, Bainbridge B, Cunningham MD, Darveau RP. A novel *Escherichia coli* lipid A mutant that produces an antiinflammatory lipopolysaccharide. *J Clin Invest.* 1996; 97(2):359-65. DOI: 10.1172/JCI118423
76. Theilacker C, Kaczynski Z, Kropec A, Fabretti F, Sange T, Holst O, Huebner J. Opsonic antibodies to *Enterococcus faecalis* strain 12030 are directed against lipoteichoic acid. *Infection and Immunity.* 2006; 74(10): 5703-12.
77. Theilacker C, Krueger WA, Kropec A, Huebner J. Rationale for the development of immunotherapy regimens against enterococcal infections. *Vaccine.* 2004; 6(22): S31-8. DOI:10.1016/j.vaccine.2004.08.014
78. Morris EJ, Ganeshkumar N, McBride BC. Cell surface components of *Streptococcus sanguis*: relationship to aggregation, adherence, and hydrophobicity. *J Bacteriol.* 1985; 164(1): 255-62.
79. Mergenhagen SE. Polysaccharide-lipid complexes from *Veillonella parvula*. *J Bacteriol.* 1965; 90(6):1730-4.
80. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Hamada S, Ooshima T. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype, k, in the human oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(1): 198-202.
81. Bergström N, Jansson PE, Kilian M, Skov Sorensen UB. Structures of two cell wall-associated polysaccharides of a *Streptococcus mitis* biovar 1 strain. A

unique teichoic acid-like polysaccharide and the group O antigen which is a C-polysaccharide in common with pneumococci. *Eur J Biochem.* 2000; 267(24): 7147-57.

82. de Castro PLF, Pinheiro SL, Duarte MA, Duque JA, Fernandes SL, Anchieta RB, da Silveira Bueno CE. Effect of time and ultrasonic activation on ethylenediaminetetraacetic acid on smear layer removal of the root canal. *Microsc Res Tech.* 2016; 79(11): 1062-1068. DOI: 10.1002/jemt.22746.

83. Cervantes García JB, Ruíz Reyes H, Córtes Rodríguez J, Calderón Rojas BM. Análisis de las características morfo-funcionales y estructurales del biofilm presente en conductos radiculares. *Endod Act.* 2017; 12 (03): 16-21.

11 Anexos

11.1 Ficha técnica de Hipoclorito de sodio

		HIPOCLORITO DE SODIO 6%	HDS: 54455
1. DATOS DE LA EMPRESA			
Av. Atemajac No. 1360 Col. Colinas de Atemajac C.P. 45170 Zapopan Jal. Tel. (33) 36-72-72-53 (33) 36-60-67-58			
Carretera No. 63 Col. Añeros C.P. 63400 Mérida, Q. Yucatán Tel. (99) 95-95-73-84 (99) 95-90-73-46			
2. COMPOSICIÓN DE INGREDIENTES PELIGROSOS		5. CONTROL DE EXPOSICIÓN	
NOMBRE	% EN PESO	No. CAS	LIMITES DE EXPOSICIÓN
HIPOCLORITO DE SODIO	6	7681-11-8	STEL: 2 mg/m ³
3. IDENTIFICACIÓN DE RIESGO		8. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS.	
EFECTOS A LA SALUD		ESTADO FÍSICO:	Líquido
PEL	Muy peligroso. Irritante	OLOR:	N.D.
OJOS	Extremadamente peligroso. Irritante	PH (1% EN AGUA):	Neutro
INGESTIÓN	Extremadamente peligroso. Irritante	PUNTO DE EBULLICIÓN:	N.D.
INHALACIÓN	Extremadamente peligroso. Irritante	PUNTO DE FUSIÓN:	N.D.
EFECTOS A LA SALUD CRÓNICOS		GRAVEDAD ESPECÍFICA:	1
CANCERÍGENOS:	No determinados.	PRESIÓN VAPOR:	17.535
MUTÁGENOS:	No determinados.	DENSIDAD DE VAPORES:	0.82
TERATOGENOS:	No determinados.	SOLUBILIDAD:	Fácilmente soluble en agua.
4. PRIMEROS AUXILIOS		10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD	
OJOS:	Lave con agua durante 15 minutos.	ESTABILIDAD:	Estable
PEL:	Lave con agua y jabón la parte afectada.	TEMPERATURA DE INESTABILIDAD:	N/A
INHALACIÓN:	Coloque a la víctima en una área ventilada.	CONDICIONES:	N/A
INGESTIÓN:	Induzca el vómito.	INCOMPATIBILIDAD:	Material combustible.
SOLICITE ATENCIÓN MÉDICA DE INMEDIATO		11. INFORMACIÓN ECOLÓGICA	
5. RIESGO DE FUEGO Y EXPLOSIÓN		ECOTOXICIDAD:	N/A
FLAMABILIDAD:	No inflamable	PRODUCTOS DE BIODEGRADACIÓN:	Oxidos metálicos.
AUTO-IGNICIÓN:	N/A	12. N.F.P.A.	
PUNTO FLASH:	N/A		
LIMITES DE FLAMABILIDAD:	N/A		
PRODUCTOS DE COMBUSTIÓN:	N/A		
MEDIO DE EXTINCIÓN:	N/A	13. EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL	
6. MANEJO DE DERRAMES		Bata	
MEJOR:	Diluye con agua y recoja con un material absorbente e inerte, coloque en un contenedor adecuado.	Goggles	
MAYOR:	Material oxidante. Detenga el derrame sin riesgo. Evite contacto con material combustible. Recoja con material absorbente e inerte, coloque en un contenedor adecuado.	Guantes	
7. MANEJO Y ALMACENAMIENTO.		14. OBSERVACIONES	
MANEJO:	No lo use en forma de vapor o spray. No edicione agua a este producto. Use en lugares con amplia ventilación o use equipo de respiración. Evite contacto con piel y ojos. No se ingiera. Manténgase alejado de fuentes de ignición.	A) En caso de derrame no tire el material a la alcantarilla, aguas superficiales o suelos.	
ALMACENAMIENTO:	Almacene en lugares secos y frescos.	B) Consulte con las autoridades de su localidad el manejo y disposición de desperdicios.	
		C) La información aquí presentada es la más general para afrontar una emergencia, por lo que no se garantiza su exactitud y NO se acepta ninguna responsabilidad por pérdida o daño - ocurridos debido a esta información.	

11.2 Ficha técnica de Cloruro de Benzalconio

		CLORURO DE BENZALCONIO 10% acuoso	HDS: 23410
1. DATOS DE LA EMPRESA			
Av. Atemajac No. 1300 Col. Colinas de Atemajac C.P. 45170 Zapopan, Jal. Tel. (33) 36-72-72-53 (33) 36-60-67-58			
Cuernavaca No. 63 Col. Alemos C.P. 03400 México, D.F. Tel. (55) 55-90-72-64 (55) 55-90-73-40			
2. COMPOSICION DE INGREDIENTES PELIGROSOS		8. CONTROL DE EXPOSICION	
NOMBRE	% EN PESO	No. CAS	LIMITES DE EXPOSICION
CLORURO DE BENZALCONIO	10	N.A.	N.D.
3. IDENTIFICACION DE RIESGO		9. PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.	
EFFECTOS A LA SALUD		ESTADO FISICO: Liquido .	
PIEL	Irritante. Corrosivo.	OLOR: N.D.	
OJOS	Irritante. Corrosivo.	PH (1% EN AGUA): Neutro	
INGESTION	Muy peligroso	PUNTO DE EBULLICION: 100°C	
INHALACION	Muy peligroso	PUNTO DE FUSION: N.D.	
EFFECTOS A LA SALUD CRONICOS		GRAVEDAD ESPECIFICA: 1.0	
CANCERIGENOS:	No determinado.	PRESION VAPOR: 17.535 mm Hg	
MUTAGENICOS:	No determinado.	DENSIDAD DE VAPOR: 0.62	
TERATOGENICOS:	No determinado.	SOLUBILIDAD: Muy soluble en agua	
4. PRIMERO AUXILIOS		10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD	
OJOS	Lave con agua durante 15 minutos.	ESTABILIDAD: Estable	
PIEL	Lave con agua y jabón la parte afectada.	TEMPERATURA DE INESTABILIDAD: N.D.	
INHALACION	Coloque a la víctima en una área ventilada.	CONDICIONES: N.D.	
INGESTION	NO induzca el vómito	INCOMPATIBILIDAD: N.D.	
SOLICITE ATENCION MEDICA DE INMEDIATO		11. INFORMACION ECOLOGICA	
6. RIESGO DE FUEGO Y EXPLOSION		ECOTOXICIDAD: N.D.	
FLAMABILIDAD	No flamable	PRODUCTOS DE BIODEGRADACION: N.D.	
AUTO-IGNICION	N.A.	12. N.F.P.A.	
PUNTO FLASH	N.A.		
LIMITES DE FLAMABILIDAD:	N.A.		
PRODUCTOS DE COMBUSTION:	N.A.		
MEDIO DE EXTINCION:	N.A.		
8. MANEJO DE DERRAMES		13. EQUIPO DE PROTECCION PERSONAL	
MENOR:	Diluya con agua y recoja con un material absorbente e inerte, coloque en un contenedor adecuado. Limpie con agua y consulte las autoridades para disponer de los desechos.	Bata	
MAYOR:	Material corrosivo. Mantengalo alejado de fuentes de ignición. Use equipo de protección. Recoja con material absorbente e inerte.	Guantes	
7. MANEJO Y ALMACENAMIENTO.		Goggles	
MANEJO:	No se inhale. No se use en forma de vapor o spray. Evite el contacto con la piel y ojos. Use equipo de protección. Use en áreas ventiladas.	Mascarilla	
ALMACENAMIENTO:	Almacene en lugares secos y frescos .	14. OBSERVACIONES	
		A) En caso de derrame no tire el material a la alcantarilla, aguas superficiales o suelos.	
		B) Consulte con las autoridades de su localidad el manejo y disposición de desperdicios.	
		C) La información aquí presentada es la mas general para afrontar una emergencia, por lo que no se garantiza su exactitud y NO se acepta ninguna responsabilidad por pérdida o daño - ocurridos debido a esta información.	