



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO CUEPI  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

**TESIS**

**“Análisis fisicoquímico de la mezcla entre  
hipoclorito de sodio y clorhexidina de uso comercial.”**

PRESENTA:

**C.D. Benigno Miguel Calderón Rojas.**

PARA OBTENER EL GRADO DE

**ESPECIALISTA EN ENDODONCIA**

ASESOR DE TESIS: C.D.E.E. Martín Alberto Loeza Ramírez.

COASESOR DE TESIS: M.C. Héctor Ruiz Reyes.

ASESOR METODOLÓGICO: M.C. Gerardo Morán López.

MORELIA, MICHOACÁN  
MÉXICO  
2012

**“ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA MEZCLA ENTRE  
HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA DE USO  
COMERCIAL.”**

## AGRADECIMIENTOS

Gracias,

A Dios por la vida y por todas sus bendiciones.

A mi papá Dr. Benigno Calderón Juárez y a mi mamá Dra. Marta Elva Rojas Fuentes por su respaldo incondicional no solamente durante estos dos años, sino durante toda mi vida. Por ser ejemplo de trabajo constante, dedicación plena, esfuerzo incansable, rectitud y tenacidad. Sin lugar a dudas la mayor bendición que Dios me ha dado es tenerlos a ustedes como padres.

A mis hermanos Omar y Karla por todo su cariño y apoyo.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) por permitirme realizar esta especialidad y esta investigación.

A la Facultad de Químico Farmacobiología (UMSNH) por facilitar el uso de sus laboratorios para evaluar el pH de las soluciones.

Al Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas por permitir realizar gran parte de la investigación en sus laboratorios. Por facilitar material y equipo. Por brindar la oportunidad de realizar el análisis espectroscópico por resonancia magnética nuclear (RMN de  $^1\text{H}$ ).

A mis asesores:

Al Dr. Martin Alberto Loeza Ramírez por orientarme durante estos dos años de especialidad y durante el desarrollo de esta investigación. Gracias por sus asesorías, por sus consejos, por su paciencia y por ayudarme a dar un enfoque indicado a este trabajo. Gracias Doctor por todo su apoyo.

Al M.C. Héctor Ruiz Reyes por el tiempo dedicado a este proyecto, por sus asesorías, por sus consejos, por ser el puente de unión con las dependencias que permitieron el desarrollo de este trabajo. Gracias por ser luz cuando el trayecto del proyecto no era claro.

Al M.C. Gerardo Morán López por aceptar apoyar el proyecto. Muchas gracias por el tiempo que invirtió buscando que el trabajo fuese viable. Gracias por su guía constante durante el desarrollo de la investigación.

Al D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado por permitirme ocupar un espacio en su laboratorio y por las varias horas que paso ayudándome a comprender métodos, interacciones, espectros y fórmulas. Gracias por permitirme descubrir el arduo trabajo que la investigación implica.

Al M.Q. Juan Pablo García Merinos por ayudarme a comprender el funcionamiento del aparato de resonancia magnética nuclear y por la obtención de todos los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  que aparecen en este trabajo.

A la M.C. Lorena Cabrera Navarro y a la M.C. Lilian Bribiesca Rodríguez por aceptar participar en esta investigación. Gracias por su apoyo y por enseñarme a obtener el valor del pH de las soluciones y las mezclas.

A mis profesores del Centro Universitario de Estudios de Posgrado e Investigación, por compartirme sus conocimientos y experiencia, por motivarme a seguir adelante cuando se presentaron los desafíos propios del aprendizaje; por su franqueza, comprensión y paciencia. Por su apoyo durante la realización de esta investigación y por su guía en el descubrimiento de la Endodoncia.

A mis compañeros, mi más sincero agradecimiento por todo su apoyo, por estos dos años que en su compañía fueron por demás gratos, por ser cómplices de esta investigación y por su paciencia para escuchar una y otra vez el ya célebre estudio de la Dra. Basrani.

Al personal administrativo por todo su apoyo durante estos dos años.

A todos ustedes, *MUCHAS GRACIAS*.

## DEDICATORIA

*Porque este trabajo no podría estar  
dedicado más que a ustedes:*

*A mi papá y a mi mamá  
con todo mi amor, respeto y agradecimiento.*

*A mis hermanos Omar y Karla.*

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	
2.1 Antecedentes generales.....	11
2.2 Antecedentes específicos.....	16
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>22</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>22</b>
<b>5. HIPÓTESIS.....</b>	<b>23</b>
<b>6.OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
6.1 Objetivo general.....	
6.2 Objetivos específicos.....	24
<b>7. CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....</b>	<b>24</b>
<b>8. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>	<b>25</b>
<b>9. RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
<b>10. DISCUSIÓN.....</b>	<b>45</b>
<b>11. ANEXOS.....</b>	<b>47</b>
<b>12. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>51</b>

## RESUMEN

**Título:** “ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA MEZCLA ENTRE HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA DE USO COMERCIAL”.

**Introducción:** Basrani y col. reportan que al combinarse hipoclorito de sodio (NaOCl) y clorhexidina (CHX) se forma un precipitado rojo que contiene *para*-cloroanilina (PCA).<sup>7</sup> Compuesto que de acuerdo con reportes de la OMS puede ser causa de metahemoglobinemia.<sup>58</sup> A la *para*-cloroanilina, también se le han asociado efectos carcinogénicos.<sup>59</sup> Varios estudios han reportado la formación de este precipitado.<sup>7,8,63,66</sup> Sin embargo, estos han utilizado NaOCl y CHX grado reactivo y poco o nada se ha reportado de presentaciones comerciales de estas soluciones, las cuales pueden tener compuestos adicionales que podrían o no dar lugar a la formación de un precipitado con propiedades fisicoquímicas diferentes a lo reportado a la fecha por la literatura.

**Objetivo:** Evaluar las características fisicoquímicas que resultan de la combinación entre el NaOCl con la CHX en presentaciones de uso comercial y grado reactivo.

**Metodología:** Tres presentaciones comerciales de NaOCl (5.25% y 2.0%) fueron combinadas con dos presentaciones comerciales de CHX (0.12% y 2.0%) en proporción de 1:1 para formar seis grupos de evaluación: GI (NaOCl 5.25% con CHX 0.12%), GII (NaOCl 5.25% con CHX 2.0%), GIII (NaOCl 5.25% con CHX 0.12%), GIV (NaOCl 5.25% con CHX 2.0%), GV (NaOCl 2.0% con CHX 0.12%) y GVI (NaOCl 2.0% con CHX 2.0%). Como grupo control una presentación grado reactivo de NaOCl (6.0%) fue combinada con una presentación grado reactivo de CHX (2.0%). El efecto oxidante de NaOCl grado reactivo (6.0%) sobre las dos presentaciones comerciales de CHX (0.12% y 2.0%) fue evaluado en dos grupos denominados como grupos prueba (GP). En todos los grupos, se determinó la presencia del precipitado, se estableció su valor pH y se procedió al análisis espectroscópico mediante resonancia magnética nuclear (RMN de <sup>1</sup>H) a fin de establecer la presencia de PCA.

**Resultados:** El grupo prueba 1 y el grupo de evaluación GI adquirieron de forma inmediata un tono ligeramente rojo sin formación aparente de precipitado. En los grupos prueba 2 y grupo de evaluación G2 la formación de precipitado rojo y de consistencia firme ocurrió de forma inmediata. En cambio los grupos de evaluación GIII y GV no presentaron cambio de color ni formación aparente de precipitado. En los grupos de evaluación GIV y GVI la formación de precipitado azul claro de consistencia friable fue evidente de forma inmediata. Los espectros obtenidos al análisis espectroscópico en RMN de  $^1\text{H}$  demostraron la presencia de *PCA* en todos los grupos con excepción de los grupos prueba 1 y grupo de evaluación G1 en donde las señales correspondientes a *PCA* no se apreciaron.

**Discusión y conclusiones:** La formación de precipitado fue evidente en los grupos en donde se combinó  $\text{NaOCl}$  con  $\text{CHX}$  al 2.0%. El precipitado rojo formado en los grupos prueba 2 y de evaluación G2 coincide con lo reportado por otros estudios.<sup>7,8,63,66</sup> En cambio el precipitado azul formado en los grupos de evaluación GIV y GVI no presenta antecedentes en la literatura. Los grupos en donde se combinó  $\text{NaOCl}$  con  $\text{CHX}$  al 0.12% no presentaron formación aparente de precipitado de lo cual podemos inferir que en la combinación de  $\text{NaOCl}$  con  $\text{CHX}$  la concentración de esta última influye en la formación de precipitados. La presencia de *PCA* fue evidente en casi todos los grupos lo cual coincide por lo reportado en estudios anteriores.<sup>7,66</sup> Sin embargo, en los grupos prueba 1 y de evaluación G1 no se apreciaron las señales características de *PCA* lo cual coincide con lo reportado por Thomas,<sup>10</sup> al parecer esto se debió a que la acción oxidante del  $\text{NaOCl}$  fue importante como para degradar totalmente a la  $\text{CHX}$  y al *PCA*.

## 1. INTRODUCCIÓN

El éxito del tratamiento endodóntico se basa en la desinfección, preparación y obturación del sistema de conductos radiculares.<sup>1</sup> La desinfección del conducto, previo a la obturación es considerada un requisito. La preferencia de un agente irrigante con propiedades antisépticas y el uso empírico de agentes irrigantes con un amplio espectro antimicrobiano para el lavado del conducto, reflejan la importancia de este requisito.

Si bien la preparación biomecánica constituye el método primario para la desinfección del sistema de conductos radiculares, esta por sí sola no logra una adecuada desinfección, por lo que la irrigación química-mecánica suele ser considerada, con el propósito de reducir la flora bacteriana intra-radicular y remover físicamente los residuos orgánicos e inorgánicos que resultan durante la preparación. En adición suele ser importante su efecto lubricante ya que este reduce la posibilidad de fractura de instrumentos durante el proceso de instrumentación.<sup>2</sup>

En la actualidad el irrigante de uso común durante la preparación, es el hipoclorito de sodio (NaOCl) por su efecto antimicrobiano y su capacidad para disolver tejido pulpar vital o necrótico.<sup>3</sup> A pesar de estas propiedades, el NaOCl tiene desventajas como su toxicidad<sup>4</sup> y su incapacidad antimicrobiana a largo plazo (sustantividad).<sup>5</sup>

Por tal motivo se ha sugerido combinar el NaOCl con otros agentes antimicrobianos como la clorhexidina (CHX), buscando con ello aprovechar las propiedades bactericidas que cada solución ofrece.<sup>6,7</sup>

**Kuruvilla y K amath** reportaron que la combinación entre el NaOCl y CHX durante la irrigación reduce la flora microbiana al compararse con el uso individual de cada una de estas soluciones.<sup>7</sup> Al respecto autores como **Basrani y col.** han sugerido tener precaución al combinar

estas soluciones ya que el uso aun de concentraciones bajas de NaOCl reaccionan con la CHX produciendo un precipitado de color rojo-café «*para-cloranilina*». <sup>8</sup>

Estudios que reportan la formación de este precipitado han utilizado soluciones grado reactivo. <sup>8,9,10,11</sup> Al momento la literatura no ofrece reportes acerca de las propiedades fisicoquímicas que resultan de la combinación entre NaOCl y CHX de uso comercial. Antes de considerar la combinación de agentes irrigantes como método alternativo para la irrigación del conducto radicular, es necesario conocer las características fisicoquímicas que resultan de estas combinaciones, si sus propiedades bactericidas justifican el valor de su combinación y los posibles efectos nocivos al organismo. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar las características fisicoquímicas del producto que resulte de NaOCl y CHX al combinarlos tanto en grado reactivo como en presentaciones comerciales.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES GENERALES

Lasala define a la irrigación del sistema de conductos como «*el proceso de lavado y aspirado de todo remanente de tejido orgánico y sustancias antigénicas del interior del espacio pulpar*». <sup>12</sup>

Estudios como el realizado por Byström y col. y Orstavik y col. concluyen que la sola preparación mecánica no puede proporcionar la completa desinfección de los conductos radiculares. <sup>13</sup> Esto debido a la compleja anatomía del sistema de conductos, donde son frecuentes los istmos, deltas apicales, conductos accesorios y zonas que permanecen ocultas e inaccesibles a la sola acción mecánica de corte de los instrumentos durante la preparación del conducto radicular. <sup>14,15</sup> La importancia bactericida de la irrigación y su efecto sobre el resultado final del tratamiento ha quedado demostrada por Byström y Sundqvist y Paqué y col. <sup>16</sup>

Durante la preparación biomecánica del conducto radicular, resulta imprescindible el uso de agentes químicos coadyubantes a la instrumentación con capacidad bactericida, de disolución del tejido orgánico y cuyo efecto mecánico de arrastre logre eliminar del conducto remanente de tejido orgánico, debris y sustancias antigénicas, capaces de mantener o iniciar una periodontitis apical. <sup>2,17</sup>

Soares y Goldberg mencionan que además de aprovechar su efecto bactericida, la irrigación deberá ser capaz de disolver restos de tejido pulpar y eliminar todo tipo de agente antigénico alojados al interior del conducto. <sup>16</sup> En adición la acción lubricante que el agente irrigante proporciona a la instrumentación, suele facilitar la conformación del conducto con menor riesgo de accidentes. <sup>17</sup> El

debris de viruta dentinaria y los escombros de tejido pulpar generado, suele ser eliminado por el efecto mecánico de arrastre que genera el proceso de irrigación.<sup>17,18</sup>

Autores como Cathro, Zendher y Mohammadi mencionan que las propiedades ideales de las soluciones irrigantes utilizadas deben incluir: un amplio espectro antimicrobiano, capacidad de disolver los remanentes de tejido pulpar, capacidad mecánica de arrastre del barro dentinario o disolverlo una vez que este se ha formado, de acción antimicrobiana a largo plazo, no ser tóxicos, tener buena disponibilidad, baja tensión superficial, tensoactividad, bajo costo, una vida útil adecuada y facilidad de almacenamiento.<sup>18,19,20,21</sup>

Los agentes químicos para utilizarse durante el tratamiento endodóntico, de acuerdo con Estrela se clasifican en:<sup>21</sup>

### **1. Compuestos halogenados:**

Soluciones de Hipoclorito de Sodio en las siguientes concentraciones de cloro activo:

- Hipoclorito de sodio al 5% (soda clorada), al 2.5% (solución de Labarraque), al 1% y al 0.5%
- Hipoclorito de sodio al 1% con 16% de cloruro de sodio (Solución de Milton).
- Hipoclorito de sodio al 0.5% con ácido bórico para reducir el pH (solución de Dakin).
- Hipoclorito de sodio al 0.5% con bicarbonato de sodio (solución de Dausfrene)

### **2. Tensoactivos:**

- Tensoactivos aniónicos: lauril sulfato de sodio y lauril dietileno glicol éter sulfato de sodio.
- Tensoactivos catiónicos: cloruro de benzalconio, cloruro cetilpiridino.
- Tensoactivos neutros.

### **3. Quelantes:**

- EDTA

### **4. Ácidos:**

- Acido cítrico

### **5. Peróxidos:**

- Peróxido de hidrógeno
- Peróxido de urea

### **6. Otras soluciones**

- Clorhexidina
- Agua con hidróxido de calcio
- Solución fisiológica
- Agua destilada

De todas las soluciones químicas anteriormente mencionadas, el hipoclorito de sodio (NaOCl) es el irrigante más utilizado en el tratamiento endodóntico debido a su efectiva actividad antimicrobiana así como a su capacidad de disolución del tejido orgánico.<sup>22</sup>

El NaOCl fue en un principio recomendado por Henry Dakin como una solución antiséptica para irrigar heridas abiertas durante la Primera Guerra Mundial.<sup>23,24</sup> Posteriormente, en 1920 Crane describió el uso de la solución de Dakin, por primera vez en la terapia endodóntica.<sup>25</sup>

El NaOCl es una base fuerte (pH >11) con baja viscosidad lo que le permite una fácil introducción dentro de la arquitectura del conducto, su vida útil es aceptable, es fácil de conseguir y de bajo costo.<sup>22</sup> A una concentración de 1% presenta una tensión superficial igual a 75 dinas/cm, una viscosidad de 0.986 cP, conductividad de 65.5mS, densidad de 1.04% g/cm<sup>3</sup> y capacidad de humectación igual a 1h y 27 min.<sup>26</sup>

El cloro es uno de los más potentes germicidas conocidos, ejerce acción antibacteriana en la forma de ácido hipocloroso no disociado. Al estar en solución neutra o ácida el ácido hipocloroso no se disocia y su acción bactericida es efectiva y acentuada. Según Dakin y Dunham, esa acción se realiza por oxidación de la materia orgánica, proceso por el cual, el cloro sustituye al hidrógeno del grupo de las proteínas, que contiene gran número de aminoácidos.<sup>28</sup> El nuevo compuesto así formado pertenece al grupo de las cloraminas las cuales actúan sobre el metabolismo celular provocando la oxidación irreversible de los grupos sulfhidrilo de las enzimas bacterianas esenciales.<sup>26,27</sup>

A pesar de las bondades que nos brinda como irrigante, el NaOCl también tiene características que nos demandan tener precaución al utilizarlo. El NaOCl tiene un efecto cito-tóxico cuando entra en contacto con tejido vital, causando hemólisis, ulceración, inhibición de la migración de neutrófilos, daño de las células endoteliales y fibroblastos.<sup>29</sup> Tiene olor y sabor desagradables, tiende a decolorar la ropa, tiene potencial corrosivo y en algunos casos provoca hipersensibilidad.<sup>30,31</sup>

Otra de las desventajas que tiene el NaOCl es su incapacidad para brindar un efecto antibacteriano de largo plazo (sustantividad), propiedad que si tiene la clorhexidina.<sup>32,33,34</sup>

La clorhexidina (CHX) es un agente químico que ha sido recomendado para utilizarse durante la irrigación en endodoncia.<sup>35</sup> Fue desarrollada al final de los 40's en los laboratorios de investigación de las Industrias Químicas Imperiales.<sup>36</sup> La clorhexidina es una bi-guanida catiónica sintética que consiste en dos anillos simétricos de clorofenil y dos grupos de biguanidas, conectados por una cadena central de hexametileno<sup>37</sup> (fig. 1).

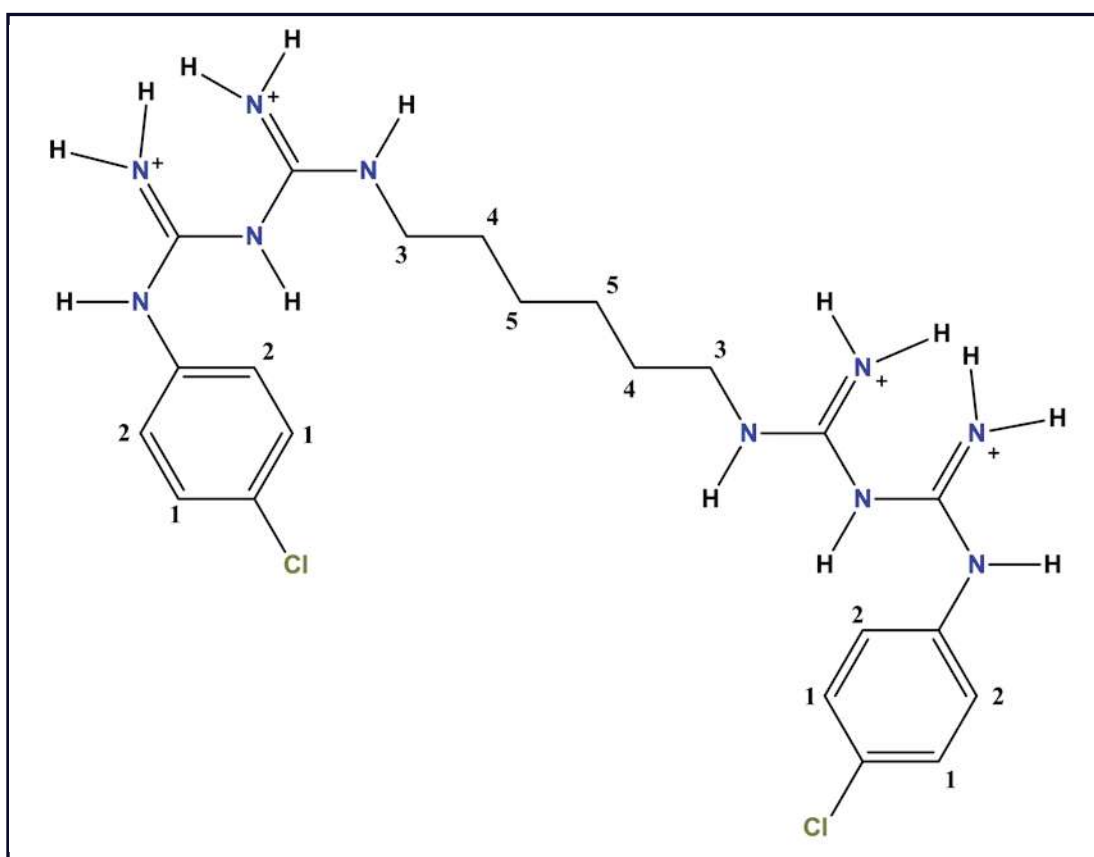
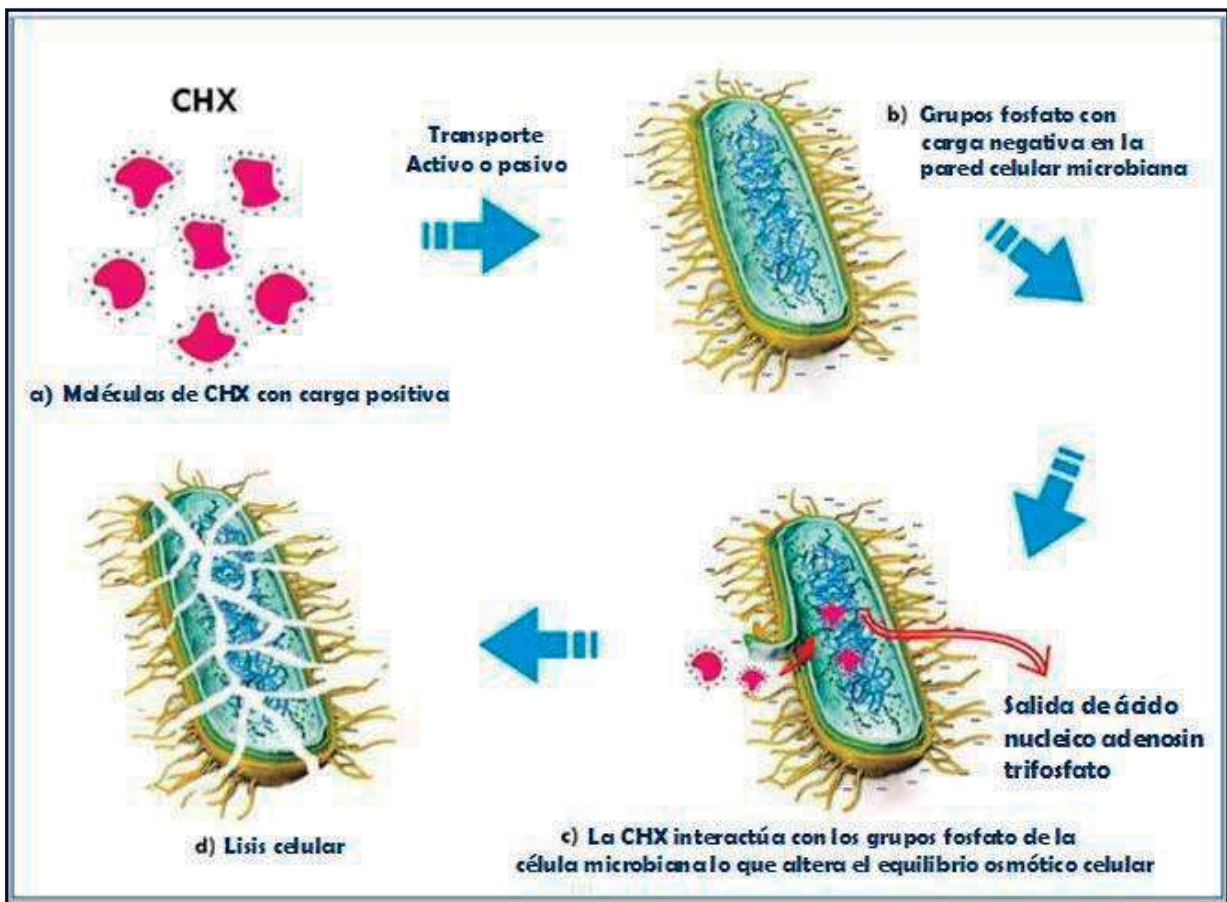


Fig. 1 Representación de la molécula de clorhexidina.

La CHX es una base,<sup>37</sup> presentando su actividad antimicrobiana óptima en un pH de 5.5 a 7.0.<sup>38</sup> La presentación mas común de CHX para uso oral es en forma de gluconato de clorhexidina, la cual es soluble en agua.<sup>37</sup> De sus propiedades destacan su actividad antimicrobiana de amplio espectro y su capacidad antimicrobiana de largo plazo denominada sustentividad.<sup>39</sup> Al respecto, White y col. reportan que la CHX al 0.12% mantiene su actividad antimicrobiana hasta por 24hrs. mientras que a

una concentración del 2.0% su efectividad antibacterial se extiende por 72hrs.<sup>40</sup> Esta propiedad de la CHX ha quedado también demostrada por otros estudios que reportan su actividad antimicrobiana residual por un período que va desde 48hrs. las 12 semanas.<sup>41,42</sup>

La eficacia antibacteriana de la CHX se debe a la interacción entre la carga positiva de su molécula y los grupos fosfato cargados negativamente que se encuentran en las paredes de la célula microbiana, alterando con ello el equilibrio osmótico celular. Esto incrementa la permeabilidad de la pared celular,<sup>37,43</sup> lo que permite a la molécula de CHX entrar en la bacteria causando precipitación del citoplasma impidiendo la reparación de la membrana celular, provocando con ello la muerte celular<sup>38</sup> (fig. 2).<sup>44</sup>



*Fig.2 Mecanismo de acción de la clorhexidina. Figurada tomada del «Journal of Conservative Dentistry».*<sup>44</sup>

No obstante las propiedades de la CHX, Segura y col. recomiendan evitar su salida al periápice, ya que puede reducir la adhesión de los macrófagos modulando los mecanismos de reparación y las reacciones inflamatorias e inmunológicas a nivel de los tejidos perirradiculares inflamados.<sup>45</sup> Se ha reportado también que la actividad de este agente químico se reduce al estar en contacto con

dentina.<sup>46,47</sup> Sin embargo, la principal desventaja de la CHX es su incapacidad para disolver el tejido pulpar<sup>48</sup> propiedad que si la tiene el NaOCl.<sup>49</sup>

Debido a que el NaOCl y la CHX tienen propiedades que podrían ser complementarias entre sí, se ha sugerido combinar estos dos agentes químicos durante el tratamiento endodóntico como un intento para mejorar la desinfección del sistema conducto radicular.

De acuerdo con **Delany y col. 1982** durante el tratamiento endodóntico estaría indicado iniciar la irrigación con NaOCl al 2.5% aprovechando la capacidad de disolución de materia orgánica de este agente y finalizar irrigando con CHX al 0.2% la cual brindaría sustentividad bactericida.<sup>50</sup>

**Kuruvillea y Kamath 1998** compararon *in vivo* la eficacia antimicrobiana intraconducto del uso individual y combinado del NaOCl al 2.5% y la CHX al 0.2%. Seleccionaron cuarenta casos de dientes unirradiculares, necróticos y con aparente lesión periapical, los cuales dividieron en cuatro grupos de evaluación. En cada grupo tomaron muestras microbianas intraconducto antes de irrigar. Posteriormente el primer grupo se irrigó con NaOCl al 5.25%, el segundo con CHX 0.2%, el tercer grupo fue irrigado con una combinación de NaOCl al 5.25% y CHX al .2%, mientras que el cuarto grupo se irrigó con solución salina al 0.9%. Una segunda muestra bacteriana intraconducto se tomó para compararla con la primera muestra obtenida. Los resultados indicaron que la reducción de la flora microbiana intraconducto fue mayor con el uso combinado de NaOCl y CHX en comparación con su uso individual,<sup>6</sup> resultados que concuerdan con lo reportado por Joshi y col.<sup>51</sup> y Vijaykumar y col.<sup>52</sup>

Sin embargo, se ha sugerido tener precaución con la combinación de estas dos soluciones ya que se han reportado pigmentaciones de las paredes del conducto y formación de precipitado de *para*-cloroanilina.

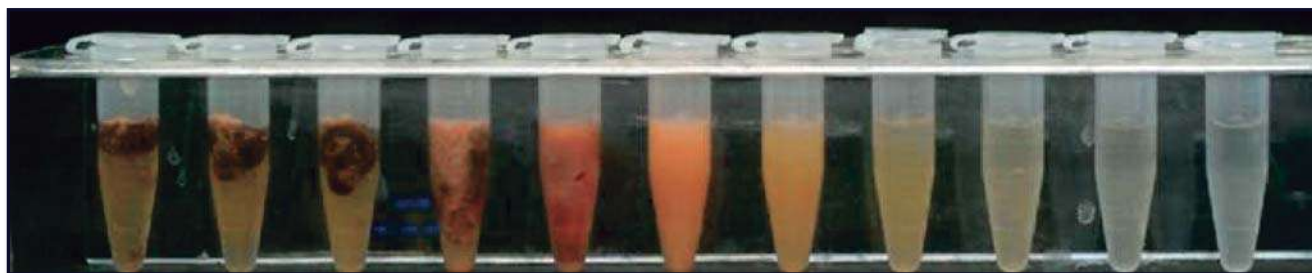
## 2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.

**Siqueira y col. 2002**, al realizar un estudio *in vitro* para comparar la reducción bacteriana intraconducto producida por dos técnicas de instrumentación y diferentes métodos de irrigación, reportaron una fuerte pigmentación de la dentina cuando se mezcló NaOCl con CHX y mencionan la ausencia de reportes acerca de la importancia clínica de tal pigmentación.<sup>53</sup>

**Vivacqua-Gomes y col. 2002** demostraron que el método de irrigación utilizado durante el tratamiento del conducto radicular interfiere con la microfiltración coronal *in vitro*. En este estudio, se observó la formación de un precipitado de color café oscuro como resultado de la combinación de CHX en gel al 2% e NaOCl al 1%. Se reportó que este material viscoso pigmenta la dentina y se adhiere a las paredes del conducto radicular probablemente actuando como una capa residual, afectando la calidad del sellado de la obturación y favoreciendo la microfiltración coronal. El precipitado pigmentando la dentina pudo observarse aun después de la irrigación final con agua destilada.<sup>54</sup>

**Zehnder 2006** sugiere una secuencia de irrigación en donde el NaOCl se utilice durante toda la instrumentación, una vez que el proceso de conformación se complete el conducto puede ser irrigado con EDTA o con ácido cítrico y como agente final de la irrigación se propone utilizar CHX. El autor menciona que si el NaOCl está aún presente en el conducto, la CHX agregada se precipitará en forma de una masa café-rojiza. Por lo que sugiere secar el conducto con puntas de papel antes de la irrigación final con CHX para evitar la formación de precipitados.<sup>55</sup>

**Basrani y col. 2007** reportaron que la combinación entre NaOCl y CHX da como resultado la formación de un precipitado cuyo espesor y tonalidad dependen de la concentración a la que se utilice el NaOCl (fig.3). Al respecto, los autores expresan su preocupación sobre la relevancia que la formación de este precipitado pudiera tener sobre el sellado de la obturación y el pronóstico del tratamiento.<sup>7</sup>



**Fig. 3** Se pueden observar microtubos con diferentes concentraciones de NaOCl mezclados con CHX al 2.0%. Las concentraciones de NaOCl disminuyen de 6.0% (en el primer microtubo de izquierda a derecha) a 0.023% (en el noveno microtubo de izquierda a derecha). Los microtubos diez y once contienen solamente NaOCl 6% y CHX 2%, respectivamente. Nótese el cambio de color que va de café oscuro (izquierda) a ligeramente anaranjado (microtubo 9), así como la formación de precipitados en diferentes cantidades en los primeros 5 microtubos (de izquierda a derecha).

En el mismo estudio se analizó la composición química del precipitado por medio de espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) y espectrometría de masas (TOF-SIMS). Ambos métodos mostraron la presencia de *para*-cloroanilina (PCA) en una cantidad directamente proporcional a la concentración de NaOCl (figs.4,5).<sup>7</sup>

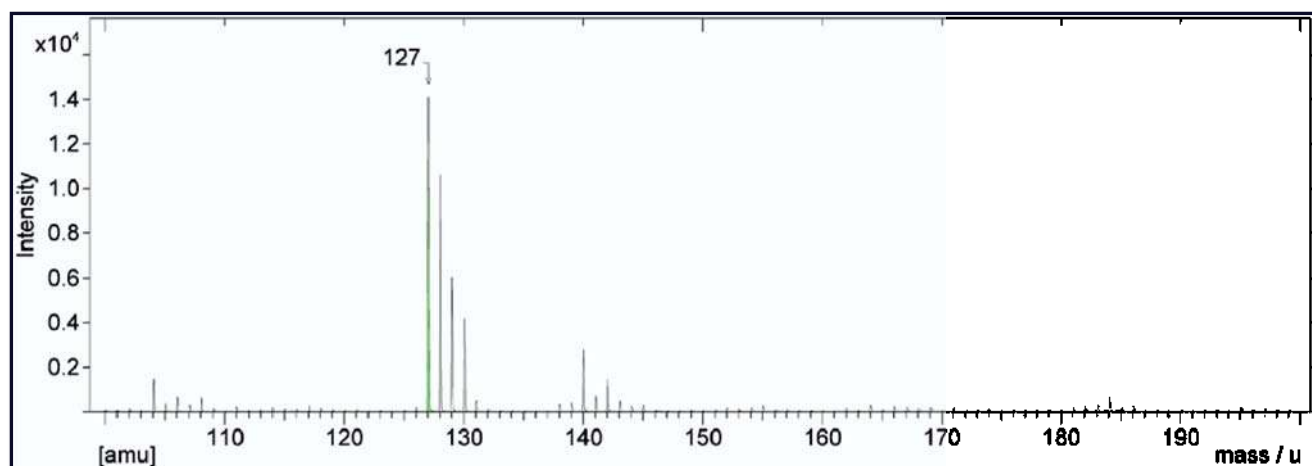


Fig. 4. El espectro de masas de la *para*-cloroanilina (PCA) muestra un pico en las 127 amu.

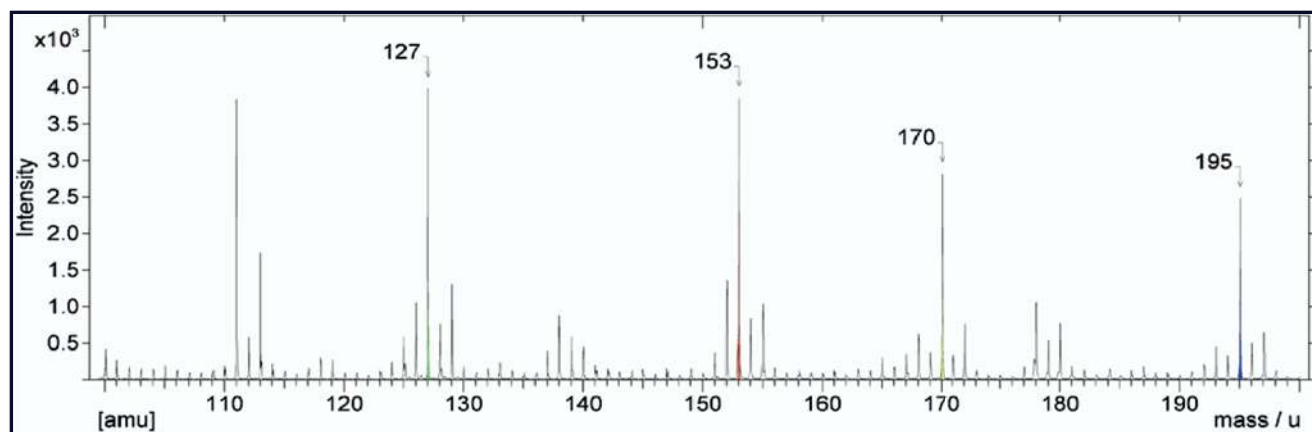


Fig 5. El espectro de masa del precipitado formado por la interacción entre CHX 2.0% + NaOCl 3% muestra picos en las 111, 127, 153, 170 y 195 amu. Lo cual demuestra la presencia PCA en el precipitado.

Respecto a la *para*-cloroanilina (PCA) se ha reportado que este compuesto es toxico.<sup>7</sup> Un informe de la FAO y la OMS acerca de residuos de plaguicidas en los alimentos menciona que cuando algunos insecticidas se descomponen producen metabolitos entre los que se encuentra el PCA.<sup>56</sup> Reportan que dosis altas de estos insecticidas pueden ocasionar metahemoglobina debido a la oxidación del PCA.<sup>56,57</sup>

Por su parte, Van der Vost y col. 1990 reportaron metahemoglobinemia en neonatos debido a la intoxicación por PCA.<sup>58</sup> Además de su relación con la disminución de hemoglobina en sangre, estudios realizados en animales han concluido que la *para-cloroanilina* puede ser un compuesto cancerígeno.<sup>59,60,61</sup> Sin embargo, hasta el momento se desconocen los efectos que este compuesto podría tener sobre los tejidos periapicales.

**Marchesan y col . 2007** mezclaron el NaOCl y la CHX a diferentes concentraciones y proporciones. Los objetivos de este estudio fueron evaluar los metales presentes en el floculado formado por la interacción de los dos irrigantes mediante espectrometría de absorción atómica. Además se evaluaron el metanol, el hexano y el ácido acético como posibles soluciones que pudieran disolver el floculado, permitiendo con ello el uso clínico de dicha interacción. Los resultados reportaron la formación de un floculado en todas las mezclas realizadas. El análisis químico por espectrometría demostró la presencia de Ca, Fe y Mg en dicho floculado. El metanol logró disolver el floculado pero no se recomienda su uso *in vivo*. El ácido acético, utilizado a una concentración de 0.1mol/L debido a su baja toxicidad y biocompatibilidad, logró disolver el floculado aunque se mantuvo la coloración café de la solución.<sup>8</sup>

**Bui y col. 2008** reportaron que cuando el NaOCl es aspirado o secado con puntas de papel y aun cuando se deja en el conducto radicular, su interacción con CHX no deja una cantidad significativa de precipitado en la superficie del conducto radicular. Sin embargo, la interacción entre NaOCl y CHX significativamente afecta la patencia de los túbulos dentinarios. Aparentemente la dentina y sus túbulos albergan suficiente NaOCl que reacciona con la CHX, esto indicaría que una pequeña cantidad del precipitado se queda en la dentina. La obliteración de los túbulos fue significativa en los tercios medio y coronal. Los autores sugieren que la sustancia que cubrió la superficie radicular y que obliteró los túbulos dentinarios posiblemente se trata del precipitado descrito por Basrani y col. 2007 debido a que la superficie radicular estaba ligeramente teñida. Esto podría afectar los sistemas de obturación tales como Resilon para el cual es necesario mantener una capa híbrida de dentina para lograr un adecuado sellado, en este caso el precipitado estaría formando una interfase adicional entre el sellador y la dentina lo cual podría afectar la calidad de la obturación.<sup>62</sup>

**Irala y col. 2009** realizaron un estudio cuyo objetivo fue verificar la formación de un pigmento oscuro al mezclar diferentes concentraciones de NaOCl con CHX. Sus resultados mostraron que en

todas las mezclas realizadas hubo la formación de un precipitado ámbar oscuro y que la cantidad del mismo fue proporcional a la concentración de NaOCl utilizada.<sup>63</sup> Lo anterior concuerda con lo obtenido por Marchesan y col. 2007 quienes reportaron la formación de un floculado café en todas las proporciones y concentraciones a las que se mezclaron NaOCl y CHX.<sup>8</sup>

**Basrani y col. 2009** utilizaron una técnica de disociación para evaluar la presencia de una amina aromática (como el PCA) en la CHX al 2.0% a diferentes temperaturas (37°C y 45°C) y en el precipitado formado por la combinación entre NaOCl y CHX. Los resultados muestran la presencia de aminas aromáticas en el precipitado y en la CHX a 45°C.<sup>9</sup>

**Akisue y col. 2010** al estudiar el efecto que la mezcla entre NaOCl y CHX tiene sobre la permeabilidad dentinaria reportaron que al combinar NaOCl 1% y CHX 2% se forma un precipitado que actúa como una capa de barrillo químico reduciendo con ello la permeabilidad de la dentina en el tercio apical, lo cual podría comprometer la difusión de la medicación intraconducto y el sellado de la obturación.<sup>64</sup>

**Thomas y Sem. 2010** realizaron un análisis por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN de <sup>1</sup>H) buscando determinar si la *para*-cloroanilina (PCA) se forma a partir de la mezcla de NaOCl y CHX. Inicialmente, se obtuvieron los espectros del acetato de CHX y PCA puros (Fig. 6,7) para tener un referente de las señales correspondientes a cada compuesto. Al evaluarse el espectro del precipitado formado por la mezcla entre NaOCl y CHX no se apreciaron las señales dobles propias del PCA por lo cual se concluyó que la reacción entre NaOCl y CHX no produce PCA a ninguna cantidad cuantificable (fig. 8).<sup>10</sup> Los resultados de este estudio difieren de lo obtenido por Basrani y cols. en estudios anteriores.<sup>7</sup>

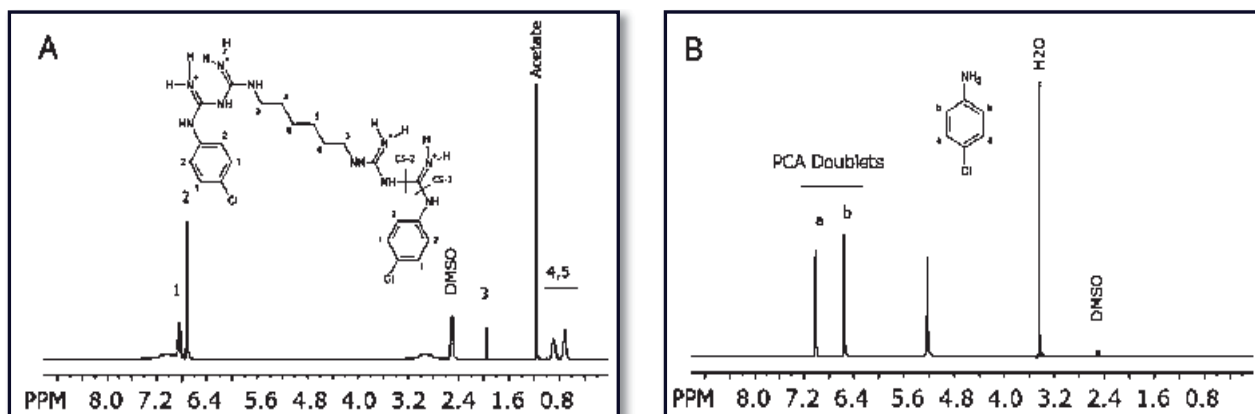


Fig 6. Espectro en RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente a CHX.

Fig 7. Espectro en RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente a *para*-cloroanilina (PCA).

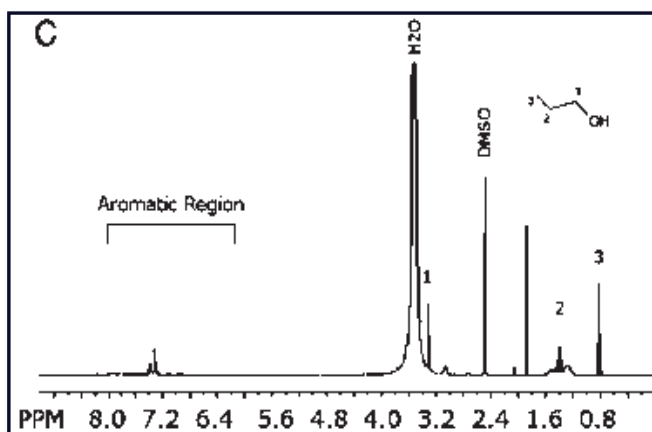


Fig 8. Espectro en RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente a la mezcla entre NaOCl y CHX.

**Basrani y col. 2010** utilizando cromatografía de gas-espectrometría de masas (GC-MS) evaluaron la composición química del precipitado formado por la combinación entre NaOCl y CHX. Sus resultados mostraron ausencia de otros derivados de anilinas en este precipitado. Solamente se encontró *para*-cloroanilina.<sup>65</sup>

**Krishnamurthy, y Sudhakaran 2010**, evaluaron el espesor máximo y la composición química del precipitado producto de la interacción de NaOCl y CHX por medio de las pruebas Beilstein y HCl y la técnica de resonancia magnética nuclear. Los resultados confirmaron la presencia de clorina en la posición para del anillo bencénico. Los autores concluyen que la interacción entre NaOCl y CHX da como resultado una sal neutra insoluble en forma de precipitado, lo cual puede prevenirse utilizando alcohol absoluto y minimizarse utilizando agua salina y destilada como irrigantes intermedios.<sup>66</sup>

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la literatura se ha reportado la formación de precipitados al combinarse NaOCl y CHX en presentaciones de grado reactivo,<sup>7-10</sup> sin embargo no se encuentran antecedentes de lo que ocurre al mezclar NaOCl y CHX de uso comercial.

Del precipitado formado se ha reportado que adquiere un tono rojo-café y que contiene *para*-cloroanilina, compuesto tóxico.<sup>7,9,65</sup> Las características mostradas por el precipitado hacen suponer que de formarse por la combinación de soluciones de uso comercial, este precipitado desde el punto de vista clínico podría afectar el sellado del material de obturación y con ello poner en riesgo el pronóstico del tratamiento endodóntico. Aunque se desconocen los efectos que tiene el precipitado en contacto con los tejidos periapicales, los estudios mencionan que el precipitado contiene PCA, compuesto que se ha reportado es un agente tóxico.<sup>56-61</sup> Motivo por el cual resulta importante identificar las características fisicoquímicas que presenta la mezcla entre NaOCl y CHX de uso comercial.

### 4. JUSTIFICACIÓN

Es un hecho que la completa eliminación de bacterias del sistema de conductos es un objetivo inalcanzable con las actuales técnicas de preparación, con las que se logra en el mejor de los casos una importante reducción de la carga bacteriana del conducto radicular.<sup>67</sup> Este problema se debe a la complejidad anatómica del sistema de conductos donde es frecuente que permanezcan zonas ocultas a los procedimientos de desinfección, limpieza y conformación sirviendo estas zonas como reservorio de bacterias.<sup>14</sup>

Con el objetivo de mejorar la desinfección, se ha sugerido la combinación de irrigantes.<sup>68-71</sup> En estas combinaciones se incluye al NaOCl y la CHX.<sup>6</sup> Al parecer el objetivo de combinar estas dos soluciones es lograr mejores resultados en la desinfección del sistema de conductos al prolongar el

efecto bactericida con una solución menos tóxica como lo es la CHX que podría sumarse a la capacidad de disolución del NaOCl sobre el tejido pulpar.<sup>6,50</sup> Un paradigma es la combinación entre estos dos agentes, mientras que autores como Kuruvilla y col. reportan que esta combinación fue superior en un 82% al compararse con los resultados del uso de las soluciones por separado.<sup>6</sup> Otros autores como Basrani y col. reportan que el uso combinado de estos dos agentes debería ser evitado debido a que forma un precipitado de color rojo-café<sup>7</sup> que contiene *para*-cloroanilina (PCA), compuesto reportado como responsable de metahemoglobinemia en humanos y efectos carcinogénicos en ratas.<sup>56-61</sup>

Por otra parte, la formación de este precipitado bajo condiciones clínicas podría afectar la calidad del sellado del material de obturación permitiendo la microfiltración y en última instancia el fracaso del tratamiento endodóntico.<sup>62,64</sup> En la actualidad no existe evidencia en la literatura de las características fisicoquímicas del precipitado formado por la combinación de NaOCl y CHX de uso comercial ya que en los estudios anteriores estos dos irrigantes se han combinado utilizando soluciones grado reactivo. Se debe tomar en cuenta que los productos de uso clínico pueden contener sustancias que pudieran influir o no en la formación de precipitados. Por lo cual, el presente estudio tuvo como objetivo el evaluar las características fisicoquímicas de la combinación entre NaOCl y CHX de uso comercial.

## 5. HIPÓTESIS

Las mezclas evaluadas en esta investigación presentaran características fisicoquímicas diferentes a lo reportado por la literatura hasta el momento. Al compararse los grupos de evaluación con el grupo control presentaran características fisicoquímicas diferentes. Los grupos de evaluación presentaran características fisicoquímicas diferentes al compararse entre sí.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características fisicoquímicas de la combinación entre NaOCl y CHX de uso comercial.

## 6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la formación de precipitado en la combinación entre diversas marcas comerciales de NaOCl y CHX.
2. Comparar el pH de las diversas marcas comerciales de NaOCl y CHX, así como en el producto de su interacción.
3. Determinar la presencia de *para*-cloroanilina en el producto de la interacción entre diversas marcas comerciales de NaOCl y CHX.

## 7. CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO

**Clínico:** porque los datos obtenidos son aplicables en la práctica clínica.

**Experimental:** porque se manipularon variables en condiciones controladas.

**Comparativo:** porque se compararon los grupos de evaluación entre sí y con los grupos control en busca de identificar sus diferencias o semejanzas.

**Longitudinal:** las variables en estudio fueron observadas a lo largo de un tiempo determinado.

### CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

En el grupo control se incluyeron solamente NaOCl grado reactivo y CHX grado reactivo.

En los grupos de evaluación se incluyeron solamente soluciones de NaOCl y CHX de uso comercial.

Todas las soluciones utilizadas en este estudio fueron de reciente adquisición y no se utilizaron para otros fines mientras se llevo a cabo la fase experimental.

### CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN.

En el grupo control no se incluyeron soluciones de NaOCl de uso comercial.

En los grupos de evaluación no se incluyeron soluciones de NaOCl y CHX de grado reactivo.

Soluciones cuyos frascos estuvieran previamente abiertos.

Soluciones cuya fecha de expiración hubiera ya vencido.

## 8. MATERIAL Y MÉTODO

En la realización del presente estudio se utilizaron las siguientes soluciones: CHX 99.5%, CHX de uso clínico al 2.0% en su presentación de gluconato de clorhexidina, CHX de uso clínico al 0.12% en su presentación de digluconato de clorhexidina, NaOCl al 6% grado analítico, NaOCl al 5.25% de uso clínico, NaOCl al 2% de uso clínico e NaOCl al 5.25% de uso doméstico.

A cada una de las soluciones le fue asignado un código, estos se muestran en la fig. 9.

AGENTE OXIDANTE	CÓDIGO	FUENTE DE CHX	CÓDIGO
NaOCl grado reactivo	NaOCl-6 HyCEL <sup>®</sup>	CHX grado reactivo al 99.5%	CHX 99.5 Sigma-Aldrich <sup>®</sup>
NaOCl de uso doméstico al 5.25%	CXAO-525	CHX de uso clínico al 2.0%	GCHXCS-200
NaOCl de uso clínico al 5.25%	VTAO-525	CHX de uso clínico al 0.12%	dGCHXB-012
NaOCl de uso clínico al 2%	VTAO-200		

Fig. 9 Se muestra el código asignado a cada solución.

Todas las soluciones fueron conservadas a temperatura ambiente y en oscuridad hasta el momento del estudio. En adición a las soluciones de estudio, se empleo agua destilada, metanol, cloruro de metileno, cloroformo y dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>) para la preparación de las muestras que se sometieron al análisis de resonancia magnética nuclear (RMN).

En este estudio las soluciones CXAO-525, VTAO-525 y VTAO-200 se mezclaron con GCHXCS-200 y dGCHXB-012 formándose con ello 6 grupos de evaluación (fig.10). El grupo control se formo a partir de la mezcla de NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup> con CHX 99.5 Sigma-Aldrich<sup>®</sup>. Se formaron dos grupos prueba a partir de la mezcla de NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup> con GCHXCS-200 y

**dGCHXB-012**, estos grupos sirvieron como referente de la acción oxidante que tiene el NaOCl grado reactivo sobre la clorhexidina de las soluciones de uso comercial (fig.10).

El estudio se realizó en tres fases experimentales:

**Fase I.** Consistió en evaluar la formación de precipitado en la combinación entre NaOCl y CHX de uso comercial, mezclados en proporción de 1:1 de acuerdo a lo descrito por Basrani y col.<sup>7</sup> Para mezclar las soluciones se utilizaron microtubos de polipropileno de 1.5mL marca CRM Globe (fig.11) y una micropipeta de 100-1000  $\mu$ l marca Spinreact (fig.12).

En el grupo control, en los grupos prueba y en cada uno de los seis grupos de evaluación se registró el color de la mezcla, la formación de precipitado y consistencia del mismo. La consistencia del precipitado se determinó por el contacto entre el dedo pulgar y el índice, reportándose de la siguiente manera:

- 0 SUELTO: sin coherencia.
- 1 MUY FRIABLE: el material se desmenuza bajo muy ligera presión, pero se une cuando se le comprime.
- 2 FRIABLE: el material se desmenuza fácilmente bajo ligera o moderada presión entre pulgar e índice.
- 3 FIRME: el material se desmenuza bajo moderada presión entre pulgar e índice.
- 4 MUY FIRME: el material apenas es desmenuzable bajo fuerte presión entre pulgar e índice.
- 5 EXTREMADAMENTE FIRME: el material se desmenuza solamente bajo una presión muy fuerte, no se puede desmenuzar entre pulgar e índice.

La información obtenida se registró en una hoja de recolección de datos (Anexo 1). De acuerdo a lo establecido por Basrani y col.,<sup>7</sup> las observaciones se realizaron cada 15 minutos durante las dos horas siguientes a la combinación de las soluciones.

**Fase II.** Se determinó el pH de las presentaciones comerciales de NaOCl, CHX y el de sus mezclas. Un potenciómetro pH 211 de Hanna calibrado a un pH de 7 y 4 fue utilizado para la obtención de los valores. (figs.13-15).

A fin de que la lectura del pH de las soluciones sea confiable es necesario que el bulbo del potenciómetro este completamente en contacto con la solución a evaluar, por lo cual en vasos de precipitados las soluciones se combinaron en una proporción de 15ml:15ml. (fig.16). Un registro por triplicado de los resultados se realizó a fin de lograr confiabilidad de los mismos. Todas las lecturas fueron registradas en una hoja de recolección de datos (Anexo 2).

**Fase III:** Inicialmente se determinaron los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de las soluciones de CHX (fig.39) para realizar la correcta asignación de sus señales y determinar la viabilidad de la materia prima a utilizar.

Por medio de resonancia magnética nuclear (RMN) se analizó la mezcla entre los agentes oxidantes y las fuentes de clorhexidina para determinar la presencia de *para*-cloroanilina. Para la realización de esta fase se emplearon dos métodos los cuales se describen a continuación:

**Método A:** Se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de agente oxidante (NaOCl) en un tubo eppendorff, posteriormente se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de solución de CHX, esta mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante diez minutos (fig.17); la mezcla se centrifugo (fig.18), el precipitado formado (producto de reacción) se lavó consecutivamente con agua destilada y metanol (fig.19 -20); finalmente se recuperó el precipitado con metanol o con diclorometano para ser analizado mediante RMN (fig.21).

**Método B:** Se agregaron 10mL de agente oxidante (NaOCl) en un matraz Erlen-Meyer de 50mL, posteriormente se adicionaron 10mL de solución de CHX, esta mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente y en agitación durante 10 minutos (fig.22). El producto de reacción se extrajo con 40mL de diclorometano (2 veces X 20mL) (fig.24), la fase orgánica (fase de diclorometano) se secó sobre sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  *anh.*) utilizando un embudo de separación, se filtró y finalmente se concentró en rotavapor (fig.27). El producto obtenido se analizó mediante RMN (fig.28).

Se utilizó dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>) como disolvente para determinar los espectros de RMN de <sup>1</sup>H (fig.29-32). La evaluación se realizó con un espectrómetro de RMN de <sup>1</sup>H marca Varian Eclipse 400 (fig.33-34).

El presente estudio se realizó en el Centro Universitario de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, en la Facultad de Químico Farmacobiología y en el Instituto de Investigaciones Químico – Biológicas, todos ellos dependientes de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

## IMÁGENES DE MATERIAL Y MÉTODO.

### GRUPOS DE EVALUACIÓN.

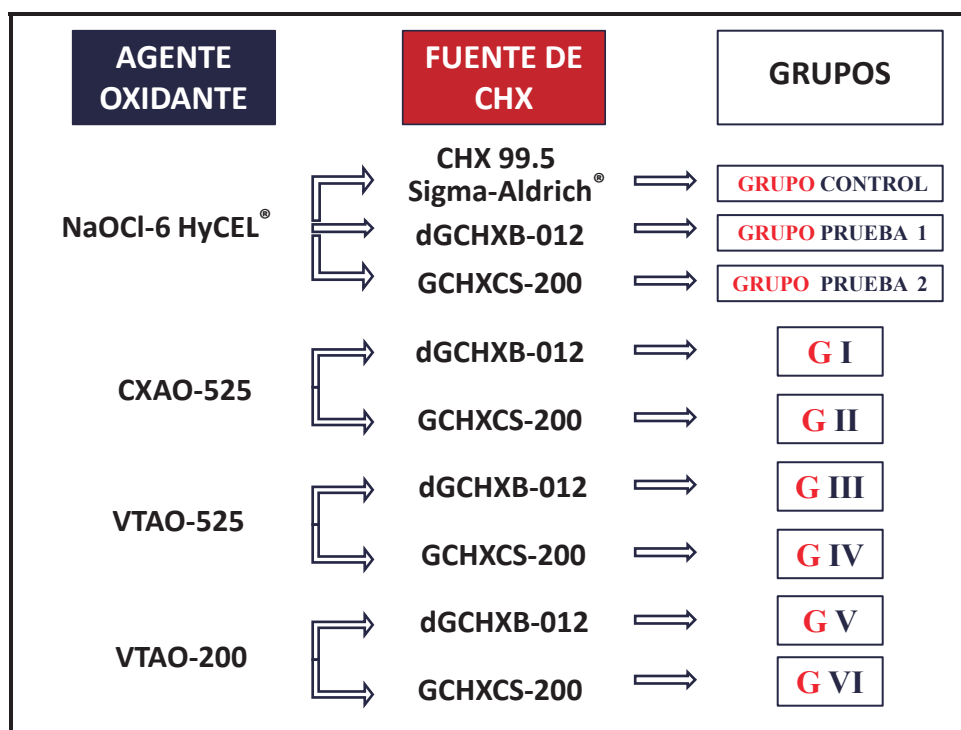


Fig.10 Representación de los grupos control y de evaluación.

### IMÁGENES FASE I



*Fig.11 Microtubos de polipropileno de 1.5ml.*

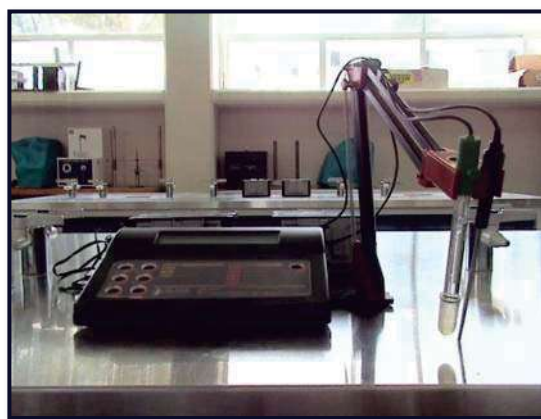
**IMÁGENES FASE II**



*Fig.12 Micropipeta de 100-1000  $\mu$ l.*



*Fig.13 Potenciómetro.*



*Fig.14 Potenciómetro.*



*Fig.15 Potenciómetro calibrado a 4 y 7.*



*Fig. 16 Preparación de la mezcla y medición de pH en el grupo VI.*

### IMÁGENES FASE III.

**Método A.** Grupos II, IV, y VI.



*Fig.17 Mezcla del grupo IV.*



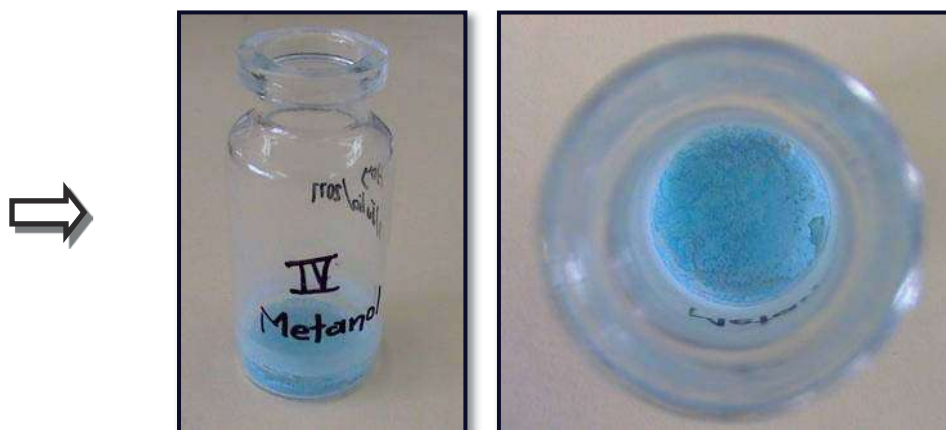
*Fig.18 Grupo IV centrifugándose.*



*Fig.19 Recuperación de la parte acuosa en el grupo VI.*



*Fig.20 Recuperación del grupo IV en agua destilada, metanol y cloruro de metileno.*



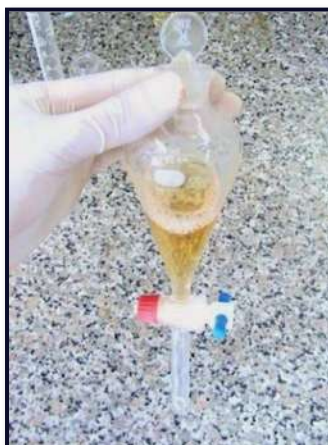
*Fig.21 Muestra del grupo IV disuelto en metanol.*

### IMÁGENES FASE III.

**Método B.** Grupos I, III, y V.



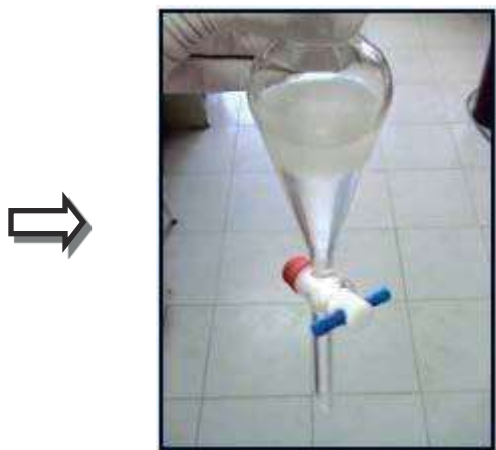
*Fig.22 Preparación de la mezcla en el grupo I.*



*Fig.23 Mezcla del grupo I en embudo de separación.*



*Fig. 24 Adición de diclorometano.*



*Fig. 25 Separación de las fases acuosa y orgánica.*



*Fig. 26 Recuperación de la fase orgánica.*

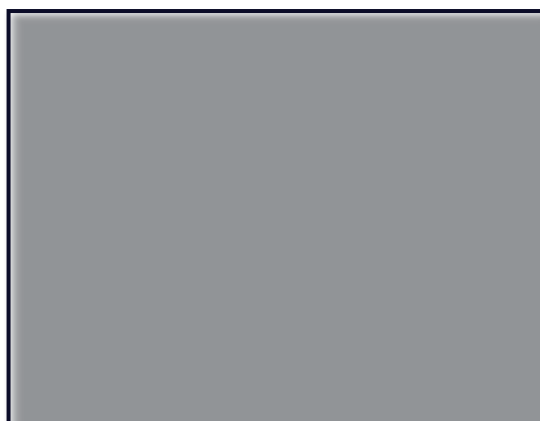


*Fig.27 Fase orgánica del grupo I en rotavapor.*



*Fig.28 Muestra del grupo I disuelta en diclorometano.*

**FASE III. Análisis en resonancia magnética nuclear.**



*Fig. 29 Se observa la muestra del grupo II y el frasco con DMSO-d<sub>6</sub>(dimetilsulfoxido deuterado).*



*Fig. 30 Muestra del grupo II disuelta en DMSO-d<sub>6</sub> (dimetilsulfoxido deuterado).*

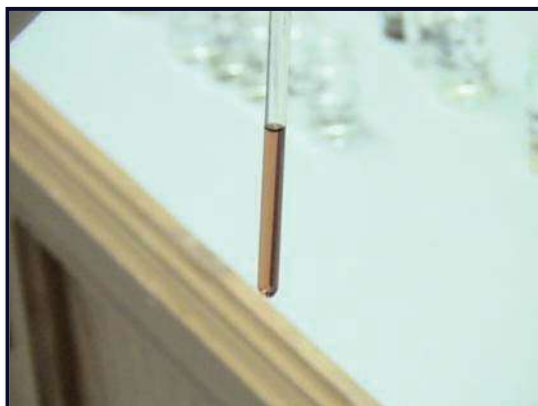


Fig. 31 Muestra del grupo II disuelta en DMSO-d<sub>6</sub> para su análisis en RMN de <sup>1</sup>H.



Fig. 32 Muestra del grupo II disuelta en DMSO-d<sub>6</sub>.

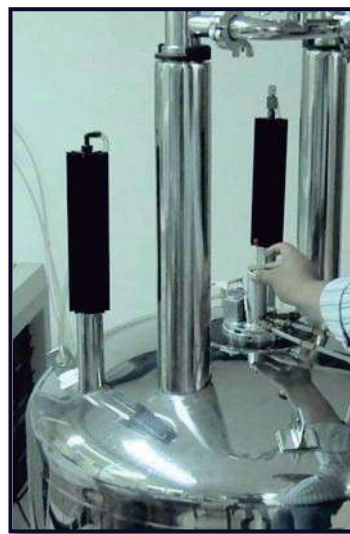


Fig. 33 v 34 Espectrómetro de RMN de <sup>1</sup>H marca Varian Eclipse 400.

## 9. RESULTADOS

### RESULTADOS. FASE I

**GRUPO CONTROL 1 (NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup> + CHX 99.5 Sigma-Aldrich<sup>®</sup>):** Para realizar este ensayo la presentación de **CHX 99.5 Sigma-Aldrich<sup>®</sup>** se intentó llevar a una concentración de CHX al 2.0% en agua destilada, sin embargo no fue posible disolver la CHX obteniéndose una solución lechosa. La mezcla de esta solución y del agente oxidante adquirió de forma inmediata un tono anaranjado con formación de precipitados del mismo color y de consistencia friable (fig.35).

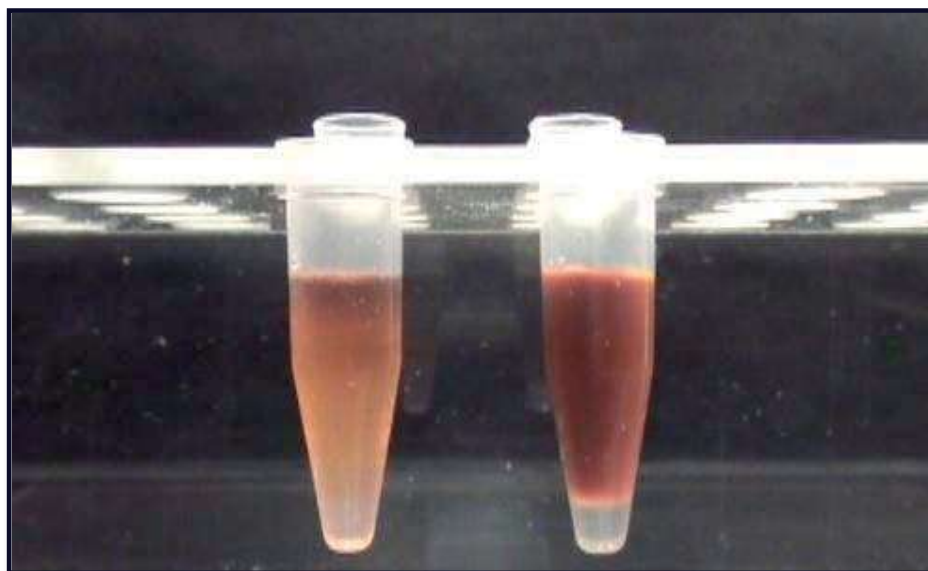


*Fig.35 Imagen del grupo control.*

**GRUPO PRUEBA 1 (NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup> + dGCHXB-012):** En este grupo no se observó formación aparente de precipitado, sin embargo la zona superior de la mezcla adquirió un tono rojizo el cual se fue desvaneciendo hasta dejar una mezcla ligeramente amarillenta a las dos horas de evaluación (fig.36).

**GRUPO PRUEBA 2 (NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup> + GCHXCS-200):** La mezcla de estas dos soluciones adquirió de inmediato un tono rojo con formación de precipitado de consistencia firme. Durante el período de observación la consistencia y el tono del precipitado no presentaron cambios perceptibles (fig.36).

<b>GRUPO PRUEBA 1</b>	<b>GRUPO PRUEBA 2</b>
NaOCl-6 HyCEL <sup>®</sup> + dGCHXB-012	NaOCl-6 HyCEL <sup>®</sup> + GCHXCS-200



*Fig.36 Imagen de los grupos prueba 1 y 2.*

### ***GRUPOS DE EVALUACIÓN.***

**GRUPO I (CXAO-525+ dGCHXB-012):** No se observó formación de precipitado, a pesar de que la zona superior de la mezcla adquirió un tono anaranjado (fig.37), que se fue desvaneciendo conforme pasaban los minutos hasta terminar en un tono amarillo tenue a las dos horas de haber hecho esta mezcla (fig.38).

**GRUPO II (CXAO-525+ GCHXCS-200)** A diferencia del grupo anterior, en este, la formación de precipitado ocurrió de forma inmediata, adquiriendo un tono rojo-café y consistencia firme (fig.37). El color y la consistencia fueron constantes hasta dos horas después de realizada la mezcla (fig.38).

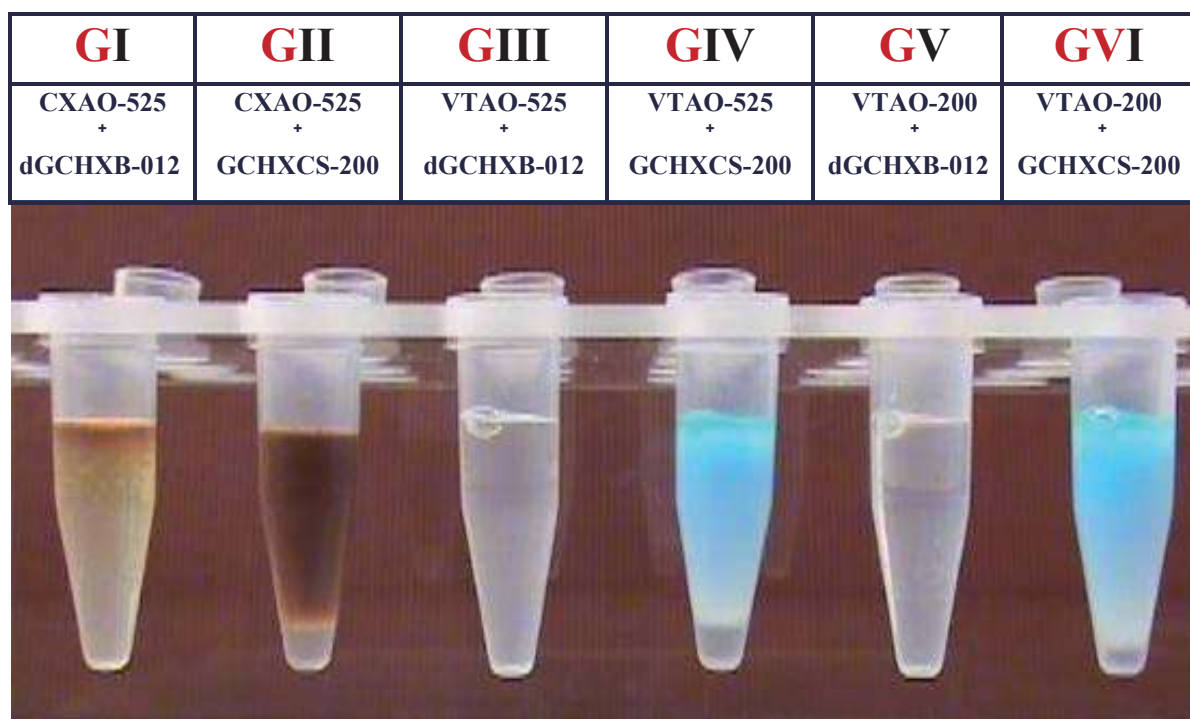
**GRUPO III (VTAO-525 + dGCHXB-012)** En este grupo no se observó formación de precipitado ni cambio de color (Fig.37). La mezcla se mantuvo constante hasta dos horas después de haberla realizado (fig.38).

**GRUPO IV (VTAO-525 + GCHXCS-200)** En este grupo de forma inmediata al mezclar las soluciones se apreció un tono azul claro (fig.37). La formación de un precipitado del mismo color a la

mezcla y de consistencia friable fue detectada a los 15 minutos. El precipitado mantuvo su consistencia y adquirió una tonalidad más clara a las dos horas de realizada la mezcla (fig.38).

**GRUPO V (VTAO-200 + dGCHXB-012)** Al igual que en el grupo III, en este grupo no se observó formación de precipitado o cambio de color a las dos horas de realizada la mezcla (figs.37-38).

**GRUPO VI (VTAO-200 + GCHXCS-200)** Los resultados de este grupo fueron iguales al grupo IV (fig.37), formándose un precipitado de consistencia friable, inicialmente de color azul claro que se torno más claro a las dos horas de realizada la mezcla (fig.38).



*Fig. 37 Imagen tomada inmediatamente al realizarse las mezclas.*



CXAO-525 + dGCHXB-012	CXAO-525 + GCHXCS-200	VTAO-525 + dGCHXB-012	VTAO-525 + GCHXCS-200	VTAO-200 + dGCHXB-012	VTAO-200 + GCHXCS-200
-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------

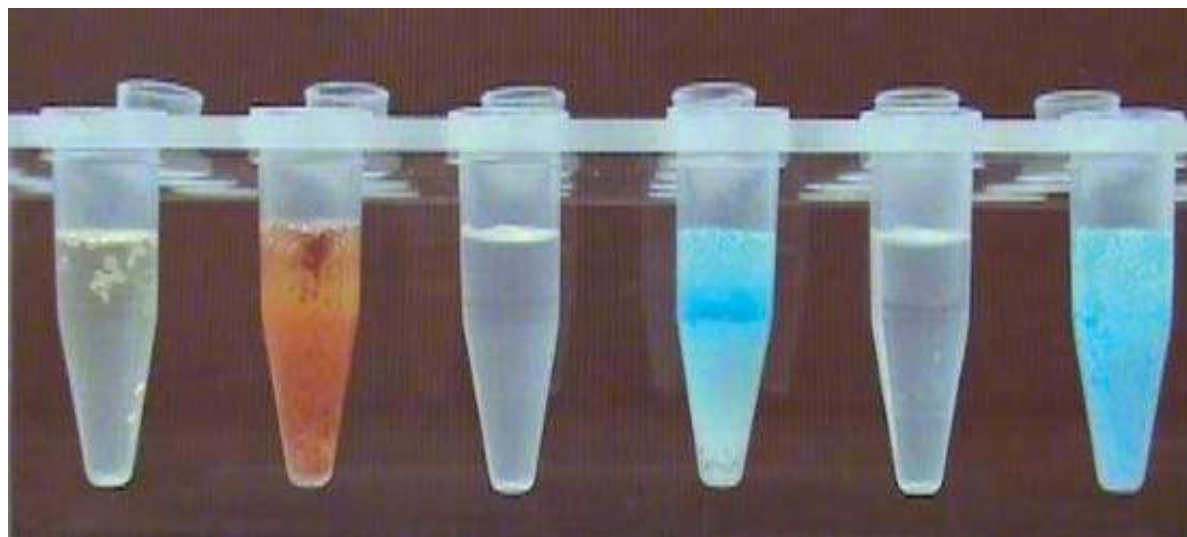


Fig.38 Imagen de los seis grupos de evaluación a 2 horas de realizada la mezcla.

## RESULTADOS. FASE II

Los valores del pH de los agentes oxidantes y de las fuentes de CHX utilizadas en este estudio y de los grupos de evaluación se muestran en las figs. 39 y 40 respectivamente.

		AGENTES OXIDANTES			FUENTES DE CHX	
		CXAO-525	VTAO-525	VTAO-200	dGCHXB-012	GCHXCS-200
<b>Ph</b>	<b>Lectura 1</b>	12.39	9.65	9.56	6.55	5.64
	<b>Lectura 2</b>	12.43	9.71	9.35	6.19	5.75
	<b>Lectura 3</b>	12.34	9.69	9.57	6.13	5.78
	<b>Media aritmética</b>	12.38	9.68	9.49	6.29	5.72
	<b>Desviación Estándar</b>	0.04509	0.03055	0.12423	0.22715	0.07371

Fig.39 Se muestran los valores de pH de las soluciones de uso comercial.

		GI CXAO-525 + dGCHXB-012	GII CXAO-525 + GCHXCS-200	GIII VTAO-525 + dGCHXB-012	GIV VTAO-525 + GCHXCS-200	GV VTAO-200 + dGCHXB-012	GVI VTAO-200 + GCHXCS-200
<b>H</b>	<b>Lectura 1</b>	9.20	10.15	9.04	9.05	8.58	8.64
	<b>Lectura 2</b>	8.66	10.00	8.87	8.90	8.74	8.30
	<b>Lectura 3</b>	8.35	9.94	8.87	8.80	8.62	8.05
	<b>Media aritmética</b>	8.73	10.03	8.92	8.91	8.65	8.33
	<b>Desviación Estándar</b>	0.43015	0.10816	0.09814	0.12583	0.08326	0.29614

Fig.40 Se muestran los valores de pH de los grupos de evaluación.

### RESULTADOS FASE 3

#### ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS FUENTES DE CHX.

El análisis realizado en RMN de  $^1\text{H}$  confirmó la presencia de CHX en CHX 99.5 Sigma-Aldrich, GCHXCS-200 y dGCHXB-012. En los espectros las señales correspondientes a la CHX se etiquetaron tomando como referencia la literatura (Thomas 2010). Los desplazamientos observados se muestran en la fig. 41.

POSICIÓN	CHX 99.5 Sigma-Aldrich <sup>®</sup>	GCHXCS-200	dGCHXB-012
<b>1</b>	<b>6.82ppm</b>	<b>7.41ppm</b>	<b>7.32ppm</b>
<b>2</b>	<b>7.18ppm</b>	<b>7.31ppm</b>	<b>7.57ppm</b>
<b>3</b>	<b>3.08ppm</b>	<b>3.05ppm</b>	<b>3.14ppm</b>
<b>4</b>	<b>1.43ppm</b>	<b>1.44ppm</b>	<b>1.53ppm</b>
<b>5</b>	<b>1.29ppm</b>	<b>1.22ppm</b>	<b>1.21ppm</b>

Fig.41 Se muestran los desplazamientos correspondientes a las fuentes de CHX utilizadas en el estudio.

En la realización de este estudio inicialmente se determinaron los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de las soluciones de CHX (fig.42) para realizar la correcta asignación de sus señales y determinar la viabilidad de la materia prima a utilizar. Si bien existe diferencia al comparar el desplazamiento de las señales de CHX reportadas por la literatura<sup>10</sup> y las observadas en los espectros de las fuentes de

CHX utilizadas en este estudio, se debe a la presentación de CHX utilizada ya que las señales reportadas por Thomas<sup>10</sup> al evaluar la composición química del precipitado son propias de acetato de clorhexidina mientras que en nuestro estudio las presentaciones de CHX utilizadas consistieron en CHX libre (CHX 99.5 Sigma-Aldrich®) y dos presentaciones de CHX en forma de sal: gluconato de clorhexidina (GCHXCS-200) y digluconato de clorhexidina (dGCHXB-012). No obstante los ligeros desplazamientos, todos los espectros de las fuentes de CHX utilizadas en este estudio muestran los picos correspondientes a las estructuras que conforman la molécula de CHX señalados en la literatura<sup>10</sup> con lo cual se confirmó la viabilidad de las fuentes de CHX a utilizar. Así mismo, en los espectros de los grupos control y de evaluación las señales correspondientes a *para*-cloroanilina se etiquetaron tomando como referencia a Thomas.<sup>10</sup>

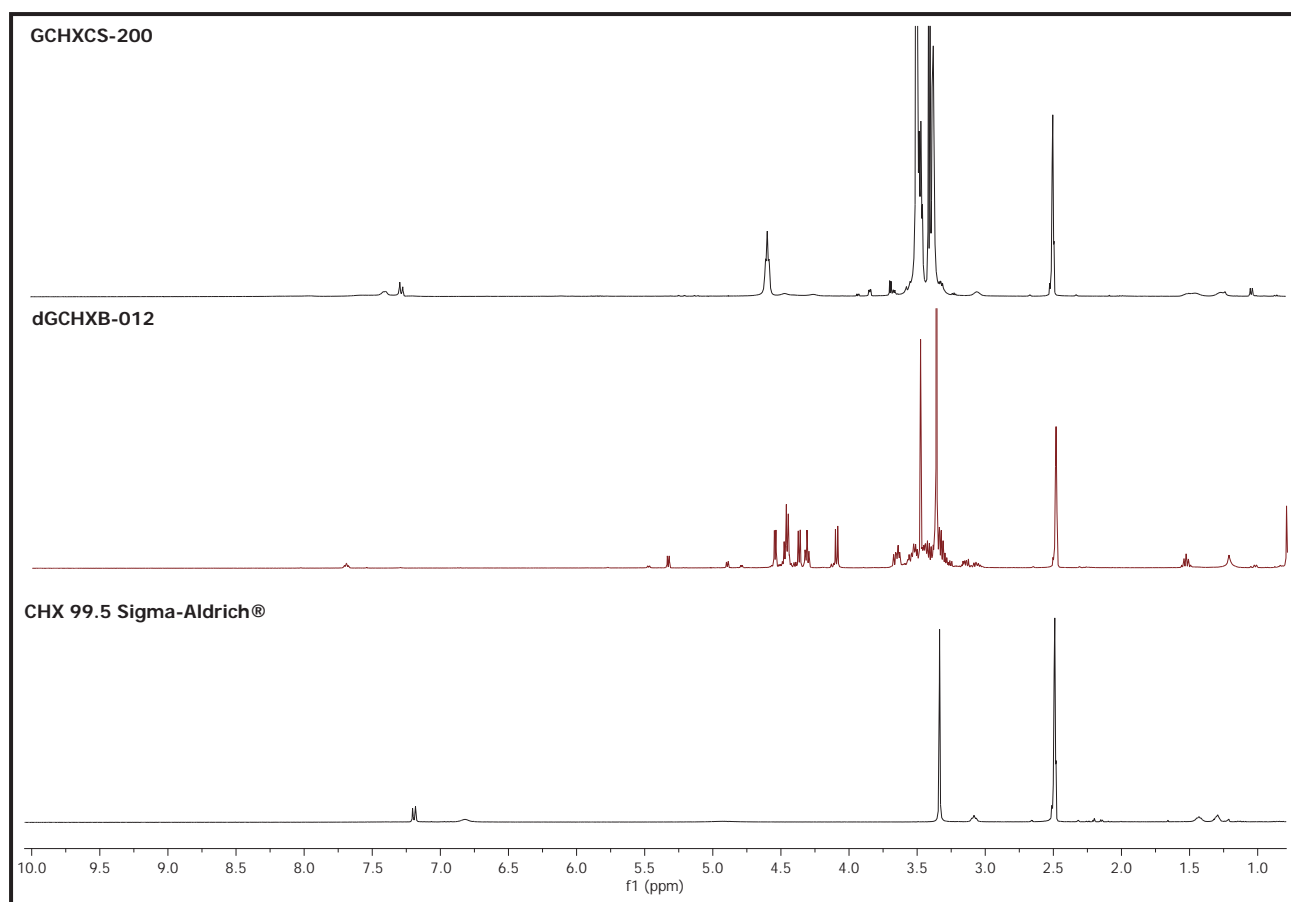


Fig. 42 Se muestran los espectros de RMN de <sup>1</sup>H de las fuentes de CHX utilizadas en el estudio.

### ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$ DE LOS GRUPOS CONTROL.

**GRUPO CONTROL (NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup> + CHX 99.5 Sigma-Aldrich<sup>®</sup>):** Se aprecian señales que sugieren la presencia de *para*-cloroanilina en 7.23ppm y 6.95ppm. Se observan también señales correspondientes a clorhexidina (fig.43).

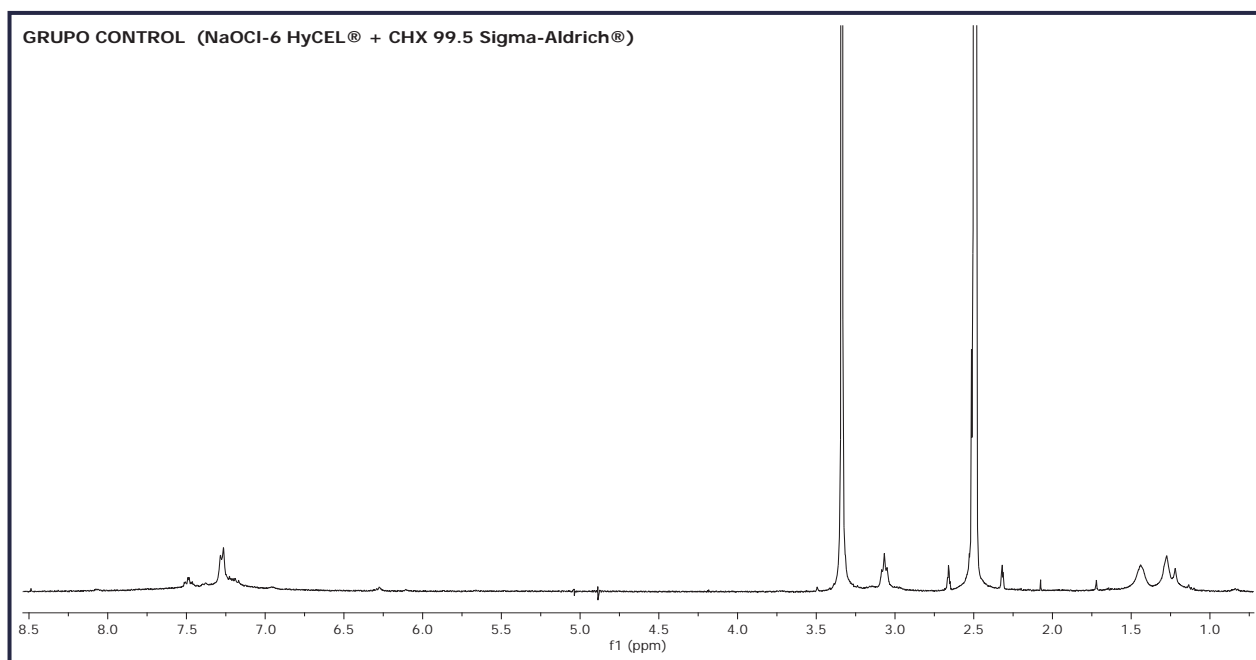


Fig. 43 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo control.

En este grupo se intentó obtener CHX al 2% a partir de **CHX 99.5 Sigma-Aldrich<sup>®</sup>** para mezclarla con el agente oxidante, sin embargo no fue posible disolver esta presentación de CHX debido a que se encuentra en su forma libre, lo que se obtuvo fue una solución lechosa que al mezclarse con el agente oxidante adquirió un tono anaranjado. Al análisis de esta mezcla por RMN de  $^1\text{H}$  se apreciaron señales características de CHX y al maximizar las señales se identificaron picos que sugieren la presencia de *para*-cloroanilina sin embargo estas no se aprecian bien definidas ya que quedan cubiertas por las amplias señales de CHX. Se sugiere que la reacción no procedió correctamente debido a la insolubilidad de la CHX.

**GRUPO PRUEBA 1 (NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup> + dGCHXB-012):** Al maximizar las señales no se apreciaron desplazamientos correspondientes a *para*-cloroanilina (fig. 44). Entre 7.0 y 7.5 ppm se apreciaron señales probablemente correspondientes a otros subproductos de degradación de la mezcla. También entre 0.5 y 1.0 ppm se aprecia mentona como producto de degradación del mentol presente en dGCHXB-012.

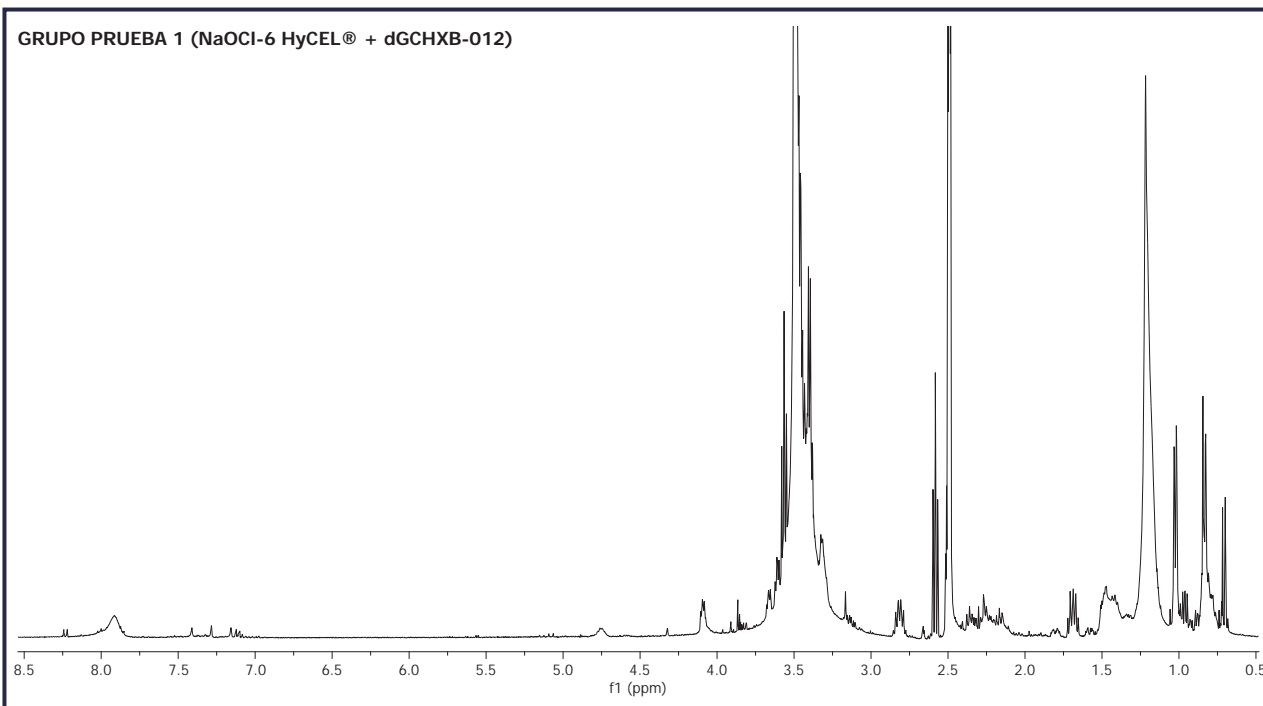


Fig. 44 Espectro de RMN de <sup>1</sup>H correspondiente al grupo prueba 1.

Para el análisis en RMN de <sup>1</sup>H de este grupo de evaluación en un inicio la mezcla se realizó con 500µl de cada solución. Sin embargo, en el espectro obtenido no se apreciaron señales de CHX o de *para*-cloroanilina aun maximizando los picos, esto pudo deberse a que la muestra recuperada hubiera sido escasa evitando con ello un correcto análisis o a que la acción del agente oxidante hubiera sido importante como para degradar tanto a la CHX como a sus posibles productos de degradación. Para descartar que la muestra recuperada hubiera sido poca se decidió aumentar el volumen de la muestra siguiendo el método B. El producto obtenido se analizó mediante RMN de <sup>1</sup>H, en esta ocasión el espectro al maximizar las señales tampoco reveló picos correspondientes a CHX o *para*-cloroanilina. De ello se puede inferir que al tiempo de reacción establecido el agente oxidante al parecer degradó por completo a la clorhexidina al .12% presente en dGCHXB-012 y a la *para*-cloroanilina dejando otros subproductos de degradación. Para el análisis en RMN de <sup>1</sup>H de los grupos I, III y IV (en los que la fuente de CHX fue dGCHXB-012) se siguió el **Método B**.

**GRUPO PRUEBA 2 (NaOCl-6 HyCEL®+GCHXCS-200):** El espectro demostró la presencia de *para*-cloroanilina (6.67 y 7.20 ppm) en el precipitado formado por la mezcla de las soluciones evaluadas (fig.45).

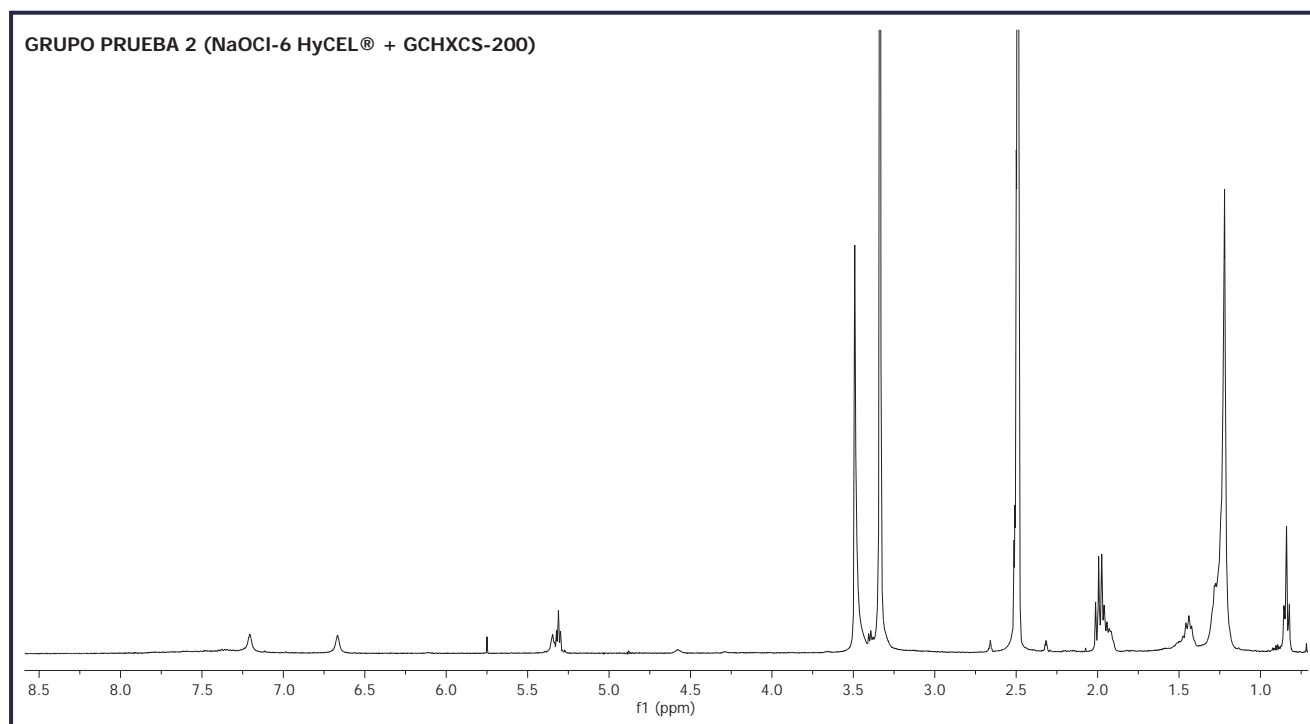


Fig. 45 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo prueba 2.

Para el análisis en RMN de  $^1\text{H}$  se siguió el método A obteniéndose un espectro en el que se apreciaron señales de *para*-cloroanilina en 7.20ppm y 6.67ppm, sin apreciarse señales de CHX. A partir de los resultados obtenidos podemos inferir que el precipitado formado por la mezcla entre **NaOCl-6 HyCEL® + GCHXCS-200** contiene *para*-cloroanilina y que al tiempo de reacción establecido el agente oxidante utilizado degradó por completo a la CHX al 2% presente en **GCHXCS-200**. Para el análisis en RMN de  $^1\text{H}$  de los grupos II, IV y VI (en los que la fuente de CHX fue **GCHXCS-200**) se siguió la metodología utilizada en este grupo prueba.

### ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$ DE LOS GRUPOS DE EVALUACIÓN.

**GRUPO I (CXAO-525+ dGCHXB-012):** Aun al maximizar las señales no se apreciaron desplazamientos propios de *para*-cloroanilina. Se observó mentona en 0.71 y 0.85 ppm como producto de degradación del mentol presente en dGCHXB-012 (fig.46).

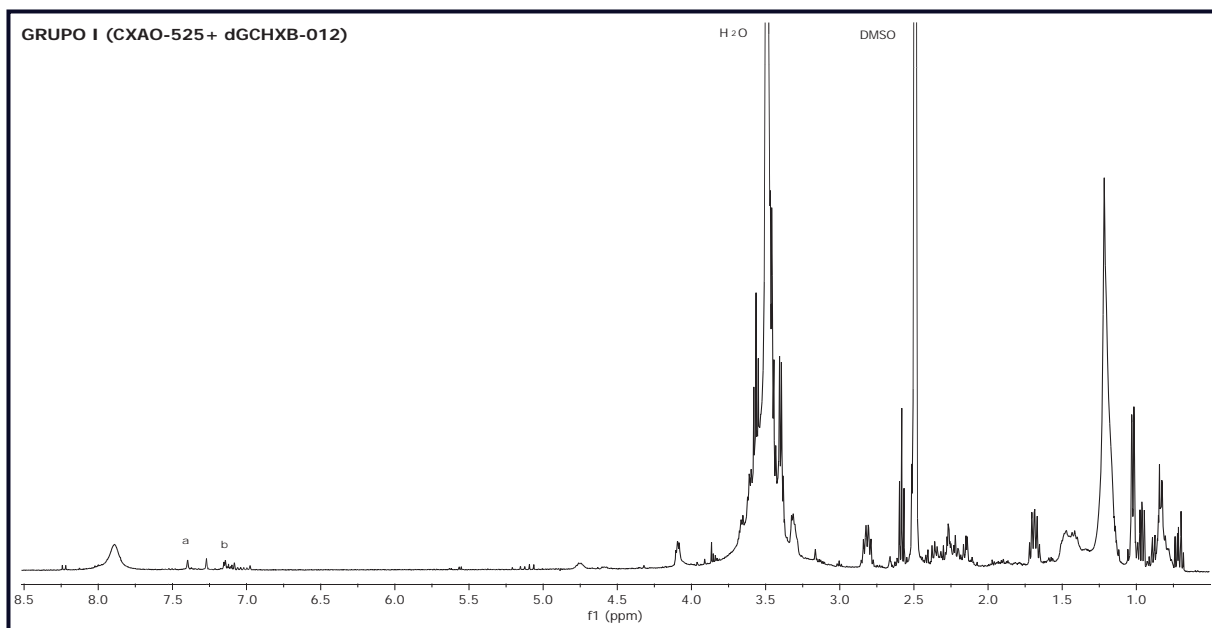


Fig. 46 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo de evaluación I.

**GRUPO II (CXAO-525+ GCHXCS-200)** El espectro de este grupo de evaluación demostró la presencia de *para*-cloroanilina en el precipitado formado por la mezcla de las dos soluciones evaluadas. Las señales correspondientes se ubicaron en 6.68 y 7.23 ppm (fig. 47).

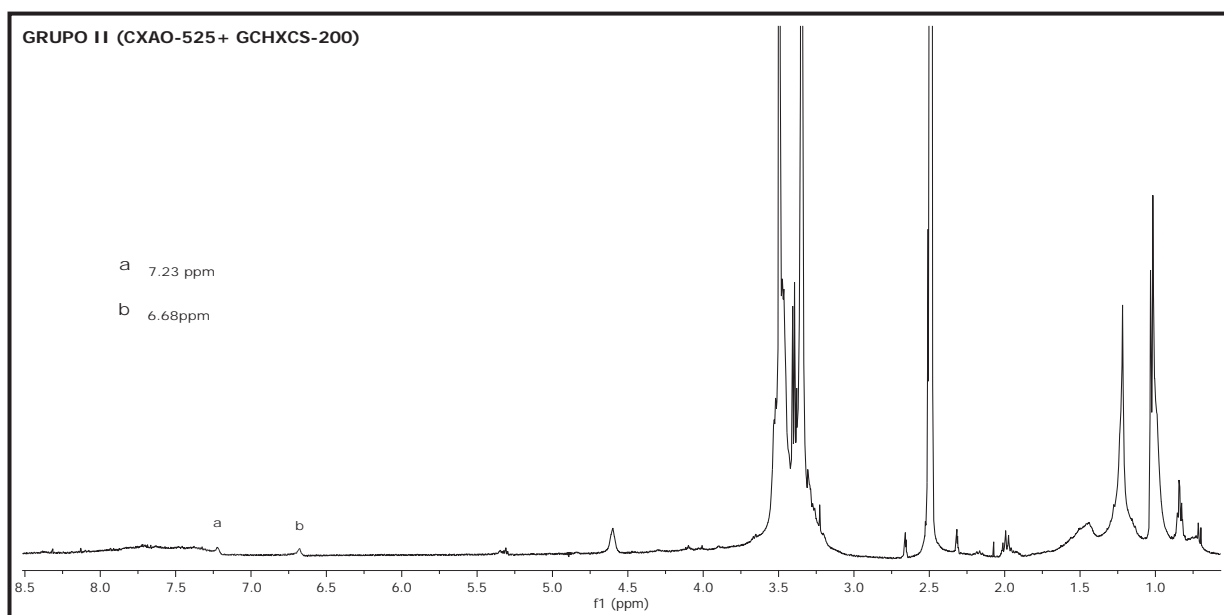


Fig. 47 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo de evaluación II.

**GRUPO III (VTAO-525 + dGCHXB-012)** La maximización de las señales demostró la presencia de *para*-cloroanilina en la mezcla de las dos soluciones evaluadas. Estas señales se ubicaron en 6.84 y 7.28ppm (fig. 48).

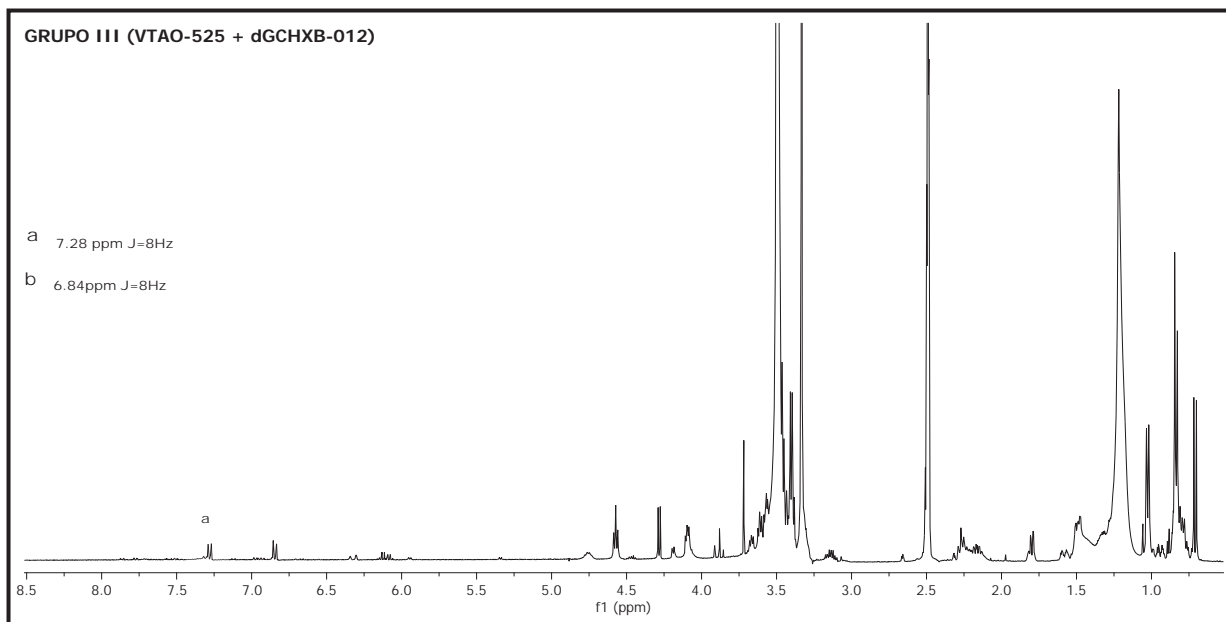


Fig. 48 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo de evaluación III.

**GRUPO IV (VTAO-525 + GCHXCS-200)** En el espectro de este grupo de evaluación se apreciaron señales de *para*-cloroanilina en 7.17 y 6.85ppm. El espectro demostró también aun la presencia de CHX (fig. 49).

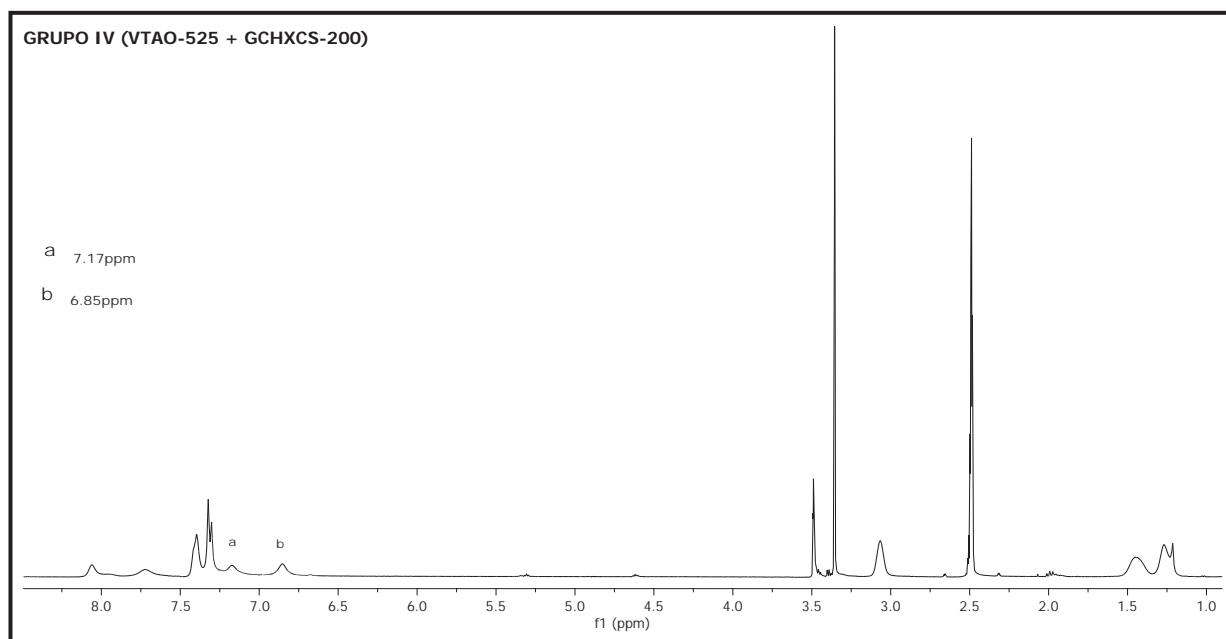


Fig. 49 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo de evaluación IV.

**GRUPO V (VTAO-200 + dGCHXB-012)** En este espectro la maximización de las señales permitió apreciar la presencia de *para*-cloroanilina en la mezcla de las dos soluciones evaluadas. Sus señales se localizaron en 6.84 y 7.28ppm (fig.50).

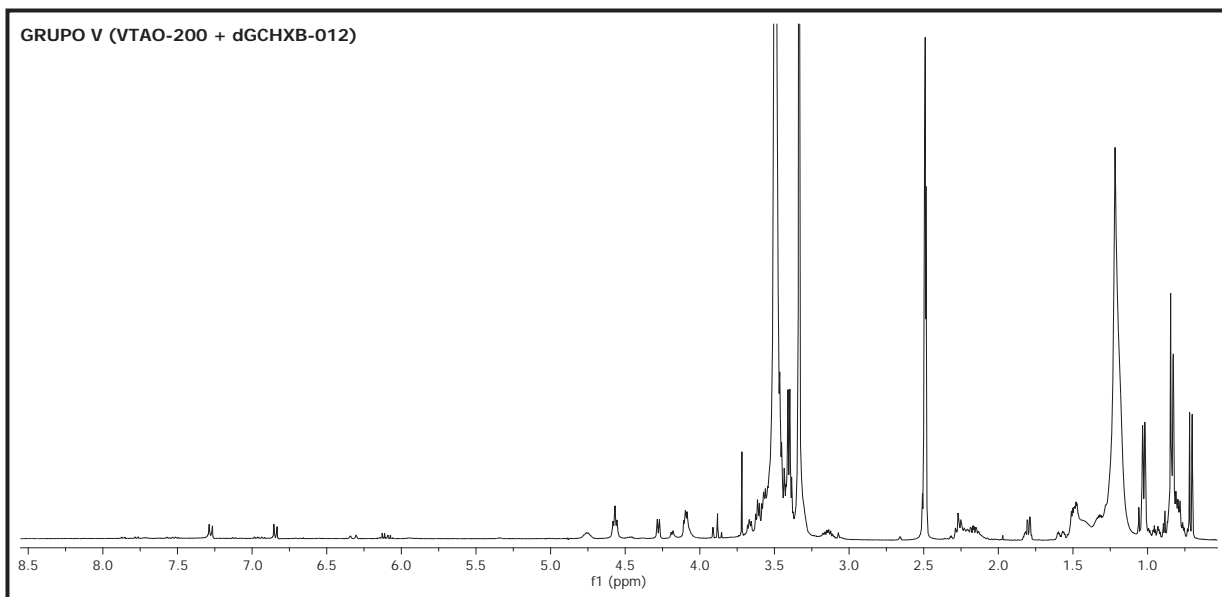


Fig.50 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo de evaluación V.

**GRUPO VI (VTAO-200 + GCHXCS-200)** El espectro de este grupo de evaluación permitió apreciar la presencia de *para*-cloroanilina en el precipitado formado por la mezcla entre las dos soluciones de evaluación, sus señales se apreciaron en 6.78 y 7.22ppm. El espectro demuestra también la presencia aun de CHX (fig.51).

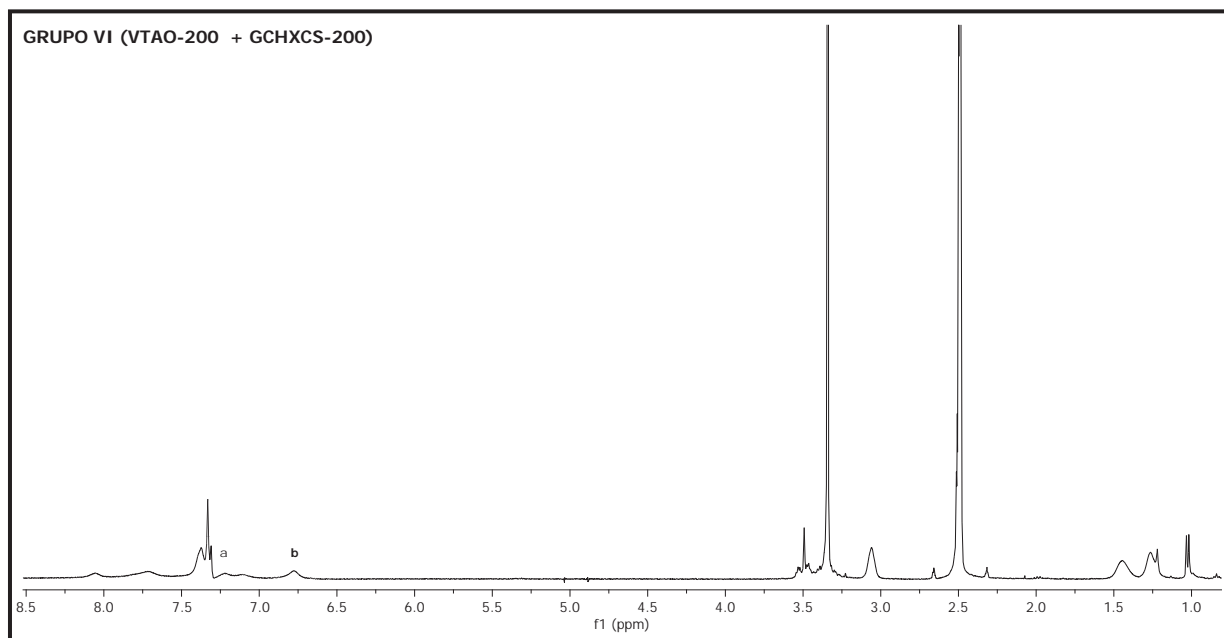


Fig. 51 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  correspondiente al grupo de evaluación VI.

## 11. DISCUSIÓN

Como un intento para mejorar la limpieza del sistema conducto radicular, se ha sugerido combinar las propiedades que nos ofrecen el NaOCl y la CHX.<sup>6</sup> Sin embargo algunos estudios sugieren tener precaución con este tipo de mezcla ya que da lugar a la formación del precipitado de *para*-cloroanilina,<sup>7</sup> compuesto tóxico que se ha relacionado con metahemoglobinemia.<sup>56-58</sup> El precipitado formado podría quedar dentro del conducto radicular afectando la calidad de la obturación y el resultado final del tratamiento.<sup>62,64</sup>

El objetivo del presente estudio fue evaluar las características fisicoquímicas que resultan al mezclar NaOCl y CHX de uso comercial y grado reactivo.

En este estudio a partir de la combinación de las presentaciones de NaOCl y CHX se obtuvieron seis grupos de evaluación. De estos, el comportamiento del grupo I fue igual al presentado por el grupo prueba 1 sin embargo difieren con Irala y col. quienes reportan formación de precipitado además del cambio de color de la mezcla.<sup>64</sup> En ambos grupos de evaluación el cambio de color de la mezcla y la aparente falta de formación de precipitado fue por la baja concentración de CHX contenida en **dGCHXB-012**.

En el grupo II la formación inmediata de precipitado rojo coincide con lo ocurrido en el grupo prueba 2 y con lo reportado por la literatura.<sup>7,8,9</sup> Al parecer se debe a que el **CXAO-525** está teniendo una acción oxidante similar a la de **NaOCl-6 HyCEL®** y a la de las presentaciones de NaOCl utilizadas en otros estudios.<sup>10,45,50</sup>

Los resultados de los grupos III y V fueron similares entre sí, sin embargo difieren con lo reportado en el grupo prueba 1 y con Irala y col. quienes reportan cambio de color y formación de precipitado de color ámbar oscuro.<sup>63</sup> Atribuimos estos resultados a posibles aditivos en las presentaciones de **VTAO-525** y **VTAO-200**.

En los grupos control IV y V el precipitado de color azul claro y consistencia friable difiere con lo reportado apreciado tanto en el grupo prueba 2, como en el grupo de evaluación II y no presenta

antecedentes en la literatura. La formación de este precipitado azul al parecer se puede estar debiendo a la presencia de aditivos en las presentaciones de **VTAO-525** y **VTAO-200**.

A pesar de que las combinaciones evaluadas presentaron algunas diferencias en cuanto a sus características físicas; al análisis por resonancia magnética nuclear (RMN de  $^1\text{H}$ ) en cinco de los seis grupos de evaluación se advirtió la presencia de *para*-cloroanilina. Estos resultados coinciden con lo observado en el grupo prueba 2 y con lo reportado por Krishnamurty y Sudhakaran.<sup>66</sup> En el grupo I no se apreciaron las señales de PCA, esto coincide con el grupo prueba 1 y con lo reportado por Thomas y col.<sup>10</sup> Al parecer la ausencia de señales de PCA es debido a que la acción oxidante del NaOCl utilizado fue importante de tal manera que posiblemente degradó a la molécula de CHX y a la *para*-cloroanilina dejando otros subproductos de degradación. En la mezcla entre NaClO y CHX la liberación de *para*-cloroanilina parece ocurrir debido a que el NaOCl fragmenta a la CHX en el carbono 2 del grupo guanida.

El presente estudio no tuvo el objetivo de evaluar la eficacia antimicrobiana de la combinación entre NaOCl y CHX de uso comercial, sin embargo los resultados obtenidos en el mismo permiten cuestionar si en realidad la mezcla de estas dos soluciones supondría un beneficio durante el tratamiento endodóntico. A fin de elucidar una respuesta a ello sería recomendable evaluar tanto el efecto antimicrobiano así como la biocompatibilidad de la mezcla entre NaOCl y CHX de uso comercial.

A pesar de que los irrigantes utilizados en endodoncia han sido individualmente bien caracterizados aun hay mucho que decir en cuanto al hecho de alternar diferentes irrigantes durante el tratamiento, lo ideal es que estos agentes químicos sean administrados de tal manera que desencadenen su potencial en lugar de actuar uno sobre otro.

## 11. ANEXOS

### ANEXO 1. Hoja de recolección de datos utilizada en la fase I.



EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA COMBINACIÓN ENTRE HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA DE USO COMERCIAL.



HOJA DE REGISTRO: Evaluación física de la interacción entre NaOCl y CHX						
A. ¿Existe formación de precipitado al mezclarse las diferentes marcas comerciales de NaOCl y CHX? B. ¿Qué consistencia presenta el precipitado? 0. Suelto 1. Muy friable 2. Friable 3. Firme 4. Muy firme 5. Extremadamente firme C. ¿Qué tono de color se presenta al mezclarse las diferentes marcas comerciales de NaOCl y CHX?						
	GI	GII	GIII	GIV	GV	GVI
	CXAO-525 + dGCHXB-012	CXAO-525 + GCHXCS-200	VTAO-525 + dGCHXB-012	VTAO-525 + GCHXCS-200	VTAO-200 + dGCHXB-012	VTAO-200 + GCHXCS-200
0 mins	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo en zona superior	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
15 mins	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo en zona superior	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
30 mins	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Anaranjado	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
45 mins	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Amarillo	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
1 hr	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Amarillo	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
1 hr 15 mins	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Amarillo	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
1 hr 30 mins	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Amarillo muy claro	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
1 hr 45 mins	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Ligeramente amarillo	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul
2 hrs	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Ligeramente amarillo	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Rojo	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul	A. SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Sin cambio de color	A. SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> B. 0 1 2 3 4 5 C. Azul

**ANEXO 2. Hoja de recolección de datos utilizada en la fase II.**



**EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA COMBINACIÓN ENTRE HIPOCLORITO DE SODIO Y CLORHEXIDINA DE USO COMERCIAL.**



		AGENTES OXIDANTES			FUENTES DE CHX		
		CXAO-525	VTAO-525	VTAO-200	dGCHXB-012	GCHXCS-200	
<b>p H</b>	Lectura 1	12.39	9.65	9.56	6.55	5.64	
	Lectura 2	12.43	9.71	9.35	6.19	5.75	
	Lectura 3	12.34	9.69	9.57	6.13	5.78	
	Media aritmética	12.38	9.68	9.49	6.29	5.72	
<b>GRUPOS DE EVALUACIÓN</b>							
		GI	GII	GIII	GIV	GV	GVI
		CXAO-525 + dGCHXB-012	CXAO-525 + GCHXCS-200	VTAO-525 + dGCHXB-012	VTAO-525 + GCHXCS-200	VTAO-200 + dGCHXB-012	VTAO-200 + GCHXCS-200
<b>p H</b>	Lectura 1	9.20	10.15	9.04	9.05	8.58	8.64
	Lectura 2	8.66	10.00	8.87	8.90	8.74	8.30
	Lectura 3	8.35	9.94	8.87	8.80	8.62	8.05
	Media aritmética	8.73	10.03	8.92	8.91	8.65	8.33

### **ANEXO 3. *Listado de soluciones e instrumental utilizado en el estudio.***

#### **Agentes oxidantes:**

NaOCl al 6% grado reactivo (**NaOCl-6 HyCEL<sup>®</sup>**)

NaOCl al 5.25% de uso clínico (**VTAO-525**)

NaOCl al 2% de uso clínico (**VTAO-200**)

NaOCl al 5.25% de uso domestico (**CXAO-525**)

#### **Fuentes de CHX:**

CHX libre (**CHX 99.5 Sigma-Aldrich<sup>®</sup>**)

CHX de uso clínico al 2% en su presentación de gluconato de clorhexidina (**GCHXCS-200**).

CHX de uso clínico al 0.12% en su presentación de digluconato de clorhexidina (**dGCHXB-012**)

#### **Soluciones utilizadas durante la fase III.**

Agua destilada.

Metanol.

Diclorometano.

Cloroformo.

Dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>).

#### **Listado de instrumental utilizado durante el estudio.**

Espectrómetro de RMN de <sup>1</sup>H marca Varian Eclipse 400.

Micropipeta de 100-1000 µl marca Spinreact.

Microtubos eppendorff de 1.5 mL marca CRM Globe.

Potenciómetro pH 211 de Hanna Instrumentos.

Centrifuga marca Qualitron,

Embudos de separación.

Vasos de precipitado.

Balanza de precisión.

Gradillas de acrílico.

Estufa de secado.

Rotavapor.

Probetas.

Viales

**ANEXO 4. Hoja de gastos.**

CONCEPTO	PRESENTACIÓN	PRECIO UNITARIO	CANTIDAD	TOTAL
Hipoclorito de sodio al 5.25% de uso domestico marca Cloralex.	Botella de 950ml.	\$7.30	1 botella	\$7.30
Hipoclorito de sodio al 5.25% para irrigar conductos radiculares marca Viarzoni-T de Viarden.	Botella de 1 litro	\$95.00	1 botella	\$95.00
Hipoclorito de sodio al 2% para irrigar conductos radiculares marca Viarzoni-T de Viarden.	Botella de	\$21.53	2 botellas	\$43.06
Hipoclorito de sodio al 6% solución acuosa (Hycel Reactivos Quimicos)	Botella de 1.2 litros No. lote 225586	\$45.00	1 botella	\$45.00
Clorhexidina al 0.12% en presentación de colutorio marca Bexident Encías de ISDIN.	Botella de 250ml.	\$166.00	1 botella	\$166.00
Clorhexidina al 2.0% marca Consepsis de Ultradent.	Jeringa de 1.2ml	\$23.59	15 jeringas	\$353.85
Clorhexidina al 2.0% marca Consepsis de Ultradent	Jeringa de 30ml.	\$346.74	2 jeringas	\$693.48
Clorhexidina al 99.5% (Sigma-Aldrich)	Presentación de 1gr No. lote 1312398V	\$2,444.00	1gr.	\$2,444.00
Microtubos con tapa transparente de 1.5ml.	Bolsa con 500 piezas.	\$375.00	1 bolsa	\$375.00
Gradilla de acrílico.		\$150.00	2 gradillas	\$300.00
Puntas para micropipeta de 50 a 1000µl.	Bolsa con 500 piezas.	\$200.00	1 bolsa	\$200.00

<b>GASTO TOTAL</b>	\$4,722.69
--------------------	------------

## 12. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Paredes V. J., Gradilla M. I., Mondaca J.M., Manriquez Q. M. I. Sistema Endovac en endodoncia por medio de presión apical negativa. ADM. 2009; 65(4): 30-34 .
2. Ingle J. Endodoncia. 5ª ed. Mexico DF: McGrawHill; 2004, pp. 505.
3. Spencer H.R., Ike V., Brennan P.A Review: the use of sodium hypochlorite in endodontics — potential complications and their management. British Dental Journal. 2007; 202 (9): 555-559.
4. Witton R., Henthorn K., Ethunandan M., Harmer S., Brennan P.A. Neurological complications following extrusion of sodium hypochlorite solution during root canal treatment. Int Endod J. 2005; 38: 843–848,.
5. Khademi A.A., Zahed Mohammadi Z., Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. Australian Endodontic Journal. 2006; 32 (3): 112–115.
6. Kuruvilla J.R., Kamath M.P., Antimicrobial Activity of 2.5% Sodium Hypochlorite and 0,2% Chlorhexidine Gluconate Separately and Combined, as Endodontic Irrigants. J Endod. 1998; 24 (7):472-476.
7. Basrani B.R., Manek S., Sodhi N.S., Fillery E., Manzur A. Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. J Endod. 2007; 33 (8): 966-969.
8. Marchesan M.A., Júnior B.P., Afonso M.M.F., Sousa-Neto M.D., Paschoalato C. Chemical analysis of the flocculate formed by the association of sodium hypochlorite and chlorhexidine. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;103:e103-e105).
9. Basrani B.R., Manek S., Fillery E. Using Diazotization to Characterize the Effect of Heat or Sodium Hypochlorite on 2.0% Chlorhexidine. J Endod. 2009;35:1296–1299)
10. Thomas J.E., Sem D.S. An In Vitro Spectroscopic Analysis to Determine Whether *Para*-Chloroaniline Is Produced from Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. J Endod. 2010;36:315–317)
11. Lasala A. Endodoncia. 4ª ed. México DF: Salvat; 1993, pp.377.
12. Haapasalo M., Endal U., Zandi H., Coil J.M.. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions Endod Topics. 2005; 10: 77–102.
13. Cohen S. Vías de la Pulpa. 9ª ed. España: Elsevier Mosby; 2008, pp. 325.
14. Vertucci F.J. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. Endod Topics. 2005; 10: 3-29.
15. Paqué F, Laib A, Gautschi H, et al. Hard-tissue debris accumulation analysis by high-resolution computed tomography scans. J Endod 2009;35:1044-7.
16. Soares. Endodoncia Técnica y Fundamentos. 1ª ed. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2002, pp. 127.
17. Walton R.E., Torabinejad M. Endodoncia Principios y práctica. 2ª ed. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 1997, pp.227-229.
18. Cathro P. The Importance of irrigation in Endodontics. Endodontic solutions online 2004 (Citado 2010 Dic. 7); 10 (1): 1-4. Disponible en:  
<http://www.endoexperience.com/filecabinet/Clinical%20Endodontics/Irrigation/Newsletter.pdf>
19. Zehnder M. Root Canal Irrigants. J Endod. 2006; 32: 389 -398.
20. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. International Dental Journal. 2008; 58: 329-341.
21. Estrela C. Ciencia endodóntica. 1ª ed. Sao Paulo, Brasil: Artes Medicas Latinoamérica; 2005. pag. 416-417
22. Spencer H.R., Ike V., Brennan P.A. Review: the use of sodium hypochlorite in endodontics - potential complications and their management. British Dental Journal. 2007; 202(9): 555-559.

23. Sirtes G., Waltimo T., Schaetzle M., Zehnder M. The Effects of Temperature on Sodium Hypochlorite Short-Term Stability, Pulp Dissolution Capacity, and Antimicrobial Efficacy. *J Endod.* 2005; 31(9), 669-671.
24. Christensen C.E., McNeal S.F., Eleazer P. Effect of Lowering the pH of Sodium Hypochlorite on Dissolving Tissue in Vitro. *J Endod.* 2008; 34:449 – 452.
25. Piskin B., Türkün M., Stability of Various Sodium Hypochlorite Solutions. *J Endod.* 1995; 21 (5): 253-255.
26. Estrela C., Estrela C.R.A., Barbin E.L., Spanó J.C.E., Marchesan M.A., Pécora J.D. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002; 13(2): 113-117
27. Estrela C. *Ciencia endodóntica.* 1ª ed. Sao Paulo, Brasil: Artes Médicas Latinoamérica; 2005. pag. 425.
28. Leonardo M.R. *Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares: principios técnicos y biológicos.* 4ª ed. Vol. 1. Sao Paulo, Brasil. Artes Médicas Latinoamérica; 2005. pag 439.
29. Witton R., Henthorn K., Ethunandan M., Harmer S., Brennan P. A. Neurological complications following extrusion of sodium hypochlorite solution during root canal treatment. *Int Endod J.* 2005; 38: 843–848,
30. Kaufman A.Y., Senia K. Hypersensitivity to sodium hypochlorite. *J Endod* 1989;15: 224-226.
31. Vianna M.E., Gomes B.P.F.A., Berber V.B., Zaia A.A., Randi Ferraz C.C., De Souza-Filho F.J. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 97: 79-84.
32. Komorowski R., Grad H., Yu Wu X., Friedman S. Antimicrobial Substantivity of Chlorhexidine- Treated Bovine Root Dentin. *J. Endod* 2000; 26: 315-17.
33. Basrani B., Santos J.M., Tjäderhane L., Grad H., Gorduysus O., Huang J., Lawrence H.P., Friedman S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;94:240-5.
34. Mohammadi Z., Shahriari S. Residual antibacterial activity of chlorhexidine and MTAD in human root dentin *in vitro.* *J. Oral Sci.* 2008; 50: 63-67.
35. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surg* 1982;53:518-22.
36. Malkhassian G., Manzur A.J., Legner M., Fillery E.D., Manek S., Basrani B.R., Friedman S. Antibacterial Efficacy of MTAD final rinse and two percent chlorhexidine gel medication in teeth with apical periodontitis: A randomized double-blinded clinical trial. *J Endod* 2009;35:1483–1490.
37. Mohammadi Z., Abbott P. V The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009; 42: 288–302.
38. Sundqvist G., Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Topics.* 2003; 6: 3–28.
39. Bonetti J.H., Sosa S.R. Uso de la clorhexidina en endodoncia. Revisión de la literatura. *Rev Asoc Odontol Argent.* 2005; 93 (3): 245-248.
40. White R.R., Hays G.L., Janer L.R. Residual Antimicrobial Activity After Canal Irrigation with Chlorhexidine. *J Endod* 1997; 23: 229-31.
41. Leonardo M. R., Tanomaru F. M., Silva L. A. B., Nelson F. P., Bonifacio K. C., Ito I. Y. In Vivo Antimicrobial Activity of 2% Chlorhexidine Used as a Root Canal Irrigating Solution *J. Endod.* 1999; 25: 167-71.
42. Rosenthal S., Spangberg L., Safavi K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. (*Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98:488-92)

43. Souza-Filho F.J., Soares A.J., Vianna M.E., Zaia A.A., Ferraz C.C.R., Gomes B.P.F.A. Antimicrobial Effect and pH of Chlorhexidine Gel and Calcium Hydroxide Alone and Associated with other Materials. *Braz Dent J.* 2008; 19(1): 28-33.
44. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Root canal irrigants. *J Conserv Dent [serial online]* 2010 [cited 2011 Nov 24];13:256-64.
45. Segura J. J., Jiménez-Rubio A., Guerrero J. M. and Calvo J. R. Comparative effects of two endodontic irrigants, chlorhexidine digluconate and sodium hypochlorite, on macrophage adhesion to plastic surfaces. *J. Endod.* 1999; 25(4): 243-6.
46. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *International Endodontic Journal.* 2000; 33, 126–31.
47. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *International Endodontic Journal.* 2001; 34: 184–8.
48. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JAP. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *International Endodontic Journal* 2004; 37: 38-41.
49. Clarkson R.M., Moule A.J., Podlich H., Kellaway R., Macfarlane R., Lewis D., Rowell J. Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solutions of varying compositions and concentrations. *Australian Dental Journal* 2006; 51(3): 245-51.
50. Pappen FG, Bolzani LMV, Rodríguez SA, Amaral MR, Vinholes JA, Tanomaru Filho M. Efecto antimicrobiano de soluciones irrigadoras utilizadas en endodoncia. *Dentsply.* Disponible en: [http://www.dentsply.com.br/isogesac/imgcatalogo/solucoes\\_irrigadorasendodontia.pdf](http://www.dentsply.com.br/isogesac/imgcatalogo/solucoes_irrigadorasendodontia.pdf)
51. Joshi N., Kundabala M, Shenoy S., Kamath S., D'souza V., Rukmini. Evaluation of antimicrobial efficacy of 0.5% IKI, 3% NaOCI and 0.2% CHX when used alone and in combination as intracanal irrigants against *Enterococcus Faecalis*. – An in vitro study. *Endodontology.* 2009; 21 (2): 6-16.
52. Vijaykumar S, GunaShekhar M, Himagiri S. In vitro effectiveness of different endodontic irrigants on the reduction of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Clin Exp Dent.* 2010; 2(4): 169-72.
53. Siqueira J.F., Rocas I., Santos S. R. L. D, Lima K. C., Magalha F. A. C., De Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod.* 2002; 28 (3): 181-184.
54. Vivacqua-Gomes N, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. *Int Endod J.* 2002; 35: 791-795.
55. Zehnder M. Root Canal Irrigants. *J Endod.* 2006; 32: 389 -398.
56. Residuos de plaguicidas en los alimentos – 1981 Informe de la reunión conjunta del cuadro de expertos de la FAO en residuos de plaguicidas en los alimentos y en el medio ambiente y del grupo de expertos de la OMS en residuos de plaguicidas. Pag 20
57. Robert R. Toxicología Industrial E Intoxicaciones Profesionales De Lauwerys. 1ª ed. Barcelona: Masson; 1994. pag. 564.
58. Van der Vorst M. M. J., Tamminga P., Wijburg F. A., Schutgens R. B. H. Severe methaemoglobinaemia due to para-chloraniline intoxication in premature neonates. *European Journal of Pediatrics.* 1990; 150 (1):73.

59. Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. Chhabra RS, Huff JE, Haseman JK, Elwell MR, Peters AC. *Food Chem Toxicol.* 1991 Feb;29(2):119-24 National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC 27709.
60. Natl Toxicol Program Tech Rep Ser. 1989 Jul;351:1-256. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of para-Chloroaniline Hydrochloride (CAS No. 20265-96-7) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies).
61. Oulmi Y, Braunbeck T. Toxicity of 4-chloroaniline in early life-stages of zebrafish (*Brachydanio rerio*): I. cytopathology of liver and kidney after microinjection. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1996 Mar;30(3):390-402.
62. Bui T.B., Baumgartner J.C., Mitchell J.C. Evaluation of the Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate and its Effect on Root Dentin. *J Endod.* 2008; 34:181–185.
63. Irala LED, Melo TAF, Soares RG, Louzada F, Juchem J. Avaliação da formação de pigmento escuro quando da mistura da solução de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, com digluconato de clorexidina a 0,2%. *Rev Sul-Bras Odontol.* 2009; 6(3):286-90.
64. Akisue E., Viviane S. Tomita V.S., Gavini G., Figueiredo J.A.P. Effect of the Combination of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine on Dentinal Permeability and Scanning Electron Microscopy Precipitate Observation. *J Endod.* 2010; 36: 847–850.
65. Basrani B.R., Manek S., Mathers D., Fillery E., Sodhi R.N.S. Determination of 4-Chloroaniline and Its Derivatives Formed in the Interaction of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine by Using Gas Chromatography. *J Endod.* 2010; 36: 312–314.
66. Krishnamurthy S., Sudhakaran S. Evaluation and Prevention of the Precipitate Formed on Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. *J Endod.* 2010; 36 (7): 1154-1157.
67. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scandinavian Journal of Dental Research.* 1981; 89: 321–8.
68. Baumgartner J, Mader C. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987;13:147–57.
69. Götze GR, Cunha CBCS, Primo LSSG, Maia LC. Effect of the sodium hypochlorite and citric acid association on smear layer removal of primary molars. *Braz Oral Res* 2005;19(4):261-6.
70. Arias-Moliz M.T., Ferrer C.M., González M.P., Valderrama M.J. Baca P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrimide and chlorhexidine. *J. Endod.* 2010; 36 (1): 87-90.
71. Ballal N.V., Moorkoth S., Mala Kundabala, Bhat K. S. Hussen S.S. Pathak S. Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J. Endod.* 2011; 37(10):1402-1405.

