



**EVALUACIÓN IN VITRO DEL CAMBIO DE MICRODUREZA
SUPERFICIAL DENTINARIA ANTE DOS PROTOCOLOS DE
IRRIGACIÓN ENDODÓNTICA**

Trabajo de investigación.
Requisito para optar
Al Título de
Cirujano Dentista.

Alumnos:

Aitziber Irigoyen Arias.
Sofía Santis Lorza.
Iván Soto Orellana.

Docente guía:

Prof. Dr. Carlos Marchant Pizarro.
Cátedra de endodoncia.

Valparaíso – Chile

2017



**EVALUACIÓN IN VITRO DEL CAMBIO DE MICRODUREZA
SUPERFICIAL DENTINARIA ANTE DOS PROTOCOLOS DE
IRRIGACIÓN ENDODÓNTICA**

Trabajo de investigación.
Requisito para optar
Al Título de
Cirujano Dentista.

Alumnos:

Aitziber Irigoyen Arias.
Sofía Santis Lorza.
Iván Soto Orellana.

Docente guía:

Prof. Dr. Carlos Marchant Pizarro.
Cátedra de endodoncia.

Valparaíso – Chile

2017

Dedicatorias

Aitziber Irigoyen Arias.

Dedico esta tesis en primer lugar a mi familia, que pese a todo obstáculo me apoyo en cada momento de mi carrera, creyendo en mí, en mis capacidades de salir adelante y terminar esta gran etapa que fue la universidad.

Agradezco a todas las personas con las que compartí algún momento de estos 7 años, que tuvieron la paciencia de escucharme, dar apoyo y hacer que no me rindiera hasta dar lo máximo de mí. Sobre todo a mis amigos, que a veces sin entenderme, estaban a mi lado para seguir avanzando, compartir risas y buenos momentos que te sacaban de la rutina.

Gracias a los docentes, tanto los buenos como los más difíciles, que me enseñaron las diferentes herramientas que ocupare en mi vida profesional, no solo las técnicas, sino también el cómo superar adversidades y valorar las pequeñas acciones que uno hacía. Sobre todo agradecer a todos los funcionarios, que hicieron que el paso por la carrera fuera más amigable, dando su apoyo cuando se necesitaba y prestando oído a cada situación que se presentaba.

Por último, a mis compañeros de tesis, la Sofi y el Soto, que tuvieron una gran paciencia conmigo y mi desorden. Estuvimos juntos en todo este proceso, compartiendo tardes de comida, tesis, carretes y juntas de trabajo productivas como no productivas. Logramos terminar este trabajo, sé que les irá muy bien como profesionales y les deseo lo mejor.

Iván Soto Orellana

Agradecer en primera instancia a mi familia por el apoyo recibido a lo largo de mi vida y mi formación como hijo, persona y profesional. A mi ama por ser un ejemplo de lo que una persona debe ser en la vida. A mi apa por el apoyo y ayuda incondicional en cada aspecto que he podido necesitar. A mi hermano Leo por su constante preocupación y persistencia en los objetivos que quería lograr y a la Mini por su compañía incondicional.

En segundo lugar a mi grupo de tesis, el cual me acogieron y logramos sortear esta barrera de forma unida, sin contratiempos ni problemas y con un gran ánimo de trabajar en equipo. Sin duda se les agradece a ambas estar presentes en el final de la carrera.

A mi pareja por su compañía y apoyo, y a mis amigos por la constante preocupación.

Sofía Santis Lorza

A mis queridos padres por estar junto a mí durante todo este proceso, por ser un apoyo y contención siempre, y por estar ahí cada vez que fue necesario volver a levantarse. Sin ellos este largo camino no hubiese sido posible.

A mi familia por participar siempre de una forma u otra durante mi carrera, por alentarme siempre a ser una buena profesional y por su incondicional confianza. Especialmente a mi tía Nancy que siempre se preocupó por mi bienestar y que siempre tuvo las palabras adecuadas para dar ánimos cuando fue necesario. Y mis dos abuelos, Tata Mario que desde muy pequeña comenzó a preocuparse por mí, porque siempre supo que lograría llegar hasta aquí y a mi Tata Jaime quién fue el que en primera instancia me sugirió esta hermosa carrera, cuando yo aún ni siquiera la consideraba.

A todos mis docentes que aportaron de alguna forma u otra en mi formación profesional, y a todos los funcionarios que siempre aportaron con palabras y gestos agradables para mejorar el final de las largas y a veces frustrantes jornadas de clínica.

Y por último a los amigos, una carrera tan larga y difícil como esta no se puede disfrutar sin un buen grupo de amigos.

Agradecimientos

Queremos agradecer a todas las personas que de una forma u otra contribuyeron con la realización de esta investigación. Comenzando por agradecer a nuestro docente guía el Dr. Carlos Marchant quien jamás nos abandonó en todo este proceso y estuvo disponible para contribuir en todo momento.

A Linda Mella y Juan González ambos docentes e ingenieros en metalurgia de la Universidad Santa María que nos permitieron hacer uso de su laboratorio y dedicaron su tiempo de manera desinteresada en realizar las mediciones necesarias para nuestra tesis.

Al Docente Sebastián Espinoza, quien nos ayudó y guio de manera importante en el la etapa estadística de nuestra investigación, sin él no hubiésemos logrado realizarla solos.

Y finalmente a nuestras familias y amigos que nos dieron el apoyo, la motivación y la contención para llevar a cabo este trabajo.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
a. Dentina.....	3
i. Composición química de la Dentina	3
ii. Dentina Primaria.....	3
iii. Dentina Secundaria.....	3
iv. Dentina Terciaria	4
v. Predentina.....	4
vi. Túbulos dentinarios	4
vii. Dentina Peritubular.....	5
viii. Dentina Intertubular.....	5
ix. Dureza.....	6
x. Microdureza superficial de la dentina (MSD)	6
b. Irrigación endodóntica	6
c. Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	7
d. Hipoclorito de sodio.....	8
i. Propiedades	8
ii. Mecanismo de acción.....	8
iii. Efectos del NaOCl sobre la dentina.....	10
iv. Interacciones del NaOCl.....	11
e. Efecto de la secuencia de irrigantes en la dentina.....	11
f. Ensayo de microdureza de Vickers	12
g. Preparación dentaria para test de microdureza de Vickers.....	13
III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	14
a. Objetivo general	14
b. Objetivos específicos	14
c. Hipótesis	14
IV. VARIABLES	15
V. MATERIALES Y MÉTODO.....	16
a. Diseño del estudio.....	16
b. Muestra/Universo	16
i. Universo	16

ii.	Determinación del tamaño muestral	16
iii.	Muestra	17
c.	Financiamiento	18
d.	Metodología	18
	ETAPA 1: Recolección dentaria.....	18
	ETAPA 2: Preparación dentaria.....	19
	ETAPA 3: Medición de control de microdureza de Vickers	19
	ETAPA 4: Irrigación	22
	ETAPA 5: Prueba de microdureza de Vickers post irrigación	23
	ETAPA 6: Recolección de datos.....	23
VI.	RESULTADOS	24
VII.	DISCUSIÓN	27
VIII.	CONCLUSIÓN.....	31
a.	Conclusión general.....	31
b.	Conclusiones específicas	31
IX.	LIMITACIONES y SUGERENCIAS	32
	Conflicto de intereses	32
X.	RESUMEN	33
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	34
XII.	ANEXO.....	38
a.	Con respecto a la selección de los donantes de muestras	38
b.	Consentimiento informado.....	39
c.	Uso de datos personales del paciente y el anonimato de su donación.	42
d.	Difusión de los datos y a los beneficios directos o indirectos para el paciente	42
e.	Carta aprobación Comité de ética Universidad de Valparaíso	43
f.	Carta de respaldo institucional para investigación	44
g.	Carta de aceptación comité de ética Facultad de odontología, Universidad de Valparaíso.	45
h.	Protocolo de bioseguridad aprobado Facultad de Odontología 2017	46

I. INTRODUCCIÓN

La obtención de un tratamiento endodóntico exitoso implica lograr una limpieza lo más perfecta posible que asegure la eliminación de bacterias patógenas del sistema de conductos radiculares (SCR), para esto, se cuenta de dos partes de una misma técnica: la instrumentación mecánica y la irrigación; siendo esta última la clave del éxito del tratamiento endodóntico, ya que con ella se logra la limpieza de todas las zonas que no son alcanzadas por la fase mecánica, permitiendo la disolución de tejido y la eliminación de los microorganismos presentes. Lamentablemente, no existe un irrigante que cumpla con todos los requisitos para ser ideal, y por ello son utilizadas combinaciones de estos con el fin de lograr éxito ⁽¹⁾. Para conseguir todo lo anterior se ha recomendado fuertemente la irrigación con la secuencia Hipoclorito de Sodio (NaOCl)-Suero- Ácido etilendiaminotetracético (EDTA)-Suero del canal radicular ^{(1) (2)}, debido a que se combina la acción disolvente de tejido del NaOCl con el efecto quelante del EDTA. Ahora bien Haapasalo en sus estudios recomienda la secuencia NaOCl-Suero-EDTA-Suero-NaOCl ya que después de la eliminación de la capa de barro dentinario que logra el EDTA, el NaOCl podría alcanzar mejor las áreas previamente cubiertas por la capa de barro dentinario y así lograr la desinfección total de los conductos ^{(1) (2)}. Como efecto secundario a este beneficio se asocia una mayor erosión de la dentina cuando se usa el NaOCl después de la aplicación final de EDTA lo que podría asociarse a la disminución de la Microdureza Superficial Dentinaria (MSD) ⁽³⁾.

La combinación de EDTA y NaOCl genera erosión de la dentina, ya que cuando se aplica NaOCl inmediatamente después de EDTA, existe una pérdida de calcio y fósforo en la estructura dentinaria. Esto ocurre porque al usar EDTA quedan expuestas fibras de colágeno, y al ser aplicado inmediatamente NaOCl estas son disueltas, modificando estructuralmente la dentina ^{(1) (2)}. Se ha estudiado ampliamente la disminución de la MSD que producen distintos irrigantes y se ha concluido que todos los irrigantes alteran de una forma u otra la MSD ^{(4) (5)}, pero no existen estudios que evalúen este factor tanto en la irrigación con la secuencia NaOCl-Suero-EDTA-Suero como en la irrigación NaOCl-Suero-EDTA-Suero-NaOCl-Suero, por lo que se desconoce si la disminución de la MSD de estas sea significativamente distinta, y por eso no puede decidirse de manera consciente si es preferible usar una secuencia sobre la otra.

Esta situación deja en la encrucijada de tener que decidir entre lograr una desinfección total y efectiva de los conductos aplicando procedimientos más erosivos, o bien lograr una buena desinfección aunque no perfecta, manteniendo así la integridad del diente.

Debido a que el objetivo del tratamiento endodóntico es crear un sustrato biológico viable de ser rehabilitado y mantenido, y que las problemáticas descritas en el párrafo precedente impiden que se cumpla eventualmente este rol, entonces cabe preguntarse si **¿El cambio estructural de la dentina producido durante el protocolo de irrigación de NaOCl posterior a la aplicación de EDTA, es un factor que disminuirá la MSD de forma significativa, en comparación al protocolo NaOCl-Suero-EDTA-Suero?**

En la actualidad, no existen estudios que midan la disminución de la MSD, sometida a la secuencia de irrigantes antes descrita, por lo que este estudio contribuiría a nuevos conocimientos para mejorar los protocolos de irrigación endodóntica.

II. MARCO TEÓRICO

a. Dentina

La dentina constituye el tejido mineralizado de la mayor parte de la estructura dentaria. Es un tejido conjuntivo avascular mineralizado, atravesado en su totalidad por túbulos dentinarios. Está revestido por el esmalte en su porción coronal y por el cemento en su porción radicular. Internamente, la dentina está limitada por la cámara pulpar, que contiene la pulpa dental ⁽⁶⁾.

i. Composición química de la Dentina

Es aproximadamente, de: un 70% de materia inorgánica, un 20% de materia orgánica y un 10% de agua en peso. La materia inorgánica consiste principalmente de, cristales de hidroxiapatita y en menor proporción fosfatos amorfos, carbonatos, etc. La composición química de la hidroxiapatita no es como la del esmalte, ya que contiene una proporción mayor de carbonato y magnesio. Se trata de cristales más pequeños (diez veces menores) y guardan similitud con los del hueso y cemento; están distribuidos dentro de las fibras colágenas de la matriz orgánica, así como fuera y entre éstas. De la matriz orgánica, alrededor del 91 % es colágeno tipo I, el colágeno es una proteína cuya unidad básica estructural es el tropocolágeno, este se ensambla formando fibrillas y éstas a su vez forman fibras. El colágeno no es más que una red de fibras. El resto de las proteínas presentes son no colagenosas, como la fosforina dentinaria (DPP) que es la más abundante después del colágeno, proteoglucanos y glucosaminoglucanos, estos dos últimos le otorgan propiedades elásticas y flexibilidad que evitan la fractura del esmalte ^{(6) (7) (8)}.

La dentina debe ser considerada como un tejido vital porque tiene capacidad para reaccionar ante estímulos fisiológicos y patológicos y reacciona formando nueva dentina o modificando la dentina existente. De acuerdo con esta idea, nos interesa reconocer tres tipos de dentina:

ii. Dentina Primaria

Se forma primero y es la más abundante, ya que forma el cuerpo principal del diente, y se deposita durante la formación del diente hasta que el diente entra en oclusión. La capa externa de la dentina primaria, llamada dentina del manto, difiere del resto de la dentina primaria, esta capa es la primera capa de dentina formada por los odontoblastos recientemente diferenciados ^{(6) (9)}.

iii. Dentina Secundaria

Llamada también Dentina Fisiológica. Se forma después que se ha completado la formación de la raíz del diente y continúa durante toda la vida del diente. Tiene una estructura tubular más irregular y puede seguir un patrón diferente del de la Dentina Primaria y el ritmo de síntesis y cantidad varía en cada individuo ^{(6) (10)}. La Dentina Secundaria, mientras se deposita alrededor de la periferia del espacio pulpar, no se deposita regularmente, especialmente en los molares, donde hay una mayor deposición de Dentina Secundaria en el techo y piso de la cámara pulpar, lo que origina una reducción asimétrica del tamaño y la forma de la cámara pulpar y los cuernos pulpares. Estos cambios de la cámara pulpar, llamados clínicamente recesión de la pulpa, pueden detectarse en las radiografías, y son

importantes para determinar la forma de la preparación de la cavidad en ciertos procedimientos restauradores ^{(6) (10)}.

iv. Dentina Terciaria

Se produce como reacción a los estímulos como la caries y las diferentes maniobras o procedimientos restauradores. A diferencia de las Dentina Primaria y Secundaria, que se forman a lo largo de todo el borde pulpodentinario, la Dentina Terciaria es producida sólo por los Odontoblastos directamente afectados por el estímulo. La calidad y cantidad de la Dentina Terciaria producida, se relaciona con la intensidad y duración del estímulo ^{(6) (10)}.

La formación de Dentina Terciaria es el principal mecanismo de defensa y reparación del órgano dentino-pulpar frente a la irritación, la exposición al medio bucal o la pérdida de la dentina ^{(6) (9) (10)}.

La Dentina Terciaria puede ser reactiva o reparadora. La Dentina Terciaria Reactiva es secretada por Odontoblastos preexistentes en reacción a estímulos de intensidad leve a moderada. Generalmente, existe continuidad entre los túbulos de la Dentina Terciaria Reactiva y la Dentina Secundaria. La Dentina Terciaria Reparadora es producto de la actividad de una nueva generación de células odontoblásticas, por estímulos de intensidad de moderada a avanzada, y puede no haber comunicación tubular entre la Dentina Secundaria y la Dentina Terciaria Reparadora ⁽¹⁰⁾.

v. Predentina

Es la matriz orgánica no mineralizada de la dentina, mide de 25 a 30 μm de espesor, situada entre la capa de Odontoblastos y la dentina alrededor de la pulpa. Es similar al osteoide del hueso y fácil de identificar en cortes teñidos con hematoxilina-eosina, dado que se tiñe menos intensamente que la dentina. Sus componentes macromoleculares son colágenos de los tipo I y II. Los elementos sin colágeno consisten en proteoglicanos. La presencia de Predentina constituye una fuente de producción continua de dentina ^{(6) (10)}.

La Estructura histológica de la dentina está constituida por: Túbulo dentinario, Dentina Peritubular, Dentina Intertubular, Odontoblasto y Prolongación Odontoblástica.

vi. Túbulos dentinarios

O conductillos dentinarios son espacios tubulares ubicados dentro de la dentina, llenos de líquidos tisulares y ocupados en parte de toda su longitud por las prolongaciones de los odontoblastos. Se extienden a través de todo el espesor de la dentina desde la unión amelodentinaria hasta la pulpa, y su configuración indica el curso tomado por el odontoblasto durante la dentinogénesis. Siguen un trayecto en S desde la superficie externa de la dentina hasta su límite con la pulpa. Los túbulos dentinarios poseen sus extremos estrechos y miden, aproximadamente, 2,5 μm de diámetro cerca de la pulpa, 1,2 μm en la porción media de la dentina y 900 nm cerca de la unión amelodentinaria. En la dentina, a nivel de la corona hay, aproximadamente, 10.000 túbulos por mm^2 cerca del esmalte y 50.000 por mm^2 cerca de la pulpa. Los túbulos dentinarios también presentan extensiones laterales

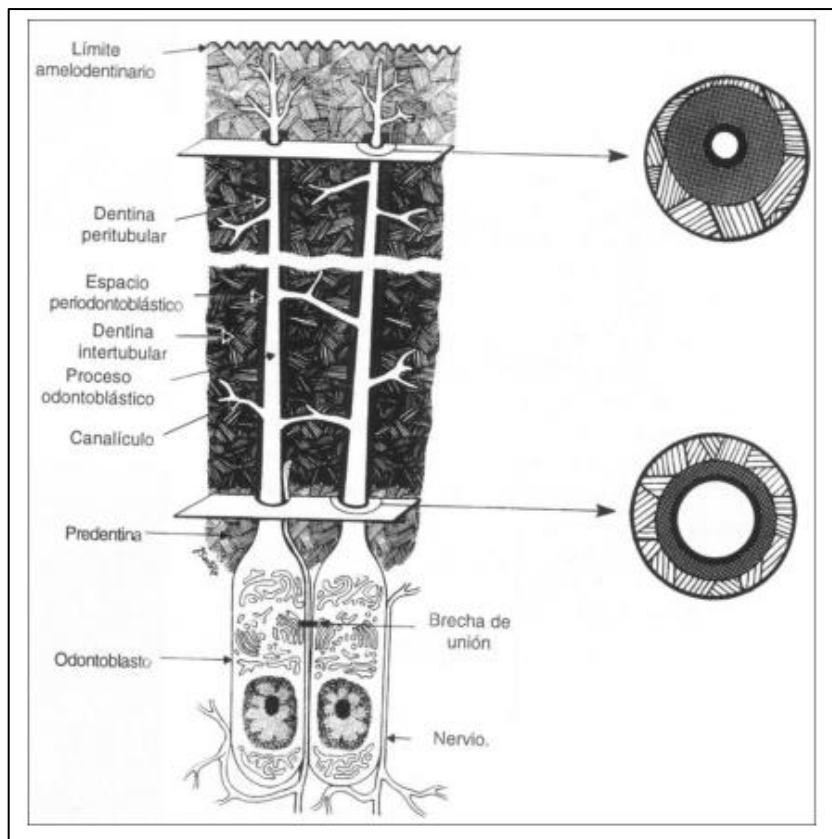
que se ramifican a partir del túbulo principal y pueden alojar extensiones citoplasmáticas laterales del proceso odontoblásticos. Los túbulos dentinarios hacen PERMEABLE a la dentina y permite una vía de entrada para microorganismos, sustancias, toxinas, etc ⁽⁶⁾ ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾.

vii. Dentina Peritubular

Es la dentina que recubre y conforma la pared del túbulo dentinario, y constituye una anillo hipermineralizado que posee una matriz orgánica con muy pocas fibras colágenas. Su formación es un proceso continuo que puede ser acelerado por estímulos nocivos y originar una reducción progresiva del tamaño de la luz del túbulo. Este proceso produce una obliteración parcial o completa de los túbulos dentinarios. Cuando los túbulos se llenan con depósitos minerales, la dentina se transforma en esclerótica. Esta esclerosis ocasiona la disminución de la permeabilidad de la dentina, limitando la difusión de las sustancias nocivas a través de la dentina y a la vez ayuda a proteger a la pulpa de la irritación ⁽¹⁰⁾.

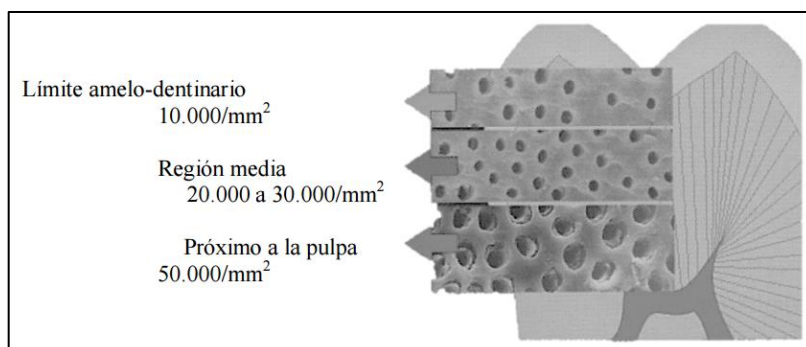
viii. Dentina Intertubular

Es la dentina que se localiza entre las dentina peritubular y constituye el mayor componente de la dentina. Representa el principal producto secretorio de los Odontoblastos y consta principalmente, de una red de fibras colágenas que miden entre 50 y 200 nm de diámetro, en las cuales se depositan cristales de apatita, y este componente mineral es menor que en la Dentina Peritubular. Las fibras colágenas se alinean en ángulos rectos con respecto a los túbulos dentinaria ⁽¹⁰⁾.



Esquema 1: Dibujo esquemático: Célula odontoblástica, proceso y sistema tubular a través del espesor dentario. La deposición continua de dentina peritubular y de

minerales, acelerada mediante un estímulo crónico y nocivo, gradualmente obstruye a los túbulos periféricamente. Observe la ramificación terminal y las interconexiones entre los procesos odontoblásticos y entre las paredes celulares (Modificado de Avery Oral Development and Histology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1987) ⁽¹¹⁾.



Esquema 2: "Distribución variable de los túbulos dentinarios en función de la profundidad de la preparación cavitaria. En las regiones más profundas de la dentina, no sólo el número de túbulos es mayor, sino también la densidad tubular. (Garberolio & Brannstrom, 1976) ⁽¹²⁾.

ix. Dureza

La dureza se define como la resistencia de un material a una penetración permanente por un objeto más duro que el testeado. Se emplea para determinar la dureza de un material, la penetración en él de un diamante de forma piramidal en la superficie lisa, y las diagonales impresionadas son medidas con un microscopio que posee un micrómetro en el ocular. El rango de aplicación y duración de la fuerza son controlados automáticamente, y la carga puede ser variada ⁽¹³⁾.

x. Microdureza superficial de la dentina (MSD)

La MSD se ha reportado en un rango entre 46 a 56 VHN ⁽¹⁴⁾. La MSD incrementa desde el lumen de la raíz del canal radicular hacia la unión del cemento dentina. Los valores de MSD en la porción apical son menores que a nivel medio y cervical. Sin embargo en contraste a esto, la microdureza de las paredes del canal dentario es casi constante desde la entrada del conducto a apical ⁽¹⁵⁾.

b. Irrigación endodóntica

La irrigación endodóntica es considerado uno de los pasos más importantes de la endodoncia en cuanto a la erradicación de los microorganismos patógenos de la raíz. Mediante la irrigación la eliminación de restos de dentina necrótica y los microorganismos son eliminados con mayor facilidad, para que este proceso se lleve a cabo idealmente, una solución irrigante debiese cumplir con las siguientes características:

- Bajo costo
- Acción de lavado del conducto
- Reducción de la fricción durante la instrumentación
- Mejorar la eficiencia del corte de los instrumentos mecánicos
- Controlar la temperatura
- Permitir la disolución de materia orgánica e inorgánica
- Tener una buena penetración en el sistema radicular
- Ser bactericida contra todos los microorganismos que se encuentren presentes
- Ser capaz de desprender la biopelícula de las paredes del canal radicular
- No debe ser tóxico para los tejidos
- No debe provocar reacciones alérgicas
- No interactuar negativamente con otros materiales
- No debe debilitar la dentina

De todas maneras ninguna solución irrigante presente hoy en día en el mercado cumple con todas las características mencionadas anteriormente, y es por esta razón que muchas veces es necesario hacer combinaciones de soluciones irrigantes para conseguir la acción deseada ⁽¹⁾.

c. Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

El EDTA es un irrigante de vital importancia ya que este a diferencia del hipoclorito es capaz de disolver la materia inorgánica, pero a su vez tiene muy poco efecto sobre la materia orgánica y no es antibacteriano, lo que le permite ser un agente poco agresivo con las células periapicales. Además de eliminar los iones de calcio de la matriz dentinaria de una manera más selectiva que otros agentes ⁽¹⁶⁾. Además el uso del EDTA mejora la acción antimicrobiana de otros agentes utilizados ⁽²⁾.

Comúnmente es usado a una concentración de 17% con el objetivo principal de eliminar el barro dentinario, producido durante la instrumentación. Este se utiliza durante 2 a 5 minutos al final de la instrumentación. Pero algunos estudios afirman que transcurrido 1 minuto el conducto está libre de barro dentinario ⁽¹⁷⁾. Aunque también puede ser utilizado durante la instrumentación, ya que este aumenta la permeabilidad dentinaria, lo que favorece la acción mecánica intraconducto y favorece la adaptación íntima de los materiales de obturación.

El mecanismo de acción del EDTA se debe a su acción quelante, que consiste en la capacidad de ciertas sustancias de fijar iones metálicos de algún determinado complejo molecular. Este poder se debe a las numerosas ligaduras químicas que su molécula consigue establecer con un mismo ion de metal, como medio para secuestrarlo del medio. Esto le permite al EDTA actuar sobre las paredes dentinarias removiendo iones de calcio lo que provoca la desmineralización de estas, reduciendo su dureza.

Su acción más importante radica en la eliminación del barro dentinario, lo que permite una acción más efectiva de los antisépticos utilizados y permite una mejor adaptación de los materiales utilizados para la obturación del conducto.

El EDTA en si es un compuesto muy poco soluble en agua por lo que su poder quelante se ve disminuido por la imposibilidad de una efectiva disociación iónica. Por lo que para que su efecto sea optimo en realidad lo que se ocupa en la práctica clínica es una sal trisódica con un pH ajustado a 7,3.^{(1) (8)}.

Es importante mencionar que a pesar de que su acción es descrita como no agresiva para los tejidos, esto depende de que se utilice de la forma correcta, ya que si se introduce de forma inadvertida en el conjuntivo de la zona ápico-periapical, se podría producir exudado excesivo y hemorragia ⁽¹⁸⁾.

d. Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio o NaOCl es un irrigante fundamental para el tratamiento endodóntico, es un líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor clorino, que presenta una acción disolvente sobre el tejido necrótico y restos orgánicos y además es un potente agente antimicrobiano ⁽¹⁹⁾. Es una sal formada de la unión de dos compuestos químicos, el ácido hipocloroso y el hidróxido de sodio, que presenta como características principales sus propiedades oxidantes ⁽²⁰⁾.



i. Propiedades

- Buena capacidad de limpieza (arrastre mecánico)
- Poder antibacteriano efectivo (Bactericida)
- Neutralizante de productos tóxicos
- Disolvente de tejido orgánico
- Acción rápida, desodorante y blanqueante
- Baja tensión superficial (Penetración a todas las concavidades del conducto radicular)
- Humectación (humedece las paredes del conducto radicular favoreciendo la acción de los instrumentos)
- Lubricación de las paredes
- pH alcalino (neutraliza la acidez del medio y, crea un ambiente inadecuado para el desarrollo bacteriano)
- Acción rápida
- Doble acción detergente (emulsión, saponificación) ⁽²¹⁾

ii. Mecanismo de acción

El mecanismo de acción que posee el hipoclorito de sodio, se puede explicar con las reacciones químicas que se producen al entrar en contacto con la materia orgánica. El hipoclorito al presentarse como solución, acuosa muestra un equilibrio químico dinámico ⁽²²⁾.

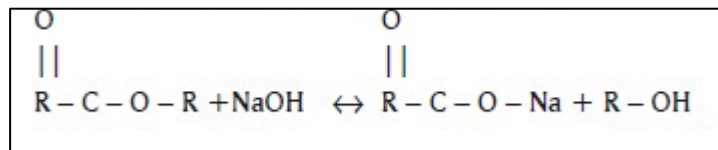


Esquema 3: Reacción de ionización del hipoclorito de sodio

El NaOCl se ioniza con el agua en sodio (Na⁺) y en iones hipoclorito, OCl⁻, y establece un equilibrio con el ácido hipocloroso (HOCl) (1) Las reacciones principales que se desarrollan y afectan a las funciones vitales de las bacterias son: Reacción de saponificación, reacción de neutralización de aminoácidos y reacción de cloraminación (23) (24).

Reacción de saponificación

El NaOCl actúa como disolvente orgánico y graso; saponifica los ácidos grasos, transformándolos en sales de ácidos grasos y glicerol, lo que reduce la tensión superficial de la solución.

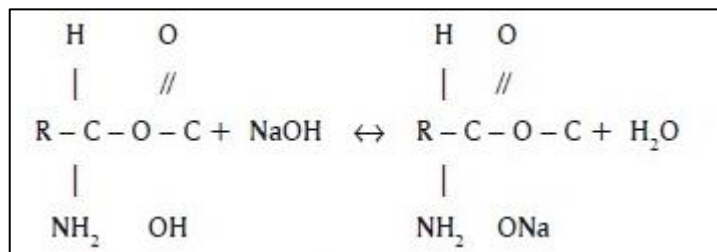


Ácido graso Hidroxido de sodio Sales Glicerol

Esquema 4: Reacción de saponificación.

Reacción de neutralización de aminoácidos

El hipoclorito de sodio (hidróxido de sodio) neutraliza los aminoácidos formando agua y sal. Con la salida de los iones hidroxilo ocurre la reducción del pH de la solución remanente.

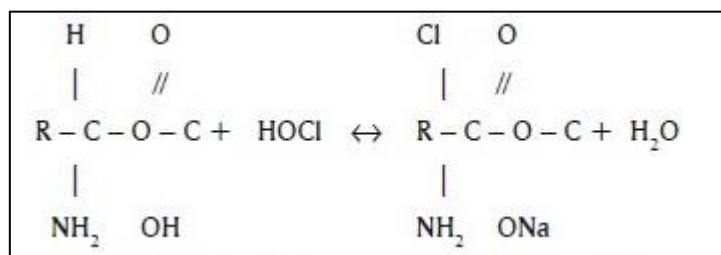


Aminoácido Hidróxido de sodio Sal Agua

Esquema 5: Reacción de neutralización de aminoácidos

Reacción de Cloraminación

El ácido hipocloroso en contacto con la materia orgánica actúa como solvente, liberando cloro, que entra en contacto con la proteína del grupo amino, formando cloraminas.



Aminoácido Ácido hipocloroso Cloramina Agua

Esquema 6: Reacción de cloraminación

El ácido hipocloroso (HOCl^-) y los iones hipoclorito (OCl^-) presentan acción de hidrolizar y degradar los aminoácidos. La reacción de cloraminación entre el cloro y el grupo amino, forma cloraminas que interfieren con el metabolismo celular. El cloro tiene un efecto antimicrobiano, inhibiendo las enzimas bacterianas y conduce a una oxidación irreversible de los grupos SH (grupo sulfhidrilo) de las enzimas bacterianas. El elevado pH del hipoclorito de sodio interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática, promueve alteraciones biosintéticas, con inhibición enzimática irreversible (acción oxidante). Se puede observar la degradación de ácidos grasos y fosfolípidos por el proceso de peroxidación lipídica (reacción de saponificación).

iii. Efectos del NaOCl sobre la dentina

El NaOCl es un disolvente orgánico que causa la degeneración de la dentina debido a la disolución del colágeno por la descomposición de los enlaces entre átomos de carbono y la desorganización de la estructura primaria proteica. (24) Esto produce cambios mecánicos en su estructura y ocurre después de los primeros 10 minutos de contacto entre la solución y las paredes de la dentina.¹⁸ Esto provoca que se reduzca la resistencia a la flexión, la microdureza, el módulo elástico de la dentina, como otras propiedades físicas⁽²⁵⁾.

Estos cambios dependen de la concentración del hipoclorito de sodio, ya que a medida que aumenta afecta más a la estructura. Según Barbosa et al⁽²⁶⁾. La conductancia hidráulica de la dentina aumenta más del 100% después del tratamiento con NaOCl al 5%, lo que sugiere un efecto negativo de altas concentraciones de esta sustancia sobre la integridad de las paredes del conducto radicular. Por lo que es necesario seleccionar una concentración que permita la desinfección de los conductos con un mínimo efecto en las propiedades físicas de la dentina⁽²⁷⁾.

iv. Interacciones del NaOCl

Ningún irrigante ha demostrado tener la capacidad de desmineralizar el barro dentinario y disolver el tejido orgánico de forma simultánea. Es por eso que debe ser apoyado por agentes quelantes como lo es el EDTA, para remover y prevenir la formación de barro dentinario que se produce con la instrumentación⁽²⁸⁾. Varios autores consideran importante eliminar el barro dentinario, ya que este puede estar infectado o puede impedir el acceso a los túbulos dentinario donde pueden haber bacterias o sus subproductos⁽²⁹⁾.

Por otra parte, la interacción del NaOCl con agentes quelantes como el EDTA produce una reducción de su pH. Los cambios del pH del NaOCl pueden modificar su propiedad antimicrobiana y de disolución de tejido orgánico⁽³⁰⁾. La baja de pH afecta la forma en la que se encuentra el cloro en la solución, aumentando el ácido hipocloroso y el cloro en estado gaseoso, reduciendo las cantidades del ion hipoclorito disponible, el cual es importante para la degradación de tejido orgánico^{(28) (31)}.

e. Efecto de la secuencia de irrigantes en la dentina

Como ya sabemos para poder lograr la correcta limpieza de los conductos es necesario usar una combinación de irrigantes, ya que ningún irrigante por si solo logra el efecto deseado. Aun que si bien combinación de EDTA y NaOCl es una de las más recomendadas, ya que ha demostrado una eficacia superior en la eliminación tanto de las bacterias como del barro dentinario, aún no se ha llegado a un consenso sobre cuál es la secuencia, tiempo y volumen de aplicación ideal de estos. En general se recomienda usar el NaOCl durante la instrumentación y EDTA preferentemente al finalizar esta para eliminar todo el barro dentinario que pudiese quedar dentro de los conductos radiculares. Sin embargo estudios demuestran que una última irrigación con NaOCl luego de el EDTA sería beneficioso, ya que este penetraría a zonas que antes estaban cubiertas de barro dentinario⁽³²⁾.

Si bien el efecto de esta secuencia de irrigantes trae consigo una limpieza ideal de los conductos también provoca efectos secundarios en la dentina como erosión de esta, pérdida de fuerza y cambios en su rugosidad superficial y crecimiento del diámetro de los túbulos dentinarios.

Cuando el hipoclorito se utiliza antes del EDTA la hidroxiapatita presente protege las fibras de colágeno de la acción disolvente del NaOCl. Ahora bien si después de la irrigación con EDTA se vuelve a usar hipoclorito este puede atacar directamente el colágeno, ya que el EDTA desmineraliza la dentina dejando expuestas las fibras de colágeno. Es por esta razón que no se observa erosión en el primer caso, y el segundo sí. También esta desproteinización que se produce con el uso de hipoclorito luego de EDTA produce un aumento en el área de la superficie el túbulo dentinario, además de una superficie dentinaria porosa e irregular en las estructuras tanto peritubulares como intertubulares⁽³²⁾.

Los estudios recomiendan utilizar el EDTA por solo un minuto seguido de una irrigación con hipoclorito que no supere la exposición de más de 60 segundos para lograr evitar la erosión excesiva de la dentina, pero si lograr una limpieza optima de los conductos.

Es importante mencionar de todas maneras que aún no se sabe si esta erosión producida por los irrigantes es considerablemente perjudicial para la dentina y la raíz del diente⁽³²⁾.

f. Ensayo de microdureza de Vickers

Una de las principales formas de medir la dureza superficial es el ensayo de dureza de Vickers.

Los estándares del test de Vickers están determinados de acuerdo al rango de fuerza que se aplicara:

- ASTM E384: Rangos de microfuerza: 10g a 1kg
- ASTM E92: Rangos de macrodureza: 1KG a 100KG
- ISO 6507-1,2,3: Rangos de micro y macrodureza

El principio del test de Vickers radica en la muesca de una pirámide de base cuadrada de diamante de 136° grados, presionado en intervalos controlados de fuerza entre 1 a 120Kgf. La fuerza es aplicada por un intervalo de tiempo que va entre 10 a 15 segundos. Luego de esto, la muesca es removida dejando una marca de un cuadrado marcada en el material. Esta impresión producida por la máquina, es medida ópticamente utilizando el micrómetro del microscopio, o de manera computacional en las maquinas más recientes, en donde mide las dos diagonales del cuadrado y el promedio es calculado. El largo de la diagonal es medida por el microscopio, que usualmente está integrado en el test de Vickers.

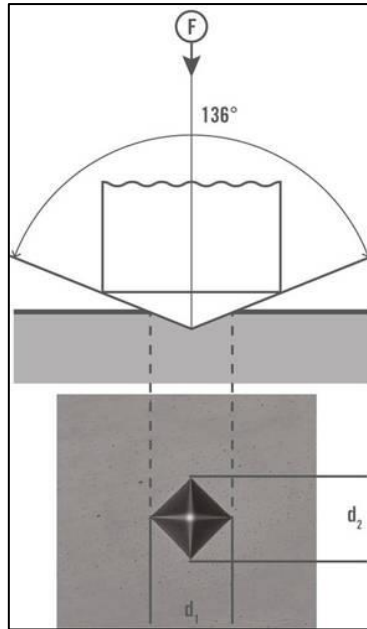
La carga varía entre 1Kgf y 120Kgf, y es usualmente aplicada es 30 segundos. El número de Vicker (HVN) es cálculo de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$HV = 1.854 \times F/D^2$$

F: Fuerza aplicada, Kg.

D: Largo de la impresión de la diagonal, mm.

El número Vickers, donde normalmente oscila entre 100 y 1000 para metales, incrementa a medida que el material es más duro⁽¹³⁾.



Esquema 7: Esquema de la punta de diamante usada en el ensayo de dureza de Vickers.



Fotografía 1: Máquina de ensayo de microdureza de Vickers.

g. Preparación dentaria para test de microdureza de Vickers.

Para poder someter muestras dentarias, a la máquina de test de dureza de Vickers, es necesario en primer lugar decoronar la muestra. Luego, cortar la raíz longitudinalmente para posteriormente ser montada en una estructura de acrílico de forma horizontal. La superficie a evaluar debe estar correctamente pulida. La punta diamantada se sitúa a nivel medio entre los dos extremos de la muestra. Luego, las muescas generadas, son medidas y convertidas en valores de Vickers por la misma máquina ⁽⁵⁾.

III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

a. Objetivo general

Evaluar el efecto de dos secuencias de irrigantes endodónticos en la MSD.

b. Objetivos específicos

- Comparar la MSD de las muestras antes (control) y después de ser sometidas a dos secuencias de irrigación endodóntica (NaOCl-Suero-EDTA-Suero; NaOCl-Suero-EDTA-NaOCl-Suero).
- Comparar la MSD entre dos protocolos de irrigación endodóntica (NaOCl-Suero-EDTA-Suero; NaOCl-Suero-EDTA-Suero-NaOCl-Suero).

c. Hipótesis

H1: La MSD de los grupos controles se verá afectada por los protocolos de irrigación endodóntica (NaOCl-Suero-EDTA-Suero, NaOCl-Suero-EDTA-Suero-NaOCl-Suero).

H2: La MSD se verá afectada de manera diferente entre el protocolo de irrigación A (NaOCl-Suero-EDTA-Suero) y el protocolo de irrigación B (NaOCl-Suero-EDTA-Suero-NaOCl-Suero).

IV. VARIABLES

- **Microdureza superficial dentinaria (MSD):** Cuantitativa continua, dependiente
 - Definición conceptual: Propiedad de un material, en este caso de la dentina, de oponerse a una deformación permanente, el cual se puede correlacionar con el módulo elástico que presente. Los valores de microdureza de la dentina fluctúan entre 46 a 56 VHN, dependiendo de la zona en donde se registre, ya que tiene una relación inversa la dureza de la dentina con la densidad tubular.²⁸⁻²⁹
 - Definición operacional: Valor de VHN (valor de microdureza de Vickers) obtenido usando 300gr de carga durante 20 seg.

- **Protocolo de irrigación:** Cualitativa nominal, independiente
 - Definición conceptual : Orden de aplicación de diversas soluciones químicas, para la desinfección y limpieza del sistema de conductos radiculares
 - Definición operacional :
 - Grupo A (A) = Hipoclorito 5% +NaCl 0,9% + EDTA 18% + NaCl 0,9%
 - Grupo B (B) = Hipoclorito 5%+ EDTA 18%+ NaCl 0,9% +Hipoclorito 5% +NaCl 0,9%

V. MATERIALES Y MÉTODO

a. Diseño del estudio

Esta investigación tiene un diseño experimental controlado in vitro ciego simple, que busca comparar el efecto de dos secuencias de irrigantes (Hipoclorito 5% + Suero 0,9% + EDTA 18% + Suero 0,9% e Hipoclorito 5% + Suero 0,9% + EDTA 18% + Suero + Hipoclorito 5% + Suero 0,9%) en MSD, mediante test de microdureza de Vickers.

b. Muestra/Universo

i. Universo

Se constituye por la totalidad de dientes extraídos que podrían haber optado a tratamiento endodóntico.

ii. Determinación del tamaño muestral

Nuestra investigación corresponde a un estudio para contraste de hipótesis unilateral. Para determinar la muestra nos basamos en el estudio de Patil CR. Y Uppin V. ⁽⁵⁾ Se utilizará una desviación estándar de 4,895, y un valor mínimo de disminución de 6,33 HVN. Se consideró un nivel de confianza de 95% ($\alpha:0,05$) y una potencia de 80% ($\beta:0,20$)

El tamaño muestral quedará determinado de la siguiente fórmula:

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

Esquema 8: Formula tamaño muestral para contraste de hipótesis para dos medias.

Símbolo	Definición	Valor en estudio
n	Numero de sujetos necesarios para cada una de las muestras	X
s ²	Varianza de la variable cuantitativa que tiene el grupo control	23,9610
d ²	Valor mínimo de diferencia que se desea detectar	40,0689
Z _a	Valor de Z correspondiente al riesgo alfa	1,645
Z _b	Valor de Z correspondiente al riesgo beta	0,842

Tabla I: tabla de valores de los elementos necesarios para obtener tamaño muestral

$$N = \frac{2(1,645 + 0,842)^2 23,96}{40,0689}$$

Esquema 9: Fórmula tamaño muestral para contraste de hipótesis para dos medias con los datos correspondientes.

Nos da un resultado de 7,39, por lo que se ocuparan 10 cuerpos de estudio por grupo. A este resultado debemos agregarle las pérdidas estimadas. Para lo que utilizaremos a siguiente fórmula.

$$Na = \frac{N}{1 - L}$$

Esquema 10: Fórmula para obtener pérdidas estimadas

Na	tamaño de la muestra ajustado, teniendo en cuenta las pérdidas	
N	tamaño de la muestra, sin tener en cuenta las pérdidas	10
L	porcentaje esperado de pérdidas	0,15

Tabla II: Tabla descriptiva de los elementos para obtener el número de pérdidas estimadas

$$11,76 = \frac{10}{1 - 0,15}$$

Esquema 11: fórmula con los datos correspondientes

De acuerdo a lo anterior, el tamaño muestral ajustado a las pérdidas fue de 12 muestras por grupo, pensando en que durante el proceso perderemos 2 muestras pro grupo aproximadamente.

Así serán configurados los siguientes grupos de estudio (n=10):

Control (CA y CB): MSD de las muestras previo a cualquier irrigación endodóntica

Grupo A (A): MSD luego de irrigación endodóntica de hipoclorito 5% - suero 0,9%- EDTA 18% - suero 0,9%

Grupo B (B): MSD luego de irrigación endodóntica de hipoclorito 5% - Suero 0,9% - EDTA 18%- Suero 0,9% -Hipoclorito 5% - Suero 0,9%

iii. Muestra

Todos los dientes extraídos de la clínica odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso durante el año 2017. Para determinar la muestra se elaboró un Consentimiento Informado a cada paciente dando

conocimiento de que será utilizado en un estudio de investigación in vitro que no involucra datos personales y que dicha muestra será desechada luego de su uso. Además, se determinaron criterios de inclusión/exclusión con la finalidad de estandarizar los objetos de estudio.

Criterios de inclusión

- Diente permanente unirradicado con indicación de extracción terapéutica, independiente de la patología que haya indicado dicha extracción.
- Raíz indemne.
- Diente permanente.
- Ápice cerrado.

Criterios de exclusión

- Caries radicular.
- Diente que presente reabsorción radicular interna.
- Diente que presente reabsorción radicular externa.
- Diente tratado endodónticamente.
- Anatomía radicular anómala.

c. Financiamiento

El financiamiento de este estudio fue mediante el aporte directo de los investigadores.

d. Metodología

Las etapas fueron realizadas por el equipo de investigadores de la Facultad de Odontología UV, miembros de este estudio. En las Etapas 3 y 5 un ingeniero de la Universidad Técnica Federico Santa María complementó los procedimientos ejecutando el test de microdureza de Vickers.

ETAPA 1: Recolección dentaria

Diez dientes unirradicados (incisivos caninos o premolares) definitivos humanos, fueron recolectados del total de los dientes extraídos por indicación terapéutica, en la clínica de Cirugía II y III de la Escuela de Odontología de la Universidad de Valparaíso (anexo 1), durante el año 2017. Cada paciente debió autorizar el uso de su diente para fines académicos mediante la firma de un consentimiento informado (anexo 2) que contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad de Valparaíso (anexo 3). Una vez obtenidas las muestras, fueron conservadas en frascos de vidrio con suero fisiológico 0,9% y refrigerados a 4 grados Celsius. Una vez seleccionados los dientes, se eliminó los restos de tejido orgánico e inorgánico presente en la superficie radicular, mediante el uso de curetas

e irrigación con suero. Posteriormente fueron esterilizados mediante calor húmedo. Todos los consentimientos informados fueron archivados y resguardados por el Investigador responsable de esta investigación Prof. Carlos Marchant.

ETAPA 2: Preparación dentaria

Los dientes fueron montados por la corona en acrílico de autocurado en recipiente de plástico. En esta etapa las muestras fueron rotuladas del 1 al 10, para codificar los dientes. Posteriormente fueron cortadas cada muestra de forma longitudinal utilizando la máquina de cortadora de precisión (IsoMet®, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) con irrigación, por un miembro del equipo investigador previamente calibrado.



Fotografía 2 y 3: diente Montado y posterior corte longitudinal.

Luego, las muestras fueron decoronadas a nivel de la unión cemento-esmalte usando la misma cortadora de precisión a baja velocidad e irrigación.

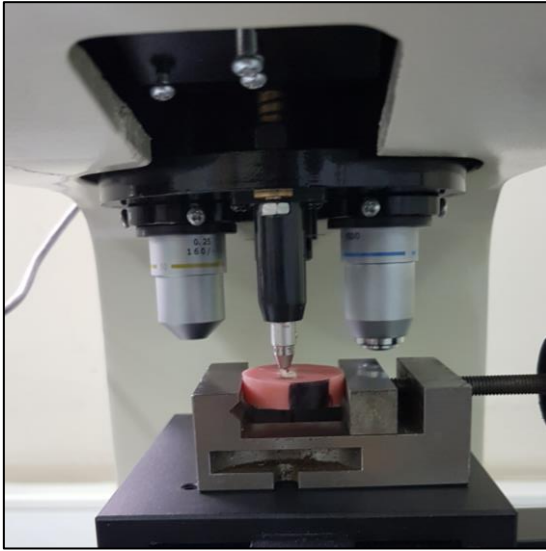
Posteriormente, las 20 muestras fueron montadas longitudinalmente con acrílico de autocurado en anillos de cobre, exponiendo la zona interna de la raíz, de manera paralela al piso. En esta etapa las muestras fueron nuevamente rotuladas del 1 al 10, y fue agregado el sufijo A y B, de forma aleatoria, el cual designa a que protocolo de irrigantes fue sometido

A las muestras, se les realizó un protocolo de pulido, mediante el sistema de discos Sof-lex (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) desde el grano más grueso al más fino con irrigación. Posteriormente fueron pulidas con pasta de diamante prisma-gloss (Dentsply Caulk, Milford, DE, EUA) con irrigación.

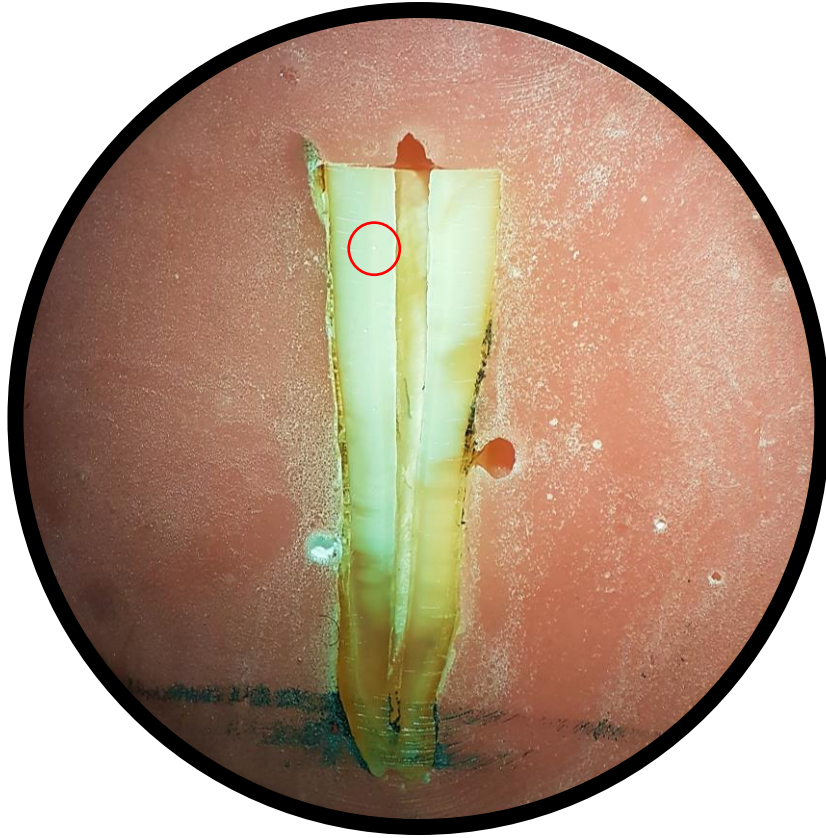
ETAPA 3: Medición de control de microdureza de Vickers

Previo a la irrigación de las muestras, estas fueron medidas bajo el test de microdureza de Vickers, la cual se desarrolló con un micro durómetro presente en la Universidad Técnica Federico Santa María (UTFSM) que fue operado por un ingeniero de dicha institución. Este equipo cuenta con una punta de diamante

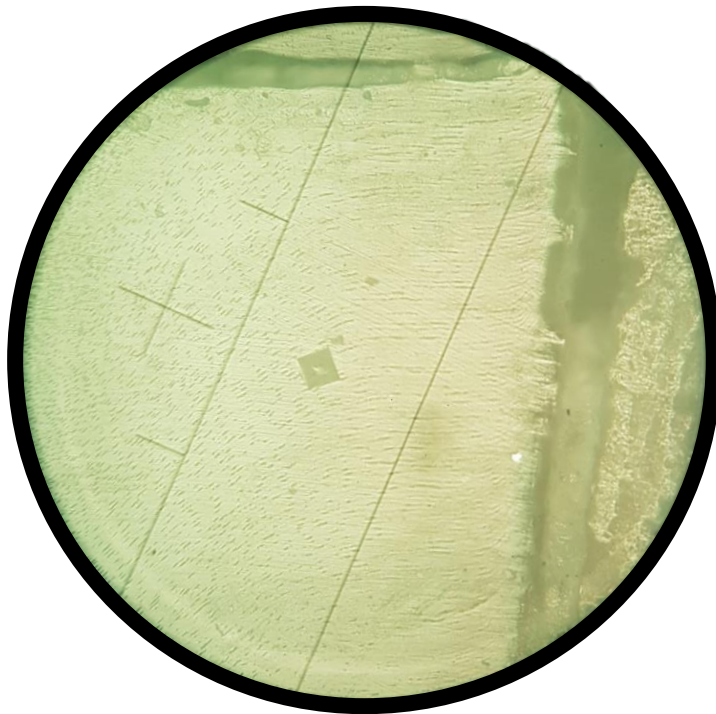
piramidal que ejerce una carga conocida sobre la superficie de la muestra, generando una muesca que permite medir la resistencia de un material al ser penetrado. En cada muestra, estas muescas se realizaron a $200\mu\text{m}$ desde la porción coronal hasta 1mm antes de la porción apical, con una distancia entre cada muesca de $200\mu\text{m}$ y a $50\mu\text{m}$ de distancia del conducto radicular. Esta medición se realizó a la izquierda del conducto radicular, aplicando una fuerza de 300mg por un tiempo dwell de 20 segundos obteniendo así el promedio de la MSD sin ser sometida a los protocolos.



Fotografía 4 y 5: Máquina de microdureza de Vickers con muestra en posición y datos ingresados a la máquina



Fotografía 6: Muestra a 100X muescas de control



Fotografía 7: Muestra a 200X muesca de control

ETAPA 4: Irrigación

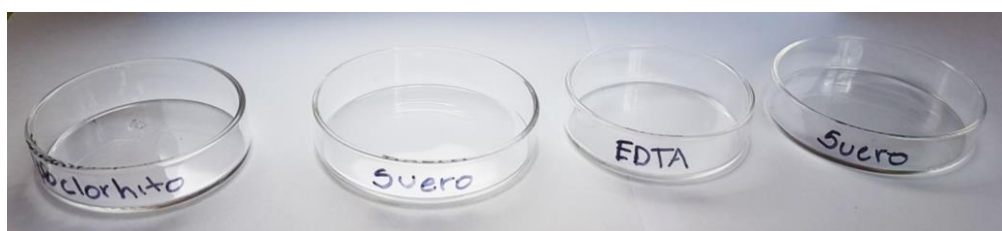
Las muestras de cada subgrupo, fueron sumergidas, por el equipo investigador, en recipientes de vidrio conteniendo las soluciones irrigadoras, de acuerdo a los siguientes protocolos los cuales consideran secar las muestras entre cada solución:

Grupo A Protocolo Hipoclorito de sodio - suero – EDTA - suero: se sumergieron las muestras en la solución de Hipoclorito de Sodio al 5% por 10 minutos, luego fueron embebidas en suero 0.9% por 15 segundos, a continuación fue sumergido en solución EDTA al 18% por 60 segundos y para finalizar fueron embebidas en suero 0.9% por 1 minuto.

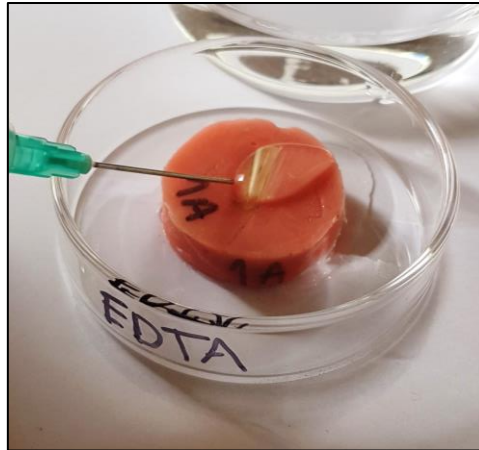
Grupo B Protocolo Hipoclorito de sodio- Suero– EDTA –Suero- Hipoclorito de sodio – suero: se sumergieron las muestras en solución de Hipoclorito de Sodio al 5% por 10 minutos, posteriormente, embebimos en suero 0.9% por 15 segundos, luego fueron sumergidas en solución EDTA al 18% por 60 segundos, para ser luego limpiadas con suero al 0,9% posteriormente fueron embebidas en Hipoclorito de Sodio al 5% por 1 minuto y para finalizar fueron sumergidas en suero 0.9% por 1 minuto. Para evitar la contaminación de las soluciones irrigadoras, estas fueron cambiadas de los recipientes, entre una muestra y otra. Al final del procedimiento, las muestras fueron secadas con papel absorbente.



Fotografía 8, 9 y 10: Irrigantes EDTA, NaOCl y suero respectivamente



Fotografía 11: Recipientes para irrigación



Fotografía 12: Irrigación con jeringa hipodérmica

ETAPA 5: Prueba de microdureza de Vickers post irrigación

Se realizó de la misma forma como fue descrito en la ETAPA 3.

ETAPA 6: Recolección de datos

Los datos de microdureza Vickers (VHN) fueron ingresados en el software Microsoft Excel 2013 ordenados del 1 al 10 CA, CB, A y B respectivamente.

VI. RESULTADOS

Una vez obtenidos los resultados de las muestras en VHN, se obtuvo un promedio por muestra tanto de la fase control del grupo A (CA) y del grupo B (CB), post-irrigación de la secuencia de irrigantes del grupo A (A) y secuencia de irrigantes del grupo B (B). A partir de esto se obtuvo la diferencia entre los promedios del control y las muestras de irrigantes del grupo A (ΔA) y del grupo B (ΔB) respectivamente, los cuales se presenta en la siguiente tabla (tabla III).

	CA	A	CB	B	ΔA	ΔB
1	49	43,36	57,36	64,5	5,64	-7,14
2	49,16	38,2	44,28	31,8	10,96	12,48
3	51,52	48,2	49,2	45,16	3,32	4,04
4	50	41,66	50,78	39,5	8,34	11,28
5	47,84	38,94	47,54	37,26	8,90	10,28
6	47,98	47,18	48,625	32,9	0,80	15,73
7	64,76	50,9	51,36	45,68	13,86	5,68
8	59,28	46,04	48,62	45,5	13,24	3,12
9	45,08	42,2	48,04	42,22	2,88	5,82
10	51,9	49,68	48,56	45,48	2,22	3,08

Tabla III: Promedios en VHN de control y post-irrigación.

Para realizar el análisis estadístico de los datos se utilizó el software Stata 12.0, en el cual para la realización de todas las pruebas se consideró como significativo un p-valor menor de 0,05. En una primera instancia se aplicó a todos los grupos el test de normalidad de Shapiro-wilks y para comprobar la homogeneidad de las varianzas, se realizó la prueba de Bartlett (tabla IV). Una vez obtenidos los resultados de ambos test se realizó el análisis descriptivo de las variables.

Para finalizar con las pruebas de significancia, de las cuales se determinó utilizar la prueba de U de Mann-whitney para comparar los promedios de los grupos control. La prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas con el fin de comparar las MSD de los grupos control (CA y CB) y la MSD determinada luego de la aplicación de sus respectivas secuencias de irrigantes (A y B). Y finalmente la prueba T paramétrica independiente, para el análisis de ΔA y ΔB .

	CA	A	CB	B	ΔA	ΔB
Normalidad	0.034	0.68	0.09	0.08	0.42	0.52
Homogeneidad	0,39		0,01		0,37	

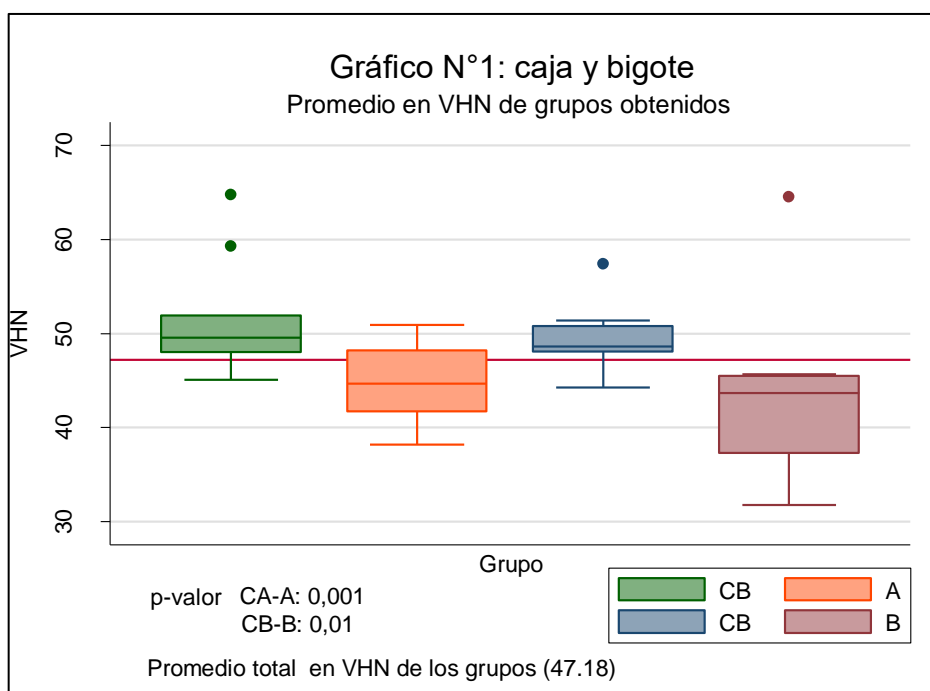
Tabla IV: Resultados prueba de Shapiro-wilks y prueba de Barlett

De acuerdo a estos resultados, podemos decir que todos los grupos, exceptuando el grupo CA, tienen una distribución normal ($p\text{-valor} > 0,05$). En cuanto a la homogeneidad de las varianzas, los grupos CA-A y $\Delta A\text{-}\Delta B$, resultaron ser homogéneas ($p\text{-valor} > 0,05$), a diferencia del grupo CB-B el cual resultó no homogéneo ($p\text{-valor} < 0,05$).

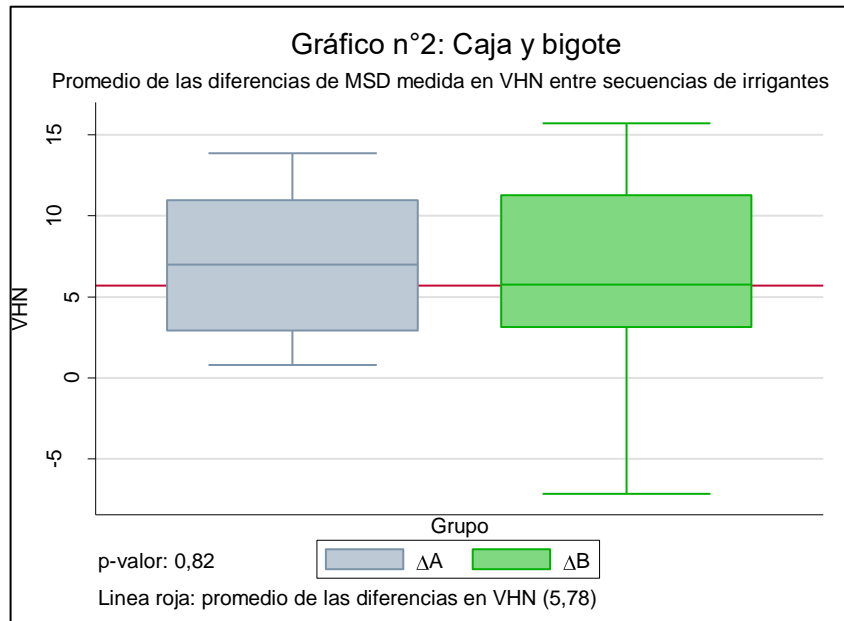
	CA	A	CB	B	ΔA	ΔB
Promedio	51,65	44,64	49,44	43,00	7,02	6,44
Desviación estándar	5,94	4,42	3,38	9,19	4,72	6,45
p50	49,58	44,70	48,62	43,69	6,99	5,75
p25	47,98	41,66	48,04	37,26	2,88	3,12
p75	51,90	48,20	50,78	45,50	10,96	11,28
Coefficiente de variación	0,11	0,10	0,07	0,21	0,67	1,00

Tabla V: Análisis descriptivo de las variables

El promedio de dureza del grupo CA es 51,65 y del grupo CB es 49,44, por lo que la dureza promedio de los dientes sin irrigantes es de 50,55. Con la prueba de Mann-Whitney para los grupos CA y CB no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor} 0,33$). Existió un mayor coeficiente de variación en las diferencias que en los grupos respectivamente,



Los resultados indican que existe una diferencia estadísticamente significativa en la disminución de la MSD entre las secuencias de irrigantes A (CA-A) y la secuencia de irrigantes B (CB-B) respectivamente. (p -valor $<0,05$). Tanto el grupo CA y CB se ubican por sobre el promedio general de VHN, mientras que A y B se ubicaron por debajo del promedio.



Los resultados nos indican que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de las disminuciones de la MSD entre la secuencia de irrigantes A (ΔA) y la secuencia de irrigantes B (ΔB). (p -valor $>0,05$). Ambas secuencias de irrigantes se encuentran coincidentes con el promedio de VHN.

VII. DISCUSIÓN

La irrigación es, sin duda, un paso clave para cualquier tratamiento de endodoncia. Numerosos autores han investigado acerca de las secuencias de irrigación y posibles agentes irrigantes. Markus Haapasalo describe en varios de sus estudios ^{(1) (2) (32)} que utilizar NaOCl posterior al uso con EDTA en la irrigación final, se generaría una mayor erosión de las paredes del SCR, lo que podría disminuir las propiedades físicas de la dentina (disminución de la MSD), aumentando el riesgo de fracturas verticales en el diente; de todas maneras, el mismo autor admite, por otro lado, que esta secuencia de irrigación generaría a la vez una mayor limpieza del SCR debido a que la eliminación del barro dentinario, provocado por el EDTA, expondría los túbulos dentinarios de tal manera que permitiría que el NaOCl pudiera eliminar microorganismos persistentes, asegurando el éxito del tratamiento endodóntico.

Con el fin de probar lo descrito en el párrafo precedente, en el presente estudio se analizó el efecto que tenían sobre la MSD dos secuencias de irrigantes distintas (A, B), con el fin de determinar si la secuencia de irrigantes B (NaOCl-Suero-EDTA-Suero-NaOCl-Suero) generaba una disminución de la MSD significativamente mayor que la secuencia de irrigantes A (NaOCl-Suero-EDTA-Suero), lo que podría comprometer la resistencia estructural del diente. Para hacerlo, se creó un modelo experimental *in vitro*, con la intención de disminuir al máximo los factores confundentes y errores sistemáticos. La investigación utilizó el parámetro de microdureza de Vickers como la variable principal a medir en las diferentes muestras. Con el fin de disminuir el sesgo, se utilizó un ciego simple para que un operador externo, experto en la prueba de microdureza de Vickers tomase los datos de las distintas muestras. Cabe destacar, de todas formas, que el procedimiento de aplicación de las fuerzas de la máquina es un proceso automatizado que no depende de operador.

Diferentes estudios previos han medido la MSD en el pasado ^{(33) (34) (35)}, mediante estos, se ha indicado que la determinación de la microdureza puede proveer evidencia indirecta de la pérdida o ganancia de mineral en los tejidos duros dentarios. Asimismo, otros estudios han validado el uso de la máquina de microdureza de Vickers para evaluar los cambios en las superficies dentales tratadas con agentes químicos ^{(34) (35)}. Por lo anterior, se decidió utilizar este método para detectar los cambios en la MSD luego de la aplicación de los protocolos de irrigación endodóntica.

Uno de los factores que afecta la medición de la MSD, por medio de la máquina de microdureza de Vickers, es la preparación de las muestras, ya que cualquier inclinación o superficie no plana, producirá una muesca demasiado grande y por tanto un valor de VHN menor o alterado ⁽³⁶⁾. Por lo tanto, para producir una superficie plana en las muestras, se utilizó una secuencia de pulido específica, basada en estudios anteriores ^{(5) (34)}.

La selección muestral fue aleatoria, siguiendo un estricto protocolo de selección. Al analizar los resultados de la MSD entre los controles del grupo A y del grupo B no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estos. El promedio de MSD encontrado en los grupos control fue de 50.55 VHN, lo que se condice con la MSD promedio existente en la literatura ⁽¹⁴⁾ ⁽³⁷⁾ ⁽³⁸⁾. De esta manera, cabe colegir que los grupos estudiados corresponden a un grupo de características normales de dentina según lo descrito en los estudios previos.

En metodología, un estudio de diseño cruzado busca utilizar el mismo cuerpo de prueba para medir dos tratamientos alternativos, de modo tal de poder disminuir el sesgo propio de utilizar distintos cuerpos de prueba para medir diferentes tratamientos ⁽³⁹⁾. En el caso de los dientes, el tamaño de los mismos y la cantidad de estos que se requirieron para poder trabajar la microdureza de Vickers, permitió de un mismo cuerpo de prueba (A o B) obtener dos muestras, las cuales fueron divididas en grupo control y grupo tratamiento, esto permitió utilizar el análisis intragrupo de forma cruzada, siendo entonces cada muestra su propio control ⁽³⁹⁾. La importancia de este tipo de diseño radica en que las diferencias genéticas, estructurales, físicas y químicas que podrían presentar los distintos dientes en cuanto a su composición y estructuras particulares son disminuidas al máximo mediante el diseño metodológico así establecido. Esta decisión metodológica difiere de trabajos habituales que miden características dentarias, las cuales usualmente comparan diferentes dientes con grupos control que no son necesariamente idénticos ⁽³⁴⁾ ⁽³⁵⁾ ⁽⁴⁰⁾.

Uno de los principales hallazgos encontrados fue que ambas secuencias de irrigación generaron una disminución estadísticamente significativa de la MSD, en comparación a sus respectivos grupos control. Este hallazgo es concordante con los resultados de Cobankara, Zhang y Torres de quienes establecieron que todos los irrigantes provocaban un cambio en el contenido mineral de la dentina radicular, en especial, cuando las secuencias de irrigación utilizaban agentes irrigantes como el EDTA ⁽⁴¹⁾ ⁽⁴²⁾ ⁽⁴³⁾. La disminución de las características físicas de la MSD podría estar dada, en el caso de la metodología utilizada en este estudio por los cambios que genera el uso de irrigantes como el NaOCl, el cual provoca una disolución de las fibras de colágeno, unión colágeno-mineral y cambios en la cristalinidad de la apatita, resultando en una superficie rica en cristales de apatita, similar a los del esmalte dental, por lo que el sustrato se haría más quebradizo y disminuiría sus propiedades físicas ⁽⁴³⁾. A todo lo anterior, se le añade el efecto del EDTA, que como agente quelante, afecta la estructura inorgánica, eliminando los iones Calcio del tejido mineral de la dentina, expuestos previamente por la acción del NaOCl. Todo esto contribuiría a la disminución de las propiedades mecánicas, incluyendo la MSD ⁽¹⁾ ⁽²⁾ ⁽³²⁾. Resultados de estudios con similar metodología demuestran que siempre existirá una disminución de la MSD, independiente del agente irrigante a utilizar, afectando las propiedades mecánicas de la dentina ⁽³⁴⁾ ⁽³⁵⁾ ⁽⁴⁴⁾. De esta información podemos inferir que cualquier diente tratado endodónticamente, tendrá sus propiedades mecánicas disminuidas no sólo por el procedimiento mecánico del trabajo de conformación de los conductos, sino también por el uso de los agentes químicos de desinfección.

Los resultados de este estudio, en cuanto a la secuencia de irrigación A y su respectivo grupo control (CA) son concordantes con los resultados obtenidos por Saleh (2016) quien utilizó la misma secuencia con porcentajes de concentración de agentes irrigantes y tiempos de aplicación semejantes ⁽³⁴⁾.

Las desviaciones estándar obtenidas en este estudio mostraron amplia variación, similar a otros estudios ⁽³⁴⁾ ⁽³³⁾. Esta variación podría ser producida por factores tales como la preparación de la muestra, variación en las características histológicas, composición química, edad y locación de la muesca en la muestra ⁽⁴⁵⁾, obedeciendo de manera mayoritaria a las características anatómicas de los distintos grupos de dientes, sin embargo, cabe destacar que estas variaciones sólo demuestran una heterogeneidad en los dientes a estudiar y refuerzan la eventual necesidad de utilizar modelos cruzados o similares para disminuir la implicancia de estos factores en el análisis general de datos.

Por otro lado, cuando comparamos la disminución de la MSD provocada por ambas secuencias de irrigantes, se esperaría de acuerdo a los estudios de Qian (2011) y Haapasalo (2014) que existiese un mayor promedio de disminución de la MSD en la secuencia de irrigantes B, debido al uso de NaOCl como irrigación final tras la irrigación de EDTA, ya que atacaría las fibras colágenas que previamente fueron expuestas por el EDTA, provocando un mayor grado de erosión que podría influir en las propiedades mecánicas de la dentina, como la MSD, pudiendo aumentar el riesgo de fracturas dentarias ⁽²⁾ ⁽¹⁾ ⁽³²⁾. Los resultados de este estudio no se condicen con las aseveraciones teóricas de estos autores ya que no se observa una diferencia estadísticamente significativa de disminución de la MSD entre ambas secuencias de irrigantes, de este modo, no se puede afirmar, según los resultados obtenidos, que exista un reflejo macromolecular evidenciable en la MSD con la alteración de la secuencia de irrigación. Si bien es cierto, factores como el tiempo de exposición a diferentes agentes irrigantes y la concentración de los mismos están asociados a la disminución de la MSD ⁽¹⁾ ⁽⁴¹⁾ ⁽⁴²⁾, en lo que respecta a la metodología aplicada en esta investigación, se podría afirmar que, si se mantienen concentraciones y tiempos similares de exposición, no importa la secuencia de irrigación utilizada, la MSD no se verá más afectada por un orden u otro más que por la normal afectación que el proceso químico implica *per se*.

Saghiri en el 2009 concluyó que más que la erosión, es la penetración de los agentes irrigantes, el factor principal de la disminución de la MSD ⁽⁴⁰⁾. En esta investigación, no se utilizó ningún método para evaluar la penetración de los irrigantes. Por lo cual, este trabajo no puede corroborar o discutir la investigación mencionada, se sugiere la posibilidad de realizar más investigaciones en cuanto a la propuesta mencionada por este autor.

Es importante señalar, que no se encontró en la literatura trabajos de investigación que comparen estas mismas dos secuencias de irrigantes endodónticos, por lo que no se podría comparar los resultados obtenidos, con otros pre-existentes.

Dentro de los objetivos de la endodoncia está el obtener la máxima eliminación de microorganismos del SCR. Esto, según los estudios podría lograrse

utilizando el NaOCl como irrigación final tras el EDTA, ya que este último, además de la eliminación del barro dentinario gracias a su poder de disolución de la materia inorgánica, también posee un efecto en la debilitación de la membrana celular de las bacterias, lo que podría tener un efecto sinergista con el uso de NaOCl ⁽¹⁾, siempre y cuando se utilicen alternadamente. Siempre considerando que se debe utilizar una solución salina entre irrigantes, para evitar reacciones químicas entre ellos, como lo hicimos en este estudio aplicando de manera alterna el suero entre cada aplicación de NaOCl y EDTA, así evitando el efecto inhibitor que tiene el EDTA sobre la acción antibacteriana del NaOCl ⁽¹⁾.

Baldasso en el 2017 menciona que las bacterias más resistentes dentro de los túbulos dentinarios podrían estar presentes hasta incluso 400µm de profundidad. Los irrigantes utilizados normalmente para la desinfección del SCR alcanzan profundidades de hasta 130µm ⁽³⁵⁾, al considerar que no hay bastante literatura del uso del NaOCl luego de la aplicación del EDTA y la consecuente eliminación del barro dentinario, es que se propone el uso de la secuencia de irrigación B, ya que nos permitiría un avance del agente irrigante con menos trabas mecánicas, lo que eventualmente podría redundar en una mayor penetración a los túbulos dentinarios más expuestos y mejorar la capacidad de eliminación de microorganismos del sistema de conductos radiculares.

VIII. CONCLUSIÓN

a. Conclusión general

A la luz de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, podemos concluir que ambas secuencias de irrigantes endodónticos producen un cambio en la microdureza superficial dentinaria.

b. Conclusiones específicas

La microdureza superficial dentinaria observada una vez aplicadas ambas secuencias de irrigantes endodónticos (A, B) en comparación a la encontrada previamente en sus respectivos controles, disminuyeron de manera estadísticamente significativa. Por lo que se concluye que ambas secuencias alteran las propiedades mecánicas de la dentina radicular. Lo que acepta la hipótesis H1 que afirma que la microdureza superficial dentinaria de los grupos controles se verá afectada por los protocolos de irrigación endodóntica.

Por otro lado la comparación de los promedios de disminución de la microdureza superficial dentinaria de los protocolos de irrigación endodónticos A y B, no arrojó resultados estadísticamente significativos, por lo que podemos concluir que ambos irrigantes afectan de manera similar las propiedades de la dentina radicular. Lo anterior nos lleva a rechazar la hipótesis H2 que dice que la microdureza superficial dentinaria se verá afectada de manera diferente entre los protocolos de irrigación A y el protocolo de irrigación B.

IX. LIMITACIONES y SUGERENCIAS

Este estudio es un experimento in vitro por lo que las condiciones experimentales que se utilizaron no corresponden con las condiciones reales, ya que al sumergir las muestras en los irrigantes, estos tuvieron su acción en la totalidad de la dentina, a diferencia de un tratamiento endodóntico convencional, por este mismo motivo es dable esperar que los resultados sobreestimen el efecto de los irrigantes sobre el sistema de conductos radiculares. Por lo anterior, se sugiere que la irrigación se realice en conjunto con la instrumentación del SCR, para luego seccionar las muestras para las posteriores mediciones.

Se sugiere realizar estudios que evalúen la profundidad de penetración de la secuencia de irrigantes B en la dentina, para conocer si su alcance lograría llegar a profundidades de 400um, en donde se encontrarían los microorganismos persistentes.

Se sugiere realizar estudios con el uso de otras soluciones irrigantes u protocolos y su efecto en la dentina y su microdureza superficial.

La utilización de agentes irrigantes podría alterar otro tipo de parámetros físicos de la dentina como su hidratación, de esta forma se sugiere evaluar la hidratación de la dentina post irrigación endodóntica.

Según los resultados de este estudio, las secuencias de irrigación no provocan alteración medible en la microdureza de la dentina, se sugiere continuar con estudios de resistencia y adhesión mayores con el fin de corroborar esta información, ya que, de ser cierto, permitiría reorientar las secuencias de irrigación en endodoncia hacia un objetivo más biológico y bioquímico que biofísico.

Conflicto de intereses

Esta tesis no está asociada a alguna marca o empresa en particular, por lo que no posee conflictos de intereses.

X. RESUMEN

Introducción:

La desinfección del sistema de conductos radiculares (SCR) se divide en la remoción mecánica y el uso de agentes irritantes (AI). Diferentes secuencias de AI se han utilizado con el fin de lograr una mejor desinfección del SCR, destacando el uso alternado del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), suero fisiológico e Hipoclorito de Sodio (NaOCl). Según algunos autores, existe una eventual erosión dentinaria provocada al usar NaOCl luego de EDTA, la cual, podría optimizar la limpieza biológica del SCR, como alterar las propiedades físicas de la dentina. En este estudio indagaremos si distintos protocolos de AI (AI1:NaOCl-Suero-EDTA-Suero; AI2:NaOCl- Suero-EDTA-Suero-NaOCl-Suero) provocan alteración en la microdureza superficial de la dentina (MSD).

Materiales y Métodos:

Se obtuvieron 20 muestras de una selección aleatoria de 10 dientes humanos unirradiculados decoronados y cortados longitudinalmente. Montadas en acrílico de auto curado y posteriormente pulidas. Previo a la irrigación se realizaron 5 mediciones al lado izquierdo de la muestra, utilizando el microdurómetro de Vickers. 10 muestras fueron sometidas a la secuencia AI1 y las restantes se sometieron a la secuencia AI2. Al finalizar se realizaron 5 mediciones en el lado derecho de las muestras. Los datos se analizaron con la prueba de Wilcoxon.

Resultados:

Existen diferencias estadísticamente significativas entre la dureza medida pre-irrigación (control) y post-irrigación en ambos protocolos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre protocolos.

Conclusiones:

Ambas secuencias de AI provocan una disminución de la MSD de manera significativa. No existe una diferencia significativa en la disminución de la dureza al comparar ambas secuencias.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. *Irrigation in endodontics*. **Haapasalo M., Shen Y., Wang Z., Gao Y.** 6, 2014, British dental journal, Vol. 216, págs. 299-303.
2. —. **Haapasalo M. Shen Y., Quan W., Gao Y.** 1, 2010, Dent Clin N Am, Vol. 54, págs. 291-312.
3. *Quantitative Analysis of the Effect of Irrigant Solution Sequences on Dentin Erosion*. **Wei Qian, DDS, PhD, Ya Shen, DDS, PhD, Markus Haapasalo, DDS, PhD.** 10, Vancouver : Journal of endodontics, 2011, Vol. 37, págs. 1437–1441.
4. *Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin*. **BALDASSO, Flávia Emi Razera, ROLETO, Luana, SILVA, Vinicius Duval da, MORGENTAL, Renata Dornelles, & KOPPER, Patrícia Maria Poli.** Sao Paulo : s.n., 2017, Brazilian Oral Research, Vol. 31.
5. *Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: An in vitro study*. **V, Patil Cuppin.** 22, 2011, Indian Journal of Dental Research, Vol. 1, pág. 22.
6. *Histología y embriología bucodental*. **Gomez M, Campos A.** 1999, Medica Panamericana, págs. 175-225.
7. **Trowbridge H, Kim S.** *Vias de la pulpa* . Madrid, España. : 362 - 400, 1999.
8. **S., Friedman.** *Operatoria dental. Estetica y adhesión*. Buenos Aires : Grupo Guia SA, 2003.
9. **Pashley D, Walton R.** *Histología y Fisiología de la pulpa dental* . México : McGraw-Hill Interamericana , 1996.
10. **Cate, Ten.** *Histología oral. Desarrollo, estructura y función*. Buenos Aires : Medica Panamericana, 1986.
11. **R., Schwartz, J., Summitt y J., Robbins.** *Fundamentos en odontología operatoria : un logro contemporáneo*. Caracas : Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica, 1999.
12. **Henostroza.** *Adhesión en Odontología Restauradora*. 2003.
13. **V, Kirnosov.** *Medicion de fuerza y dureza*. La Habana : Pueblo y Educación, 1985.
14. *Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials*. **Wongkhantee, S. Patanapiradej V.** 3, 2006, Journal of dentistry, Vol. 34, págs. 214-220.
15. *Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use*. **M. Hulsmann, M Heckendorff.** 12, 2004, International Endodontic Journal, Vol. 36, págs. 810-830.

16. *Effectiveness of EDTA and EDTA-T brushing on the removal of root surface smear layer.* **Sampaio J., Rached R., Pilatti G. Theodoro L, Batista L.** 4, 2003, *Pesqui Odontol Bras*, Vol. 17, págs. 319-325.
17. *Smear Layer removal by EGTA.* **Calt S, Serper A.** 8, 2000, *Journal of endodontics*, Vol. 26, págs. 459-461.
18. **Soares, Goldberg.** *Endodoncia técnica y fundamentos.* Madrid : Medica Panamericana S.A., 2003.
19. **Endodontics, American Association of.** *Contemporary terminology for Endodontics.* Chicago : American Association of Endodontics, 1998.
20. **Jaquez B., Marcano C.** Carlos boveda Z. [En línea] 2001. [Citado el: 26 de Noviembre de 16.] www.carlosboveda.com/odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado-18.
21. **M., Leonardo.** *ENDODONCIA: Tratamiento de conductos radiculares.* Sao Paulo : Artes medicas latinoamericanas, 2005.
22. *Soluciones irrigadoras auxiliares para la preparacion del canal radicular.* **Pecora JD, Sousa-Neto MD. Estrela C.** 6, 1999, *Endodoncia: Principios biologicos y mecanicos*, Vol. 5, págs. 552-69.
23. **Estrela, C.** *Ciencia endodontica.* Sao Paulo : ARtes medicas limitadas, 2005.
24. *Root canal irrigants.* **Kandaswamy D., Venkateshbabu N.** 4, 2010, *Journal of conservative dentistry*, Vol. 13, págs. 256-264.
25. *Sodium hypochloride alterations of dentin and dentin collagen.* **Marshall G., Yucel N.** 3, 2001, *Surfance science*, Vol. 491, págs. 444-55.
26. *Influence of sodium hypochloride on the permeability and structure of cervical human dentine.* **Barbosa S., Safawi KE.** 2, 1994, *International endodontics journal*, Vol. 27, págs. 309-12.
27. *Effect of NAOCL treatment on bonding to root canal dentin using a new evaluation method.* **Ishizuka T, Kataoka H.** 3, 2001, *Dental Material Journal*, Vol. 20, págs. 24-33.
28. *Antagonistic interactions between sodium hypochloride, chlorhexidine, EDTA and citric acid.* **Rossi-Fedele G., Dogramaci E.** 4, 2012, *Journal of endodontics*, Vol. 38, págs. 426-31.
29. *Interaction between EDTA and sodim hypochloride: a nuclear magnetic resonance analysis.* **G., Grande N. Plotino.** 4, 2006, *Journal of endodontics*, Vol. 32, págs. 460-64.
30. *Influence of Ph changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions.* **Fedele G, Guastalli A.** 3, 2011, *International endodontic journal*, Vol. 44, págs. 792-99.

31. *Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions.* **Grawerh M, Sener B.** 5, 2003, International endodontics journal, Vol. 36, págs. 411-15.
32. *Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion.* **Y., Qian W. Shen, Haapasalo M.** 1, 2011, Journal of endodontics, Vol. 37, págs. 1437-41.
33. *Effect of EDTA and Citric Acid Solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin.* **S., eldeniz A. Erdemir A. Belli.** 2, Kirikkale : Journal of endodontics, 2005, Vol. 31.
34. *Comparative evaluation of effect of irrigation solutions with various exposure time on microhardness of root canal dentin (In Vitro study).* **Saleh, H. A. J.** Irak : Iraqui Dental Journal, 2016.
35. *Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin.* **Baldasso, F. Roletto L. Silva, V.** Brasilia : Brazilian Oral Research, 2017.
36. *microhardness and chemical composition of human tooth.* **J., Gutierrez-Salazar M. Reyes-Gasga.** 3, Mexico D.F. : Materials Research, 2003, Vol. 6.
37. *Microhardness of superficial and deep sound human dentin.* **Fuentes V, Toledano M, Osorio R.** 850-853, Sao Paulo : Journal of biomedical material research, 2003, Vol. 66A.
38. *Micromorphological and hardness analyses of human and bovine sclerotic dentin: a comparative study.* **J., Muassab G. Martins M. Barbosa.** 3, Sao Paulo : Brazilian Oral Research, 2011, Vol. 25.
39. **C., Sibbald B. Roberts.** *Understanding controlled trials: Crossover trial.* Londres : British Medical Journal, 1998.
40. *A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin.* **B., Saghiri M. Mehrvarzfar P. Dadresandar.** e29-e34, Tabriz : Oral surg Oral Med Oral P Athol Oral Radiol Endod., 2009, Vol. 108.
41. *Effects of chelating agents on the mineral content o root canal dentin.* **Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M.** 149-54, s.l. : Oral surgery, Oral Medicine, Oral pathology, Oral Radiology, and Endodontics., 2011, Vol. 112.
42. *Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin.* **Zhang K., Kim Y K., Cadenaro M.** s.l. : Journal of Endodontics., 2010.
43. *Caracterización de la dentina tratada endodónticamente.* **C., Torres L. Torres.** 2, Bogota : Revista facultad odontología Universidad de Antioquia, 2014, Vol. 25.
44. *Effect of EDTA, Sodium hypochlorite, and chlorhexidine gluconate with or without surface modifiers on dentin microhardness.* **Aslantas, E. E, Buzoglu H. Altundasar E.** s.l. : Journal of endodontics., 2014.

45. *Effect of QMix irrigant on the microhardness of root canal.* **Tuncer Kara, Tuncer S. Siso SH.** 163-168, Estambul : Australian Dental Journal, 2014, Vol. 60.
46. *Effect of super-oxidized water, sodyum hipochloroide and EDTA on dentin microhardness.* **K., Gishi A. Correa.** 5, 2014, Brazilian dental journal, Vol. 25, págs. 420-24.

XII. ANEXO

a. Con respecto a la selección de los donantes de muestras

La selección de pacientes que donaran sus dientes para la realización de este estudio se encuentra regulado en el Manual Operacional de Clínicas Odontológicas de la Universidad de Valparaíso, el cual en su punto 2 establece los tipos de pacientes que ingresan a la Unidad, que son, a modo de resumen: Consulta espontánea, autogestionados, convenios, iniciativa de extensión y SEMDA. Todos estos pacientes deben ser evaluados en la Unidad Clínica de Examen y Tratamiento (UCEOT), donde profesionales determinan las necesidades de tratamiento de los mismos y los derivan a las diferentes clínicas de la Unidad. Luego de eso, los pacientes siguen siendo examinados por profesores y estudiantes y son derivados dentro de las clínicas de la Unidad, según las necesidades emergentes que se pueden encontrar en la red de derivación interna.

Los pacientes de este estudio en específico son los que se encontrarán en las clínicas de cirugía de cuarto y quinto año de la Escuela de Odontología de la Universidad de Valparaíso, cuyo requisito de ingreso para la atención en esta clínica es que los dientes requieran la extracción terapéutica de dientes o restos radiculares.

Para efectos de este estudio las condiciones sistémicas del paciente no son factores influyentes por lo que el único criterio de exclusión de los pacientes es su capacidad de consentir voluntariamente ser donante para el estudio, de esta forma, no se trabajará con donaciones de pacientes menores de 18 años ni con pacientes con capacidades especiales. Las características fisiológicas del paciente no alteran el proceso metodológico.

El formulario de Consentimiento Informado de la donación del diente será aplicado por los tratantes de las clínicas mencionadas y no se tendrá quienes no participan como equipo investigador y son sólo apoyo para el reclutamiento.

b. Consentimiento informado



Folio 0000

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL USO DE DIENTES EXTRAÍDOS EN LA INVESTIGACIÓN TITULADA "EVALUACIÓN IN VITRO DEL CAMBIO DE LA MICRODUREZA SUPERFICIAL DE LA DENTINA ANTE DOS PROTOCOLOS DE IRRIGACIÓN ENDODÓNTICO. "

Este formulario tiene dos partes:

- La hoja informativa
- El certificado de consentimiento (para registrar su autorización)

Recibirá una copia de este formulario completo

Parte 1: Hoja informativa

El estudio dirigido por el Dr. Carlos Marchant Pizarro, docente de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso, es una investigación que tiene como objetivo estudiar el efecto de los líquidos que se usan en un diente durante un tratamiento de Endodoncia (tratamiento de conductos) en cuanto a su dureza, a modo tal de poder evaluar el efecto de los mismos y su relación con las posibilidades de una restauración post-tratamiento de endodoncia, lo que podrá optimizar protocolos y mejorar los resultados de los tratamientos odontológicos. Los resultados de este estudio podrán ser difundidos en la Escuela de Odontología, sin embargo, es importante hacer notar que esta donación es de carácter anónimo y no se relacionará el diente a su persona ni a sus datos en ningún caso. Los datos personales de este Consentimiento Informado no serán utilizados en ningún tipo de estudio y sólo tendrá acceso a ellos el investigador responsable.

Para esta investigación es necesario dientes o restos de estos con indicación de extracción porque no pueden ser mantenidos en boca debido al daño que presentan o por indicaciones del dentista que lo atiende. Estos dientes serán desinfectados, esterilizados, y luego se les aplicará un medicamento desinfectante. Luego serán sometidos a una prueba de dureza en un laboratorio en la Universidad Santamaría.

La donación del diente (o resto de éste) es anónima, por lo que su nombre y rut sólo quedará registrado en este consentimiento. Después de ser donado, su diente entrará en un almacenamiento común, del cual no podrá ser reconocido y

por lo tanto no podrá ser devuelto a su donante. Este almacenamiento común de dientes se mantendrá custodiado y bajo llave por el Dr. Carlos Marchant Pizarro. Terminada la investigación que dura un año, su diente será eliminado.

Es importante que sepa que la investigación realizada no tiene beneficios para usted. A sí mismo, no se pagará ni se dará otro incentivo por el o los dientes entregados para esta investigación. La donación es completamente voluntaria y si decide no donar su diente, no afectará sus tratamientos en la Escuela de Odontología.

Esta investigación cuenta con la aprobación del Comité Ético- Científico de la Universidad de Valparaíso (CEC-UV), que se encarga de revisar todas que se encarga de revisar todas las investigaciones que se realizan con seres humanos y velar por que se protejan los derechos de quienes participan en investigación. El CEC-UV es presidido por Dra. Eva Madrid. Si desea realizar alguna consulta puede comunicarse con la secretaria del CEC-UV Srta. Mariana Rodríguez al teléfono 32-2603136 o al email de contacto es cec.uv@uv.cl,

Si tiene alguna duda posterior a la firma de este documento puede hacerlo comunicándose con la Dr. Carlos Marchant Pizarro, Docente de la Cátedra de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Valparaíso. Subida Carvallo 211, Playa Ancha, Valparaíso, Teléfono: 32 2508520 - email: carlos.marchant@uv.cl

Firma del investigador responsable:

Parte 2. Certificado de Consentimiento para diente extraído

He leído la información, o se me ha leído. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y se me ha respondido satisfactoriamente. Consiento de manera voluntaria a disponer de mi diente de la manera y para los propósitos indicados previamente en este formulario.

NOMBRE DEL PACIENTE

FIRMA DEL PACIENTE

FECHA (DÍA/MES/AÑO)

Si es analfabeto:

He atestiguado la lectura precisa de este formulario de consentimiento informado al paciente, quien ha tenido la posibilidad de realizar preguntas. Confirmando que el individuo ha dado su consentimiento de manera libre.

NOMBRE DEL TESTIGO

FIRMA DEL TESTIGO

FECHA (DÍA/MES/AÑO)

HUELLA DIGITAL DEL PACIENTE



DECLARACIÓN DEL PROFESIONAL

He leído de manera precisa la hoja informativa al paciente y me he preocupado que el paciente comprenda lo siguiente:

1. Para qué se utilizará el diente a donar y la ficha
2. Que no se utilizarán datos personales de identificación en esta investigación
3. Que se resguardarán los dientes bajo llave y estos no serán identificables.

Confirmando que el paciente tuvo la posibilidad de realizar preguntas acerca de los objetivos de la investigación y uso de su diente. Todas las preguntas fueron respondidas de manera correcta. Confirmando que el individuo otorgó su consentimiento de manera libre y voluntaria.

Se entregó una copia de este consentimiento al paciente

Nombre del profesional que realiza el procedimiento de exodoncia

c. Uso de datos personales del paciente y el anonimato de su donación.

Los pacientes no participaran de ninguna forma en el estudio y los únicos datos personales que se obtendrán serán los necesarios para la firma del consentimiento informado. Lo único que se utilizara que pertenezca a los pacientes serán los dientes, que una vez obtenidos estos, los datos del paciente no serán utilizados para ningún otro fin. Además, los dientes serán ingresados a un almacenamiento común por lo que no podrá reconocerse a quién pertenecen, en otras palabras, la donación será anónima, no se utilizarán los datos de los donantes y estos sólo serán conservados por el investigador responsable, sin la posibilidad de enlazar el diente donado con la persona donante.

d. Difusión de los datos y a los beneficios directos o indirectos para el paciente

Es necesario considerar que la difusión de estos resultados se realizará en la Escuela de Odontología con el fin de perfeccionar protocolos y futuras investigaciones en pro de la mejora de los protocolos de tratamiento rehabilitador de los dientes, según la información que se logre obtener. La difusión de los datos se realizará en la cátedra de Endodoncia y será compartida con las cátedras de rehabilitación, de modo tal de ser información útil para ambas especialidades.

De esta forma los resultados de la investigación darán orientaciones técnicas para revisar los protocolos de irrigación endodóntica en los dientes en el tratamiento de endodoncia, así como la posible rehabilitación de los pacientes, es por esto que esta investigación beneficia a las comunidades que se atienden en las Clínicas odontológicas de la Universidad de Valparaíso. Al considerar que los pacientes donantes de los dientes son pacientes de la Escuela, este primer paso de estudio in vitro para el mejoramiento de protocolos y procedimientos dentro de la Escuela, puede convertirse en un beneficio indirecto a largo plazo.

e. Carta aprobación Comité de ética Universidad de Valparaíso



Comité Ético-científico
Universidad de Valparaíso
CEC-UV

Valparaíso, 07 de Julio de 2017.

Estimado Investigador:

Junto con saludar, nos dirigimos a usted para comunicarle la resolución del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad de Valparaíso CEC-UV, en relación a su proyecto CEC152-17 "Evaluación in vitro del cambio de la microdureza superficial de la dentina ante dos protocolos de irrigación endodóntico" presentado para revisión.

Después de haber sido analizado en sesión ordinaria del día 07 de julio de 2017, el Comité de Ética Científica, ha aprobado su protocolo y consentimiento informado. En esta comunicación usted está recibiendo los siguientes documentos:

ACTA DE APROBACIÓN: Debe conservarla ya que le será requerida durante el seguimiento del estudio, y deberá mencionarla en las publicaciones originadas por su proyecto. Esta acta sólo da cuenta de la aprobación del estudio presentado, pero en caso de cualquier enmienda o variación de su protocolo, este Comité debe ser informado en forma inmediata.

CONSENTIMIENTO INFORMADO APROBADO: Debe fotocopiarlo o imprimirlo y foliarlo. Este consentimiento sólo es válido con el timbre del Comité de Ética y así le será requerido en caso de seguimiento del proyecto. Se le recuerda que según la ley vigente todo consentimiento debe contener además la firma de la persona encargada del lugar donde se realiza la investigación.

RESPONSABILIDADES DEL INVESTIGADOR: Debe firmar su recepción. Le rogamos leerlas cuidadosamente, ya que debe cumplirlas en todo momento durante la ejecución de su protocolo aprobado. Según la legislación vigente los Comités Ético-Científicos están facultados para detener la ejecución de cualquier proyecto de investigación en caso de incumplimiento.

Sin otro particular lo felicitamos y deseamos el mayor éxito durante la ejecución de su proyecto.



Eva Madrid

Presidenta Comité de Ética Científica Universidad de Valparaíso.

f. Carta de respaldo institucional para investigación



Valparaíso, 11 de Mayo de 2017

Carta de respaldo institucional para investigación

La Dirección de Escuela de Odontología - Universidad de Valparaíso, autoriza el desarrollo de la investigación "EVALUACIÓN IN VITRO DEL CAMBIO DE LA MICRODUREZA SUPERFICIAL DE LA DENTINA ANTE DOS PROTOCOLOS DE IRRIGACIÓN ENDODÓNTICO " a ejecutarse en las dependencias de esta unidad académica, en el marco del desarrollo de la asignatura Seminario de tesis I y II, 2016 -2017.

La investigación tiene como responsable al Dr. (a) **Carlos Marchant Pizarro** e investigadores asociados a **Aitziber Irigoyen, Sofía Santís e Iván Soto**.

Esta investigación requiere (marque con una X)

	SI	NO
Interacción con Seres Humanos (SSH)		X
Experimentación o intervención clínica, farmacológica, ortopédica u otra en SSH		X
Investigación in vitro (que no implique directamente al SH)	X	
Investigación con registros clínicos identificables (Fichas, Modelos, exámenes Imagenológicos, fotografías, otros.)		X
Muestras biológicas (sangre, saliva) u otros registros histológicos identificables		X
Investigación en desechos biológicos (dientes extraídos)	X	
Otros elementos de bioseguridad		X

Se extiende esta carta de respaldo para ser presentada en Comité de Bioética Institucional.


PROF. DR. ANTONIO RADICH M.
DIRECTOR DE ESCUELA

- g. Carta de aceptación comité de ética Facultad de odontología, Universidad de Valparaíso.

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA
Comité de Revisión
Proyectos de Investigación

Valparaíso, 05 de Junio de 2017

Sr.
Prof. Dr. Carlos Marchant
Presente

De nuestra consideración:


Se realizó la evaluación de su Proyecto de Investigación titulado "Evaluación in vitro de la influencia de 2 protocolos de irrigación en la resistencia estructural de la dentina", no encontrándose reparos desde el punto de vista metodológico. Presenta, además, los antecedentes necesarios para su evaluación ética. Por tanto, esta Comisión considera que puede presentarlo al Comité Ético-Científico y al Comité de Bioseguridad de la Universidad.

Atentamente,



Prof. Dr. Ricardo Moreno Silva
Presidente
Comité de Revisión
Proyectos de Investigación
Facultad de Odontología

h. Protocolo de bioseguridad aprobado Facultad de Odontología 2017

**Universidad de Valparaíso**
CHILE

Dirección de Investigación
Comité de Bioseguridad

Versión mayo 2015

SOLICITUD DE CERTIFICADO DE BIOSEGURIDAD PARA PROYECTOS DE INVESTIGACION

(PREVIO AL LLENADO DE ESTE FORMULARIO, LEA LAS INSTRUCCIONES EN PAGINAS ANTERIORES)

PRIMERA SECCION: ANTECEDENTES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

1. **TÍTULO:** Evaluación in vitro del cambio de la microdureza superficial de la dentina, ante dos protocolos de irrigación endodóntico

2. **FONDO E INSTITUCION** No aplica, tesis de pregrado odontología
• (Señale nombre del concurso e institución a la que postula. En lo posible, trate de no utilizar siglas o acrónimos).

3. **INVESTIGADOR RESPONSABLE:** Indicar unidad académica y datos de contacto (al menos email).
Dr. Carlos Marchant
Email: Carlos.marchant@uv.cl

4. **INVESTIGADOR ALTERNO:** Indicar unidad académica y datos de contacto.
Aitziber Irigoyen
Email: Aitziber.irigoyen@gmail.com

5. **COINVESTIGADORES:** Indicar unidad académica y datos de contacto.
Sofía Santis Lorza
Sofia.santis.lorza@gmail.com
Iván Soto
Ivansoto12@gmail.com

(Señale nombre completo, correo electrónico, dirección y unidad académica de los investigadores responsables, alternos y co-investigadores según corresponda).

6. **DEPENDENCIA(S) DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAISO DONDE SE DESARROLLARA LA INVESTIGACION** Universidad de Valparaíso, Facultad de Odontología
• (Señale nombre del laboratorio, anexo correspondiente y unidad académica donde se realizará la investigación).

Uso interno del Comité

Código/numeración de solicitud	
Fecha de recepción solicitud	
Fecha emisión de Certificado	
Fecha de Seguimiento	

Blanco 951 Valparaíso | Fono-Fax: +56 (32) 260 3132 | www.uv.cl

7. RESUMEN DEL PROYECTO.

Debe explicar el problema y plantear en forma explícita la hipótesis (si es que la hay) y objetivos. Señale brevemente materiales y métodos. Esta sección debe tener una extensión máxima de una página. Trate de no utilizar siglas o acrónimos o indique entre paréntesis el significado de ellos.

7.1 Planteamiento del problema e Hipótesis

La correcta preparación y limpieza de los conductos radiculares es de suma importancia en el tratamiento de endodoncia, para lograrlo no solo es necesaria la instrumentación mecánica de estos, sino también el uso de sustancias químicas. La irrigación del sistema de conductos radiculares es una etapa fundamental en el tratamiento de endodoncia, ya que esta, además de eliminar el detritus que va dejando la instrumentación mecánica, permite desinfectar zonas y conductos accesorios que la instrumentación en sí, no logra por la compleja anatomía radicular. Diversas sustancias químicas son utilizadas para lograr lo expuesto anteriormente, dentro de las cuales se describen el suero fisiológico, la clorhexidina y existen dos que son fundamentales para el tratamiento, el hipoclorito de sodio (NaOCl) y el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).⁹

Actualmente es necesario usar una secuencia de distintos irrigantes para llevar a cabo una mejor desinfección y preparación del sistema de conductos radiculares. Se ha demostrado que el protocolo que incluye las etapas secuenciales de NaOCl-EDTA-NaOCl es una de las combinaciones que presenta mayores índices de efectividad en la remoción de materia orgánica e inorgánica presente en el sistema de conductos radiculares sometidos a tratamiento endodóntico. Sin embargo la combinación de EDTA y NaOCl genera erosión de la dentina, ya que cuando se aplica NaOCl inmediatamente después de EDTA, existe una pérdida de calcio y fósforo en la estructura dentinaria. Esto ocurre porque al usar EDTA quedan expuestas fibras de colágeno, y al ser aplicado inmediatamente NaOCl estas son disueltas, modificando estructuralmente la dentina. Esto podría llegar a un debilitamiento de la estructura del diente, disminuyendo la microdureza superficial de la dentina, pudiendo comprometer su restauración y durabilidad a futuro.⁷

Esta situación nos deja en la encrucijada de tener que decidir entre lograr una desinfección total y efectiva de los conductos causando una mayor erosión, o bien lograr una buena desinfección más no perfecta, pero manteniendo más íntegro el diente. Para poder tomar una decisión es necesario saber si ese aumento de la erosión dentinaria provoca una disminución en la microdureza que sea lo suficientemente significativa, como para que el protocolo NaOCl-EDTA-NaOCl no deba ser utilizado.

Debido a que el objetivo del tratamiento endodóntico es crear un sustrato biológico viable de ser rehabilitado y mantenido, y que las problemáticas descritas en el párrafo precedente impiden que se cumpla eventualmente este rol, entonces cabe preguntarse si ¿El cambio estructural de la dentina producido durante el protocolo de irrigación de NaOCl posterior a la aplicación de EDTA, es un factor que disminuya la microdureza de la dentina de

forma significativa, en comparación al protocolo NaOCI-Suero-EDTA-Suero?

En la actualidad, no existen estudios que midan la disminución de la microdureza de la dentina, sometida a la secuencia de irrigantes antes descrita, por lo que este estudio contribuiría a nuevos conocimientos para mejorar los protocolos de irrigación endodóntica.

Hipotesis: La resistencia estructural de la dentina es menor al irrigar con el protocolo de irrigación hipoclorito 5% - EDTA 18%- Hipoclorito 5% - Suero 0,9% que con hipoclorito 5% - suero 0,9%- EDTA 18% - suero 0,9%.

7.2 Objetivos

a. Objetivo general

Evaluar el efecto de dos secuencias de irrigantes endodónticos en la microdureza superficial de la dentina

b. Objetivos específicos

1. Determinar mediante el test de microdureza de Vicker la resistencia de la dentina de dientes sometidos a dos diferentes protocolos de irrigación endodóntica.
2. Comparar la dureza estructural de las muestras antes y después de ser sometidas a cada secuencia de irrigación endodóntica.
3. Comparar la dureza estructural de muestras de dentina sometidas a ambas secuencias de irrigación endodóntica.

7.3 Materiales y métodos

1.- *Diseño de estudio:* experimental controlado in vitro ciego simple

2.- *Universo/Muestra*

Todos los dientes extraídos de la clínica odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso durante el año 2017. Para determinar la muestra se elabora un CI a cada paciente dando conocimiento de que será utilizado en un estudio. Además, se darán criterios de inclusión/exclusión con la finalidad de estandarizar los objetos de estudio.

4.- *Muestra*

El cálculo del tamaño muestral fue obtenido mediante la fórmula:

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times S^2}{d^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha} = 1,645$
 $Z_{\beta} = 0,842$
 $S^2 = 23,96$
 $d^2 = 40,07$
 $n = 7,39$

Los datos iniciales se obtuvieron del estudio de Patil CR. Y Uppin V.¹ Se utilizará una desviación estándar de 4,895, y un valor mínimo de disminución de 6,33 HVN. Se consideró un nivel de confianza de 95% ($\alpha:0,05$) y una potencia de 80% ($\beta:0,20$), Aplicando la fórmula de contraste de hipótesis para dos medias.

Variabilidad esperada según bibliografía: 4,895

Instrumento de Medición

Máquina de microdureza de Vickers.

Análisis Estadístico

Primero debemos determinar si los resultados son homogéneos o no homogéneos, y para lo cual debemos realizar la prueba de Bartlett y posteriormente para el análisis de normalidad utilizaremos la prueba de Shapiro-Wilks.

En el caso que las pruebas nos arrojen que los resultados son paramétricos, utilizaremos la prueba de T pareada

En el caso que las pruebas nos arrojen resultados no paramétricos, utilizaremos la prueba de Wilcoxon

Para los análisis estadísticos, utilizaremos el software Stata 12.0

5.- Procedimiento Metodológico

i. ETAPA 1: Recolección dentaria

10 dientes unirradiados definitivos humanos, serán recolectados de un total de los dientes extraídos en la clínica de cirugía II y III de la Escuela de Odontología de la Universidad de Valparaíso, durante el año 2017. Cada paciente autorizará el uso de su diente para fines académicos mediante la firma de un consentimiento informado (anexo 1).

Una vez obtenidos, serán conservados en frascos de vidrio con suero fisiológico 0,9% a temperatura ambiente.

Una vez seleccionados los dientes, se eliminarán los restos de tejido orgánico e inorgánico presente en la superficie radicular, mediante el uso de curetas e irrigación con suero. Posteriormente serán esterilizados mediante calor húmedo.

ii. ETAPA 2: Preparación dentaria

Los dientes serán montados por la corona en acrílico de autocurado en recipiente de plástico. En esta etapa las muestras serán rotuladas del 1 al 10, para codificar los dientes. Posteriormente cada muestra será cortada de forma longitudinal por la máquina de cortadora de precisión a baja velocidad IsoMet 4000.

Luego, las muestras serán decoronadas a nivel de la unión cemento-esmalte usando la misma cortadora de precisión a baja velocidad IsoMet 4000.

Posteriormente, las 20 muestras serán montadas longitudinalmente con acrílico de autocurado en anillos de cobre, exponiendo la zona interna de la raíz, de manera paralela al piso. En esta etapa las muestras serán nuevamente rotuladas del 1 al 10, agregando el sufijo A y B, de forma aleatoria, el cual designará a que protocolo de irrigantes será sometido

iii. ETAPA 3: Medición de control con prueba de microdureza de Vicker

Previo a la irrigación de las muestras, estas serán medidas bajo el test de microdureza de Vicker, mediante un operador, aplicando muescas a 200um desde la porción coronal hasta 1mm antes de la porción apical, con una distancia entre cada muesca de 400um y a 50um de distancia del conducto radicular. Esta medición se realizará a la izquierda del conducto radicular, aplicando una fuerza de 300mg por un tiempo dwell de 20 segundos obteniendo así el promedio de la microdureza de la dentina sin ser sometida a los protocolos.

iv. ETAPA 4: Irrigación

Las muestras de cada subgrupo, serán sumergidas en recipientes de vidrio conteniendo las soluciones irrigadoras, de acuerdo a los siguientes protocolos y secando las muestras entre cada solución:

Grupo A Protocolo Hipoclorito de sodio - suero - EDTA - suero: Sumergimos las muestras en la solución de hipoclorito de sodio al 5% por 10 minutos, luego es sumergida en suero 0.9% por 15 segundos, seguido es sumergido en solución EDTA al 18% por 60 segundos y para finalizar es sumergido en suero 0.9% por 1 minuto.

Grupo B Protocolo Hipoclorito de sodio - EDTA - Hipoclorito de sodio - suero: Sumergimos las muestras en solución de hipoclorito de sodio al 5% por 10 minutos, luego es sumergido en solución EDTA al 18% por 60 segundos, posteriormente es sumergido en hipoclorito de sodio al 5% por 1 minuto y para finalizar es sumergido en suero 0.9% por 1 minuto.

Para evitar la contaminación de las soluciones irrigadoras, estas serán cambiadas de los recipientes, entre una muestra y otra. Al final del procedimiento, las muestras serán secadas con papel absorbente. Todo el procedimiento será realizado con guantes de látex y lentes de protección ocular.

v. ETAPA 5: Prueba de microdureza Vicker

Las muestras serán sometidas mediante un operador que desconoce a qué protocolo de irrigantes fue sometida la muestra, a un test de microdureza de Vicker (ciego simple). Aplicando muescas a 200um desde la porción coronal hasta 1mm antes de la porción apical, con una distancia entre cada muesca de 400um y a 50um de distancia del conducto radicular. Esta medición se realizara a la derecha del conducto radicular, aplicando una fuerza de 300mg por un tiempo dwell de 20 segundos obteniendo así el promedio de la microdureza de la dentina sin ser sometida a los protocolos.

vi. ETAPA 6: Recolección de datos

Los datos entregados por la máquina de microdureza Vicker serán ingresados en el software Microsoft Excel 2013 ordenados del 1 al 10 A y B respectivamente.

Bibliografía:

- (1) Patil CÜppin V. Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: An in vitro study. Indian Journal of Dental Research. 2011;22(1):22.

SEGUNDA SECCION: VALORACION DE ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

1.	En esta investigación se utilizarán cultivos de microorganismos patógenos y/o no patógenos. VER EN MANUAL CONICYT NIVEL DE BIOSEGURIDAD DE VIRUS Y VECTORES VIRALES PÁG. 37-43; BACTERIAS Y HONGOS PÁG. 104-107; FITOPATÓGENOS PÁG. 108-115.	SI	NO X
1a.	<i>Si su respuesta es SI, indique el nombre de cada microorganismo y su nivel de bioseguridad según Manual de CONICYT.</i>		
1b.	<i>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos que utilizará para manejarlos y desecharlos.</i>		
1c.	<i>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar el material empleado en los cultivos</i>		
1d.	<i>Si su respuesta es SI, describa la infraestructura y los equipos de protección personal que se utilizarán durante este procedimiento.</i>		
1e.	<i>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar los elementos de protección personal contaminados.</i>		
2.	En esta investigación se realizará manipulación genética de microorganismos. VER EN MANUAL CONICYT NIVEL DE BIOSEGURIDAD DE VIRUS Y VECTORES VIRALES PÁG. 37-43; BACTERIAS Y HONGOS PÁG. 104-107; FITOPATÓGENOS PÁG. 108-115.	SI	NO X
2a.	<i>Si su respuesta es SI, indique el nombre de cada microorganismo y su nivel de bioseguridad según Manual de CONICYT.</i>		
2b.	<i>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos que utilizará para manejarlos y desecharlos</i>		
2c.	<i>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar el material</i>		

	empleado en la manipulación genética.		
2d.	Si su respuesta es SI, describa la infraestructura y los equipos de protección personal que se utilizarán durante el procedimiento.		
2e.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar los elementos de protección personal contaminados.		
3.	En esta investigación se utilizarán cultivos celulares.	SI	NO X
3a.	Si su respuesta es SI, indique tipo y origen de las líneas celulares utilizadas.		
3b.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos que utilizará para manejarlos y desecharlos (medios de cultivo, líneas celulares, etc).		
3c.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar el material empleado en los cultivos.		
3d.	Si su respuesta es SI, describa la infraestructura y los equipos de protección personal que se utilizarán durante el procedimiento.		
3e.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar los elementos de protección personal contaminados.		
4.	En esta investigación se realizará manipulación genética de células u organismos.	SI	NO X
4a.	Si su respuesta es SI, indique el procedimiento, tipo de células u organismos y vectores.		
4b.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos que utilizará para manejar y desechar medios de cultivo, células y organismos.		
4c.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar el material empleado para la manipulación genética.		
4d.	Si su respuesta es SI, describa la infraestructura y los equipos de protección personal que se utilizarán durante el procedimiento.		
4e.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar los elementos de protección personal contaminados.		
5.	En esta investigación se utilizarán medicamentos y otras sustancias químicas. Declare toda sustancia química a utilizar en cualquiera de las fases de la investigación.	SI	NO
5a.	Si su respuesta es SI, indique el nombre de cada sustancia química señalando su potencial riesgo según MANUAL CONICYT PAG 125-135 . Señale para cada sustancia la concentración, volumen o masa total a utilizar.	X	

	<p>Hipoclorito de sodio: 500ml. No categorizado en manual CONICYT. EDTA: 100ml. Compuesto grado 1 de riesgo según manual CONICYT.</p>					
5b.	<p>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos que utilizará para manejar y desechar los residuos químicos producidos.</p> <p>Para la manipulación de las sustancias, utilizaremos guantes, mascarilla, lentes de protección y delantal para proteger a los operadores de dichos elementos. Posterior al uso, la eliminación se efectuará desechando los elementos directamente al desagüe con las medidas de seguridad antes mencionadas.</p>					
5c.	<p>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar el material empleado con los medicamentos y/o sustancias químicas.</p> <p>Para la manipulación de las sustancias, utilizaremos guantes, mascarilla, lentes de protección y delantal para proteger a los operadores de dichos elementos. Posterior al uso, la eliminación se efectuará desechando los elementos directamente al desagüe con las medidas de seguridad antes mencionadas.</p>					
5d.	<p>Si su respuesta es SI, describa la infraestructura y los equipos de protección personal que se utilizarán durante el procedimiento.</p> <p>Para la manipulación de las sustancias, utilizaremos guantes, mascarilla, lentes de protección y delantal para proteger a los operadores de dichos elementos.</p>					
5e.	<p>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar los elementos de protección personal contaminados.</p> <p>Debido a que los productos anteriormente mencionados de seguridad no se contaminaran con elementos biológicos, pueden ser desechados en la basura común.</p>					
6.	En esta investigación se utilizará material radioactivo.	<table border="1"> <tr> <td>SI</td> <td>NO</td> </tr> <tr> <td></td> <td>X</td> </tr> </table>	SI	NO		X
SI	NO					
	X					
6a.	<p>Si su respuesta es SI, indique el nombre de cada material radioactivo señalando su potencial riesgo según MANUAL CONICYT PAG 116.</p>					
6b.	<p>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos que utilizará para manejar y desechar los residuos radiactivos producidos.</p>					
6c.	<p>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar el material contaminado con radiactividad.</p>					
6d.	<p>Si su respuesta es SI, describa la infraestructura y los equipos de protección personal que se utilizarán durante el procedimiento.</p>					

6e	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar los elementos de protección personal contaminados.		
7.	En esta investigación se utilizará material cortopunzante o material de vidrio que pueda generar riesgo.	SI	NO X
7a.	Si utilizará material cortopunzante: describa los procedimientos que utilizará para manejar y desechar el material utilizado y/o generado.		
7b.	Si utilizará material de vidrio: describa los procedimientos que utilizará para manejar y desechar el material quebrado.		
8.	En esta investigación se utilizarán y/o generarán desechos biológicos (muestras de tejidos y/o fluidos biológicos humanos, de animales de experimentación u otros organismos).	SI	NO X
8a.	Si su respuesta es SI, indique tipo de muestras utilizadas o desechos generados. Dientes humanos extraídos en clínica de cirugía II, Escuela de Odontología, Universidad de Valparaíso.		
8b.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos que utilizará para manejar y desechar los residuos biológicos generados. Para la manipulación de los dientes, utilizaremos guantes, mascarilla, lentes de protección y delantal para proteger a los operadores de dichos elementos. Las muestras, una vez usadas, serán desechadas en una bolsa plástica, que a su vez será depositada en un recipiente de desechos biológicos que se encuentra en las dependencias de la clínica B de la facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso.		
8c.	Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar el material contaminado con residuos biológicos. Para la manipulación de los dientes, utilizaremos guantes, mascarilla, lentes de protección y delantal para proteger a los operadores de dichos elementos. Las muestras, una vez usadas, serán desechadas en una bolsa plástica, que a su vez será depositada en un recipiente de desechos biológicos que se encuentra en las dependencias de la clínica B de la facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso. Estos elementos posteriormente son recogidos por la empresa Stericycle Chile para su posterior eliminación definitiva.		
8d.	Si su respuesta es SI, describa la infraestructura y los equipos de protección personal que se utilizarán durante el procedimiento Para la manipulación de los dientes, utilizaremos guantes, mascarilla, lentes de protección y delantal para proteger a los operadores de dichos elementos.		

8e.	<p><i>Si su respuesta es SI, describa los procedimientos para manejar, desechar o reutilizar los elementos de protección personal contaminados.</i></p> <p><i>Debido a que los productos anteriormente mencionados de seguridad se contaminaran con elementos biológicos, serán eliminados en el recipiente de desechos biológicos que se encuentra en las dependencias de la clínica B de la facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso. Estos elementos posteriormente son recogidos por la empresa Stericycle Chile para su posterior eliminación definitiva.</i></p>		
9.	Esta investigación utilizará dispositivos o equipos generadores de agentes físicos tales como temperaturas extremas, presiones extremas, ruido, radiaciones UV, IR, RX.	SI	NO X
9a	Si su respuesta es SI, indique tipo de dispositivos o agentes físicos.		
9b	Si su respuesta es SI, describa las medidas preventivas y equipos de protección personal que utilizará para mitigar los riesgos asociados a estos agentes físicos.		
10.	En esta investigación se contempla el traslado de muestras biológicas o químicas que forman parte de la investigación (no corresponde a residuos para desecho).	SI	NO X
10a	<p><i>Si su respuesta es SI, describa los medios de traslados y las precauciones que tomará para evitar derrames, pérdidas o fugas durante el transporte que puedan ser de riesgo para el investigador, la comunidad o el medio ambiente.</i></p> <p><i>Las muestras serán transportadas en un recipiente de plástico herméticamente cerrado y rotulado como "muestras tesis irrigantes"</i></p>		
11.	Señale aquí cualquier antecedente adicional que sea de interés para la evaluación de bioseguridad.		

TERCERA SECCION: COMPROMISO DEL GRUPO DE INVESTIGACION.

Los investigadores individualizados en la primera página de esta solicitud, declaran haber leído el Manual de Bioseguridad de CONICYT versión 2008 en los tópicos atinentes a su proyecto y se comprometen a seguir las indicaciones de dicho Manual relacionadas con su

proyecto, así como las normas descritas en el Reglamento de Higiene y Seguridad de la Universidad de Valparaíso (Decreto exento 1239 del 28 de mayo de 2003).


Los investigadores declaran también que toda la información descrita en este formulario es fidedigna y sin omisiones, comprometiéndose a presentar al CB-UV cualquier modificación al protocolo para una nueva certificación.

Firma el investigador responsable en representación del grupo:

(Si el proyecto es en colaboración con otras universidades, firma el investigador responsable de la Universidad de Valparaíso).

Nombre, firma y fecha

Dr. Carlos Marchant.



CUARTA SECCION. TOMA DE CONOCIMIENTO DEL DECANO.

Nombre, firma (timbre) y fecha

CONFLICTOS DE INTERES

Si considera que existen conflictos de interés con algún integrante del CB-UV y que esto lo inhabilite para certificar este proyecto, señálelo a continuación con la justificación correspondiente. Esta información será considerada estrictamente confidencial, por lo mismo, no incluya esta hoja en su formulario sino que envíela en un sobre cerrado, a nombre la Coordinación de Bioética y Bioseguridad DIUV.

No existe conflicto de interés en esta investigación

SOBRE LA SOLICITUD DE CERTIFICADO DE BIOSEGURIDAD PARA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

1. Se entiende por bioseguridad la aplicación sistemática de un conjunto de buenas prácticas y barreros de contención, que garantice que la exposición a sustancias químicas, microorganismos patógenos, organismos genéticamente modificados, material clínico contaminado con patógenos, factores físicos como ruido y radiaciones y otros, sean de riesgo controlado para los investigadores y el medio ambiente.

2. Todo protocolo de investigación que implique riesgo físico, químico y/o biológico para las personas y el medio ambiente, y que se desarrolle en dependencias de la Universidad de Valparaíso, deberá ser sometido a evaluación por el Comité de Bioseguridad de la Universidad de Valparaíso, C8-UV. Aquellos investigadores y personal que trabajen de manera directa con animales de experimentación y/o material biológico potencialmente infeccioso, deben considerar su inmunización con las vacunas correspondientes (tétanos, hepatitis B, entre otras).

3. Si el proyecto es presentado en colaboración con unidades académicas de otras universidades, esto deberá ser indicado en el formulario. No obstante, solo se certificará la bioseguridad de aquellas actividades que se desarrollen en dependencias de la Universidad de Valparaíso.

4. La solicitud deberá presentarse en español.

5. El C8-UV actuará conforme al Reglamento del Comité de Bioseguridad para la Investigación de la Universidad de Valparaíso (Decreto Exento 5595 del 17 de noviembre de 2011). De esta forma, una vez recibida la solicitud, se procederá a evaluar el protocolo experimental según las normas establecidas en el Reglamento de Higiene y Seguridad de la Universidad de Valparaíso (Decreto exento 1239 del 28 de mayo de 2003), el Manual de Bioseguridad de CONICYT, Decreto Supremo 148 de manejo de residuos publicado el 2004, Decreto supremo 6 sobre manejo de residuos de establecimientos de atención de salud (REAS) publicado el año 2009, entre otros documentos que pueden encontrarse en la página web de la Dirección de Investigación, en su apartado **procesos**.

6. En caso de que el protocolo de investigación no sea aceptado en primera instancia, el investigador podrá presentar nuevos elementos a consideración. El Presidente del Comité de Bioseguridad se comunicará con el investigador responsable de la solicitud, especificando aquellos aspectos que deben ser modificados y/o aclarados.

7. Este formulario considera la toma de conocimiento del Decano de cada Facultad. Considere que si la solicitud se modifica, deberá ser nuevamente visada por el Decano.

Clotilde S. Lopez Quiñán
19-05-2017

Enviar copia electrónica de este formulario (en pdf) a comite.bioseguridad@uv.cl con copia a certificados.investigacion@uv.cl y a cindy.pena@uv.cl. Dado que la Universidad de Valparaíso no cuenta con un sistema de verificación de firma electrónica, se requiere también el documento impreso y con firmas originales, el cual debe ser enviado a la Dirección de Investigación en sobre cerrado dirigido a PRESIDENTE DEL COMITÉ DE BIOSEGURIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAISO