



**DETECCIÓN IN VITRO DE PARACLOROANILINA EN EL PRECIPITADO  
FORMADO POR LA INTERACCIÓN QUÍMICA DE MEZCLAS BINARIAS  
ACTIVADAS DE DISTINTOS IRRIGANTES UTILIZADOS EN LA  
CÁTEDRA DE ENDODONCIA DE LA UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO**

**Trabajo de Investigación  
requisito para optar al  
Título de Cirujano Dentista**

**Alumnos: Carla Carpo Joustra  
Constanza Rodríguez Herrera**

**Docente Guía: Prof. Dr. Carlos Marchant Pizarro  
Cátedra de Endodoncia**

**Valparaíso- Chile**

**2015**

## **Agradecimientos**

Con el profundo anhelo de agradecer a todo aquel que fue participe en el desarrollo de esta tesis en primer lugar a Dios y a todos los que, con buena disposición y profesionalismo dispusieron tiempo y esfuerzo. Docentes, familia y amigos.

Deseamos honrar a nuestros padres por la paciencia empatía y buena disposición a lo largo de nuestra carrera universitaria. A nuestros hermanos y amigos por el apoyo cariño a través del tiempo y en especial a:

Dr. Carlos Marchant Pizarro Por ser nuestro docente guía y siempre confiar en el proyecto.

Luis Roa Por la disposición y aporte en el área de química analítica.

Carolina Valdebenito Por la gestión y contactos para la realización del estudio.

## Índice

Introducción .....	1
Marco teórico.....	3
1.-Dinámica de los fluidos.....	3
2.-Aspectos químicos de los irrigantes .....	4
3.-Irrigantes Endodónticos .....	4
4.-Activación de Irrigantes.....	8
5.-Interacciones entre los Irrigantes .....	9
6.-Aplicación de Química analítica para la detección de moléculas mediante espectrometría de masas.....	11
Objetivos e Hipótesis.....	14
Materiales y métodos .....	15
Resultados.....	19
Discusión .....	26
Conclusiones.....	30
Resumen .....	31
Bibliografía.....	32

# Introducción

La endodoncia, palabra que proviene del griego ένδο: dentro; όδών: diente, corresponde a la especialidad de la odontología dedicada a extirpar la pulpa dental vital o necrótica para su posterior reemplazo con un material obturador. Este procedimiento se divide en varias etapas, dentro de éstas, la limpieza y conformación que es de gran relevancia e importancia clínica. Dicha etapa se caracteriza por la remoción del contenido orgánico e inorgánico del sistema de conductos radiculares (SCR).

En los últimos años, y con el desarrollo de la tecnología que ha ocurrido durante los mismos, se han desarrollado diferentes investigaciones con el fin de optimizar los tratamientos que realizamos en nuestros pacientes. Con respecto a lo que a endodoncia se refiere, no solo se ha facilitado la mecánica del tratamiento sino que además, se ha logrado mejorar el pronóstico final de supervivencia de los casos tratados.

La limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares es uno de los factores predictores del éxito más importantes dentro de la endodoncia, dicho procedimiento comprende la eliminación del tejido pulpar, el detritus dentinario y de los microorganismos infecciosos; cualquier falta en el procedimiento anterior podría derivar en el fracaso del tratamiento por reinfección, debido a lo anterior, se han incorporado nuevas técnicas e instrumentos cuyo objetivo primordial es permitir debridar de forma mecánica el sistema de conductos radiculares durante la etapa de la Preparación Biomecánica (PBM), sin embargo, la anatomía del sistema de conductos es compleja, y tiene sectores donde es imposible realizar la correcta eliminación mecánica de los tejidos infectados, por este motivo la irrigación adquiere un rol fundamental en los procedimientos endodónticos, ya que el agente irrigante debe ser capaz de penetrar en los lugares donde la instrumentación mecánica fue ineficiente, además de brindar otros beneficios al tratamiento como es la limpieza por arrastre, lubricación y disolución del tejido orgánico; convirtiendo así la PBM en una preparación más bien químico-mecánica.

A través del tiempo se han utilizado múltiples agentes irrigantes, la disponibilidad de ellos en el mercado, así como las características diferenciales que estos presentan han hecho necesario estudiar e investigar las características y propiedades que tienen en lo particular. En general, se busca que los químicos utilizados como irrigantes cumplan con las siguientes características ideales:

- Antimicrobiano de amplio espectro.

- Alta eficacia contra anaerobios y anaerobios facultativos organizados en biopelículas.
- Solvente de tejidos como restos necróticos de la pulpa.
- Habilidad para inactivar endotoxinas bacterianas.
- Capacidad de prevenir la formación de barro dentinario o disolverlo en caso de que se generará.
- Biocompatible.

Dado que ningún irrigante disponible en la actualidad cumple con todos los requisitos expresados anteriormente, se han creado protocolos de irrigación basados en el sinergismo entre los diferentes compuestos químicos, intentando con esto mejorar la efectividad de los irrigantes. No obstante lo anterior, es necesario tener en cuenta que cualquier uso de componentes químicos en el mismo sistema pudiera generar reacciones nocivas o de inactivación que terminarían, en último caso, disminuyendo o anulando el efecto benéfico de los irrigantes, es por esta razón que se hace necesario indagar más sobre las posibles interacciones químicas y subproductos que puedan afectar el éxito de nuestros tratamientos. Ya existen estudios donde se investigaron estas interacciones químicas donde algunos autores describen la formación de paracloroanilina (PCA) compuesto tóxico reconocido por la Agencia internacional para la investigación del Cáncer (IARC), como potencialmente carcinogénico para los humanos <sup>(1)</sup>. Pero no todos los trabajos al respecto han sido capaces de detectarla, es por ello que cabe preguntarnos ¿existirán compuestos tóxicos como PCA en las interacciones químicas de los irrigantes utilizados en la cátedra de endodoncia de la Universidad de Valparaíso?

## Marco teórico

### 1.- Dinámica de los fluidos

La acción combinada de los instrumentos endodónticos con la irrigación busca remover restos orgánicos, inorgánicos, microorganismos y los subproductos del sistema de conductos radiculares para dar la forma definitiva previa a la obturación<sup>(2)</sup>. Para comprender mejor las propiedades de los irrigantes, es necesario precisar que todos los irrigantes utilizados en endodoncia son sustancias líquidas que siguen las mismas leyes físicas que cualquier líquido no compresible. Los fluidos no compresibles, como es el caso de los líquidos en un sistema cerrado tienden a generar dos tipos de movimiento que denominaremos flujos que en esta situación, puede ser laminar o turbulento. Entenderemos por laminar cuando las partículas del líquido se mueven de forma paralela entre sí y turbulento cuando las partículas pierden este orden (fig.1). Dado que las paredes de los conductos, en nuestro caso el contenedor, no son completamente lisas se mezclan estos dos flujos lo cual es muy beneficioso ya que genera mayor limpieza por remoción mecánica.

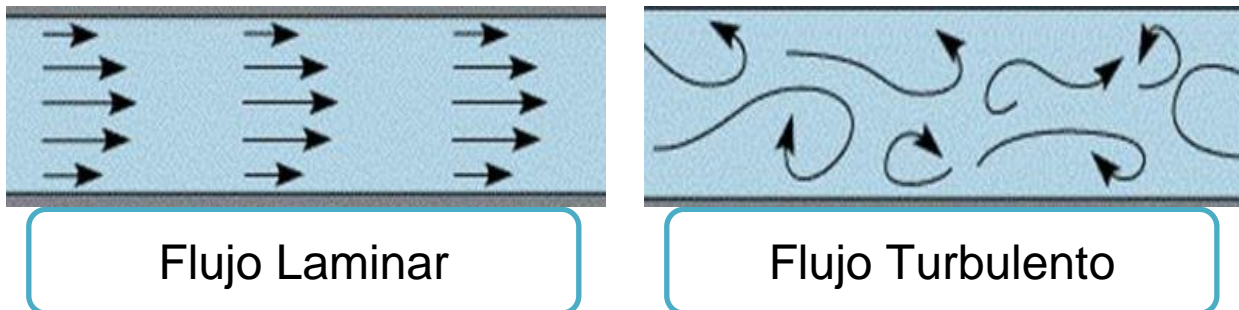


Figura 1: Representación de Flujos<sup>(3)</sup>.

## 2.-Aspectos químicos de los irrigantes

Los irrigantes endodónticos son disoluciones líquidas, que corresponden a mezclas homogéneas de dos o más sustancias donde el soluto es el que se encuentra en menor cantidad y el solvente en mayor cantidad. La solubilidad es un concepto que relaciona ambos, se define como máxima cantidad de un soluto que se puede disolver en una determinada cantidad de disolvente a una temperatura específica <sup>(4)</sup>.

La solubilidad de un soluto puede ser clasificada en soluble o insoluble. En el caso de este último el producto insoluble es denominado precipitado.

Las sustancias pueden interactuar para formar una o más sustancias nuevas fenómeno conocido como reacción química, dentro de éstas se encuentran las reacciones en disolución acuosa que corresponde a aquellas que ocurren en un medio acuoso, las cuales son de nuestro interés ya que son las que podrían ocurrir en las combinaciones de los irrigantes endodónticos. Podemos clasificarlas en tres tipos:

- Reacciones de Precipitación: Se caracteriza por la formación de un producto insoluble o precipitado que es un sólido que se separa de la disolución, en general en este tipo de reacciones participan compuestos iónicos.
- Reacciones Ácido-Base: Corresponde a la donación de protones que se efectúa entre un ácido quien dona protones y una base que es capaz de aceptarlos.
- Reacciones de Oxidación-Reducción o Redox: es aquella donde existe un intercambio de electrones considerando aquel que dona como agente reductor y quien los acepta como agente oxidante, este tipo de reacción no sólo ocurren en medios acuosos <sup>(4)</sup>.

## 3.- Irrigantes Endodónticos

### 3.1 Hipoclorito de Sodio

Corresponde al irrigante más popular y Patrón de oro en la Endodoncia. Se utiliza en variadas concentraciones siendo los más comunes 2.6% y 5.25%. Hay variados estudios donde se discute la concentración ideal para lograr una desinfección óptima del sistema de conductos radiculares, siendo el segundo el más efectivo contra *E. Faecalis* <sup>(5)</sup>.

A pesar de su popularidad, el hipoclorito ha demostrado ser tremendamente citotóxico, Al tomar contacto con tejido vital causa hemólisis, necrosis, ulceración, inhibe migración de neutrófilos daña endotelio y fibroblastos. Por ende se debe tener especial cuidado durante su utilización para evitar la extrusión de este irrigante hacia el tejido periapical.

La reacción se describe en el siguiente esquema:



El ácido Hipocloroso ( $\text{HOCl}^-$ ) se mezcla con tejido orgánico actuando como solvente y libera cloro, que se combina con el grupo amino formando cloraminas. El ácido hipocloroso y el ion hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) provocan la degradación e hidrólisis de aminoácidos. La acción solvente del hipoclorito en el sistema de conductos se debe a la disolución del colágeno que causa la degradación de la dentina, ya que al romperse las uniones entre átomos de carbono conlleva la desorganización de la estructura proteica primaria, esta característica está fuertemente influenciada por el pH, ya que en circunstancias, donde este baja, tiende a volatilizarse en gas cloro perdiendo la capacidad de disolución <sup>(6)</sup>.

Desventajas del uso de hipoclorito

- Corrosión de los materiales
- Posibles extrusión
- No Aprobado FDA
- Altamente irritante
- Citotóxico

### 3.2 EDTA: Ácido EtilenDiaminoTetraAcético

El EDTA corresponde a un quelante, esto quiere decir, que tiene una gran capacidad de fijar con firmeza iones metálicos, y se ha comprobado que tiene alta afinidad con el calcio, de esta manera desmineraliza la dentina <sup>(7)</sup>.

Durante la Preparación Biomecánica se produce una capa de 2-5  $\mu\text{m}$  de detritus denominada Smear Layer. Esta capa se compone por tejido necrótico, microorganismo y limalla dentinaria. El EDTA debido a sus propiedades y su mecanismo de acción se utiliza para la remoción del Smear Layer actuando mediante la descalcificación de la hidroxiapatita causando desmineralización de la dentina radicular.

Dado que el EDTA actúa sobre la matriz inorgánica, es incapaz de eliminar en su totalidad el barro dentinario y debe utilizarse en combinación con un proteolítico como el Hipoclorito de Sodio para lograr eliminar la matriz orgánica y así permeabilizar los túbulos dentinarios <sup>(8)</sup>.

El EDTA se utiliza a una concentración del 17% y varios protocolos recomiendan su uso por máximo un minuto para remover efectivamente el smear layer pero a la vez evitando una descalcificación exagerada de la dentina, sin embargo nuevos estudios demuestran que este tiempo es insuficiente para la eliminación total de la capa de detritus y que es necesario su uso por mínimo 3 minutos, siendo los 7 minutos donde se logra la remoción completa del barro dentinario permeabilizando completamente los túbulos con poca o nada de alteración de la dentina <sup>(9)</sup>.

#### Desventajas de EDTA

- Discutida toxicidad al tejido periapical
- Posibilidad de descalcificación severa de la dentina

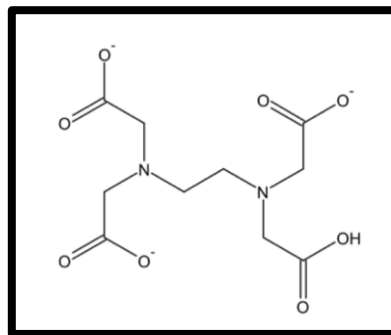


Figura 2: Estructura EDTA <sup>(10)</sup>.

### 3.3 Clorhexidina

Corresponde a un compuesto bisguanido su mecanismo de acción es a nivel de la membrana celulares de las bacterias ya que interactúa con los fosfolípidos y lipopolisacáridos alterando el equilibrio osmótico. Es usado en concentraciones entre 0.1% al 2% siendo esta última la más utilizada como alternativa o en forma alternada con el Hipoclorito de Sodio, pero con la desventaja que este irrigante es incapaz de disolver materia orgánica <sup>(11)</sup>.

Dentro de las principales propiedades de la Clorhexidina se destaca, la Sustantividad, liberación sostenida del componente activo de una sustancia, la cual depende de la concentración de clorhexidina y el tiempo presente en el diente. Es un compuesto antimicrobiano de amplio espectro que trabaja de manera óptima a un pH 5.5. Estudios han comprobado su eficacia contra *Enterococos Faecalis* <sup>(5)</sup>.

Desventajas

- No disuelve tejidos
- Se inactiva en presencia de sangre
- Tinción dentaria

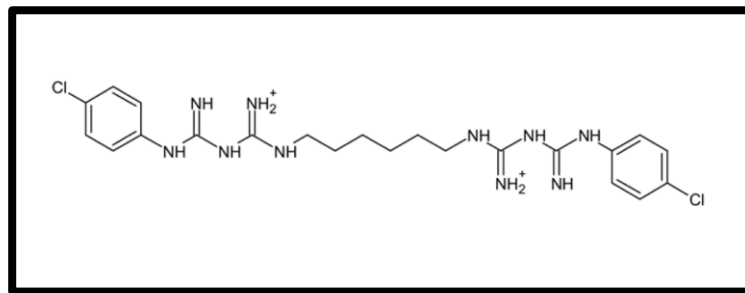


Figura 3: Estructura de la Clorhexidina <sup>(10)</sup>.

### 3.4 Agua destilada

Corresponde a agua purificada por destilación de manera que se eliminan sales disueltas y otros compuestos <sup>(12)</sup>.

Desventajas

- Solo limpia por efecto de arrastre
- No posee efecto antibacteriano ni disolución de tejido

### 3.5 Suero fisiológico

Solución de cloruro sódico hipertónico. En endodoncia es utilizado para controlar hemorragia durante biopulpectomias y también como agente de limpieza entre el uso de distintos irrigates.

Ha sido recomendado por pocos investigadores, como un líquido irrigador que minimiza la irritación y la inflamación de los tejidos. En concentración isotónica, la solución salina no produce daños conocidos en el tejido <sup>(13)</sup>.

## Desventajas

- No posee efecto antibacteriano y de disolución de tejido
- Se contamina fácilmente
- Depende solo del efecto mecánico

## 4.- Activación de Irrigantes

La irrigación endodóntica convencional (con jeringas) ha sido ampliamente aceptada en la comunidad odontológica como un método eficiente de irrigación, pese a que se ha demostrado que los irrigantes llevados a los conductos por este medio, avanzan solo 1 mm más allá de la punta de la jeringa dificultando la irrigación <sup>(14)</sup>. Es por ello que se han propuesto diferentes técnicas de activación de los irrigantes. Dentro de estas técnicas se incluyen: la activación con conos de gutapercha, láser, cepillos, técnica de irrigación con presión negativa y dispositivos de ultrasonidos <sup>(15)</sup>. Debido a que es la más utilizada y estudiada, nuestro estudio se enfocará en la activación ultrasónica.

En el caso de irrigación convencional con jeringas, el flujo de las moléculas del irrigante, hacia su objetivo es principalmente mediante el principio de difusión, donde el movimiento e interacción depende netamente del gradiente de concentración y de la temperatura. Mientras que en la irrigación activada, se genera movimiento del irrigante, produciendo un flujo continuo de moléculas denominado principio de convección, este provoca no solo un aumento de la velocidad de interacción, sino también una mejora en su eficiencia <sup>(16)</sup>. Esto provoca una mejor remoción de detritus sobre las paredes del sistema de conductos radiculares.

En las publicaciones sobre la utilización del ultrasonido para activar el irrigante, la frecuencia de este varía entre los 25-45 kHz durante 1 min a 3 min con dispositivos piezoeléctricos. Al utilizar este método se generan dos fenómenos: el Streaming acústico, que es el movimiento del fluido en forma de vórtice alrededor del instrumento y la cavitación, que corresponde a la formación de burbujas de aire, producto de los movimientos oscilantes que al colapsar y explotar, generan presión y calor de manera localizada. Se ha determinado también que al utilizar este método de activación aumenta la temperatura de la solución, lo cual provoca un aumento en la energía cinética de sus moléculas, las cuales contactarán más rápido y producirá su efecto en un tiempo menor. Se ha descrito aumentos hasta de 10°C <sup>(17)</sup>.

Estos fenómenos ayudarán al debridamiento de la materia orgánica e inorgánica, además de aumentar la eliminación de bacterias encontradas dentro del sistema de conductos radiculares <sup>(18)</sup>.

Dentro del apartado de activación de forma ultrasónica, surge el término irrigación pasiva ultrasónica (PUI, siglas en inglés). Denominado así por el hecho de que su uso se limita a ciclos cortos y no varía la morfología de las paredes del conducto, aunque entre en contacto con ellas. Consiste en transmitir la energía de su punta inactiva al irrigante que es el que realmente trabaja. Es por ello que se lleva a cabo luego de terminar la conformación del sistema de conductos <sup>(19)</sup>.

## **5.- Interacciones entre los Irrigantes**

En general las soluciones irrigantes al ser introducidas en el sistema de conductos no son eliminadas en su totalidad, siempre quedan residuos y como resultado de esto se combinan los irrigantes en su interior, formando subproductos los cuales pueden ser precipitados que pueden ocluir los túbulos dentinarios formando barreras entre el material obturador y la superficie dentinaria, aumentando de esta forma el riesgo de infiltración coronal (o apical) y/o ser tóxicos para el organismo <sup>(20)</sup>.

En los estudios realizados sobre el tema se han utilizados espectrómetro de masas, cromatografía de gases espectrofotometría y espectroscopía por resonancia nuclear magnética <sup>(20-21)</sup>.

### **5.1 Interacción entre NaOCl y Clorhexidina**

En esta combinación Kuruvilla sugiere que el efecto antimicrobiano del NaOCl y de la Clorhexidina usados de forma alternada es mejor que, cuando cada irrigante es usado por sí solo. El protocolo sugerido es, utilizar el NaOCl durante la instrumentación y luego se utiliza el CHX como irrigación final <sup>(22)</sup>. Sin embargo la presencia de NaOCl en el conducto durante la irrigación con CHX produce una reacción que genera un precipitado denso de color café anaranjado de carácter insoluble. Algunos autores describen la presencia de un compuesto tóxico en la mezcla denominado Paracloroanilina.

#### **Paracloroanilina**

La Paracloroanilina corresponde a un compuesto  $\text{NaC}_6\text{H}_4\text{Cl}$  tóxico reconocido por la Agencia internacional para la investigación del Cáncer (IARC), como potencialmente carcinogénico para los humanos<sup>(1)</sup>. Que ha demostrado nefro y hepatotoxicidad y posiblemente genotóxica <sup>(24)</sup>, contiene iones Ca, Fe, Mg, que oxidan fácilmente formando flóculos de color café independiente de las concentraciones de los irrigantes utilizados<sup>(23)</sup>.

Esta descrito que se forma mediante la reacción ácido base entre el NaOCl y CHX, Formando  $\text{NaC}_6\text{H}_4\text{Cl}$ . La formación de este subproducto también se explica

porque la clorhexidina es un ácido dicátionico, con la habilidad de donar los protones. NaOCl es alcalino con la capacidad de aceptar los protones desde la CHX. Este intercambio de protones resulta en el precipitado <sup>(24)</sup>.

Si varían las concentraciones de los irrigantes cambia la intensidad o saturación del color del precipitado observado <sup>(23)</sup>.

Además esta reacción cubre la superficie del canal ocluyendo significativamente los túbulos dentinarios afectando la medicación y sellado del conducto radicular y además su color podría afectar la estética<sup>(23)</sup>.

Pese a lo expuesto anteriormente se han encontrado estudios donde este subproducto no es formado <sup>(20,25-26)</sup>, y otro donde sospecho de su presencia en bajas cantidades en la mezcla CHX-EDTA <sup>(10)</sup>.

## **5.2 Interacción entre NaOCL y EDTA**

Al combinarlos, el EDTA afecta la capacidad de disolución de tejido orgánico del Hipoclorito, ya que no hay Clorina libre en esta combinación, por lo que muchos investigadores han recomendado su uso por separado, en un régimen alternado, en donde se recomienda usar copiosas cantidades de NaOCl al final, para eliminar los remanentes del EDTA <sup>(27)</sup>.

Es un tipo de reacción redox, siendo el grupo oxidado el Hipoclorito, en ella ocurre un burbujeo que es evidencia de la reacción exotérmica, y el gas evaporado es gas de cloro y oxígeno no viéndose afectadas las propiedades del EDTA <sup>(6,11)</sup>.

## **5.3 Interacción entre EDTA y Clorhexidina**

Como resultado de esta mezcla se produce una reacción redox donde la clorhexidina se oxida, y se forma un precipitado blanco lechoso donde el 90% corresponde a la mezcla y menos de un 1% a paracloroanilina, que no todos los estudios lo detectan, es decir, no se degrada pero las repercusiones clínicas son desconocidas <sup>(5-6,10)</sup>.

Aún se desconocen qué repercusiones clínicas, ya que no hay evidencia de cuánto de este precipitado se adhiere a la dentina radicular, y si podría o no afectar en el sellado apical <sup>(10)</sup>.

## **5.4 Interacción entre Clorhexidina y Suero Fisiológico**

En estudios recientes se ha demostrado que la combinación de estos produciría un precipitado de sal <sup>(20)</sup>.

## 6. Aplicación de Química analítica para la detección de moléculas mediante espectrometría de masas

En Endodoncia durante la etapa de irrigación, pueden ocurrir varias interacciones a nivel molecular, que a simple vista se visualiza como la formación de gases y/o precipitado sólido. Este último puede contener compuestos que afecten de manera negativa al pronóstico de tratamiento o bien producir efectos nocivos sobre los tejidos biológicos del paciente.

Para determinar exactamente estos compuestos del precipitado se recurre a la química analítica. Esta área utilizan variadas técnicas e instrumentos para la detección de los compuestos de los subproductos.

El método más exacto para determinar composiciones moleculares, corresponde a la espectrometría de masas. Funciona mediante un bombardeo con un haz de electrones de alta energía a la muestra a estudiar, la cual se encuentra en estado gaseoso<sup>(4)</sup>. Las colisiones entre los electrones y los moléculas que componen la muestra en estado gaseoso producen iones positivos en forma de aducto que es una especie química cuyas entidades moleculares están formadas por combinación directa de de dos entidades moleculares separadas, de manera tal que hay un cambio de uniones pero no de átomos<sup>(28)</sup>. Posteriormente cada ion positivo, de masa  $m$  y carga  $z$  ( $m/z$ ) es acelerado al pasar entre dos placas con cargas opuestas. Los iones acelerados son separados y desviados por un imán.

El radio de la trayectoria depende de la relación entre la masa y la carga. Los iones con menor relación masa/carga describen una curva con mayor radio que los iones que tienen una relación mayor, de manera que se pueden separar los iones de cargas iguales pero de distintas masas. La masa de cada ion o molécula original se determina por la magnitud de su desviación<sup>(4)</sup>.

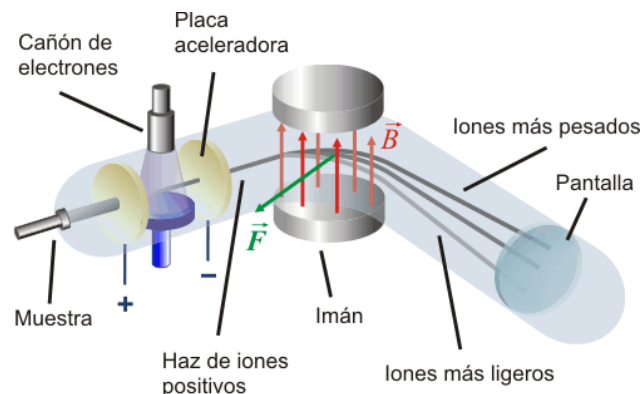


Figura 4: Espectrómetro de masas<sup>(29)</sup>.

Un espectro de masas es producido por la separación de estos iones en el espectrómetro de masas con respecto a la relación  $m/z$ , de esta manera se puede detectar la proporción de cada espectro en relación a su abundancia en la muestra. Los espectros de masas generados del análisis de una muestra son representado mediante gráficos, donde el peak más alto denominado peak de base corresponde a la molécula del subproducto encontrada en mayor cantidad. A este se le asocia de manera arbitraria un 100% de abundancia relativa. La abundancia de los otros peaks más pequeños son determinado de manera proporcional al peak de base <sup>(30)</sup>.

En el gráfico el eje x representa la relación masa carga de cada espectro de masa y es denominado  $m/z$ . El eje y corresponde a la intensidad de la carga, que guarda directa relación con la cantidad del ion presente en la muestra.

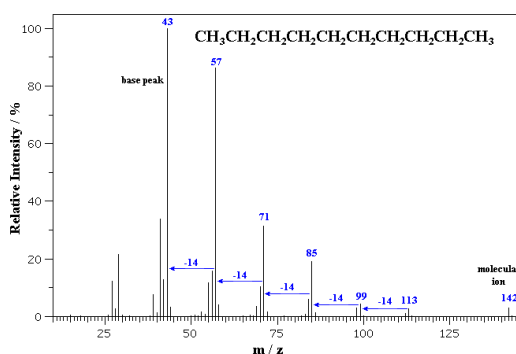


Figura 5: Grafico espectrómetro de masas <sup>(31)</sup>.

Existen variados modelos de espectrómetros, pero todos tienen los mismos elementos:

1. Entrada de muestra
2. Fuente de iones
3. Analizador de masas
4. Detector
5. Sistema de procesador de datos

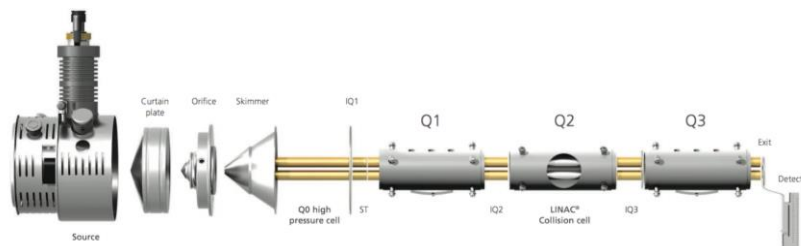


Figura 6: espectrómetro 3200 QTRAP® <sup>(32)</sup>

Dentro de los espectrómetros de masa usados en Chile, encontramos el 3200 QTRAP® LC/MS/MS. Este instrumento tiene adosada la función de utilización de

cromatografía líquida (LC) y 3 cuadrupolos como analizadores de masa en tándem (MS/MS). Sin embargo su uso depende del objetivo de los estudios a realizar <sup>(32)</sup>.

El límite de detección del instrumento, depende de la abundancia de los iones de la muestra a mayor abundancia, mayor intensidad de la señal y de esta manera se logra aumentar el límite de detección en algunos casos hasta niveles de attomoles ( $10^{-18}$  mol).

Como todo instrumento de detección o medición, el espectrómetro también es susceptible a error. Estos errores pueden ser de orden externa al instrumento que se minimizan aumentando el número de la misma muestra, como errores de cálculo en las medidas de las muestras o de su manejo en el espectrómetro.

Otros errores que ocurren con mínima frecuencia son aquellos que pueden estar asociadas al funcionamiento del instrumento en sí. Por razones estadísticas cada intensidad de señal lleva consigo un pequeño error intrínseco. Este error es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del número de iones detectados en esa señal. Existen más fuentes de error asociada al espectrómetro de masas, pero todas sin incluir el error mínimo estadístico son manejadas con el método interno estandarizado, el cual genera una curva de calibración utilizando moléculas con propiedades similares a las que se quieren detectar previo al estudio <sup>(30)</sup>.

# Objetivos e Hipótesis

## 1.-Objetivo General

Detectar presencia de paracloroanilina en los compuestos del precipitado de los subproductos resultantes de variadas mezclas binarias, activadas mediante ultrasonido, de diferentes soluciones definidas como irrigantes intraconducto por la cátedra de Endodoncia de la Universidad de Valparaíso.

## 2.-Objetivo específico

- Observar formación de precipitado sólido, producto de la interacción química, entre las mezclas binarias activadas de forma ultrasónica formadas entre Hipoclorito de Sodio al 5%, EDTA 10%, Suero fisiológico 0,9%, Clorhexidina 2% y Agua Destilada.
- Describir características físicas del precipitado sólido de las soluciones creadas entre las mezclas binarias activadas de forma ultrasónica formadas entre Hipoclorito de Sodio al 5%, EDTA 10%, Suero fisiológico 0,9%, Clorhexidina 2% y Agua Destilada.
- Identificar los compuestos del subproducto en aquellas interacciones donde se forme precipitado sólido entre las mezclas binarias activadas de forma ultrasónica formadas entre Hipoclorito de Sodio al 5%, EDTA 10%, Suero fisiológico 0,9%, Clorhexidina 2% y Agua Destilada.
- Detectar presencia de Paracloroanilina en las mezclas binarias activadas de forma ultrasónica.

## 3.-Hipótesis

Existe formación de compuestos tóxico tal como la paracloroanilina en la mezcla binaria del Hipoclorito de Sodio 5% con la Clorhexidina al 2% no así en el resto de las mezclas.

## Materiales y métodos

### 1.-Diseño de la investigación:

En esta investigación el diseño es experimental *in vitro*, donde la variables a manipular son las interacciones entre los irrigantes activados, para observar las reacciones y subproductos producto de ellas.

Se eligió este tipo de estudio, porque es inviable realizar un estudio de química analítica *in vivo*.

### 2.-Muestra/Universo:

El universo corresponde a todos las posibles mezclas entre los diversos irrigantes utilizados en la Cátedra de Endodoncia de la Escuela de Odontología de la Universidad de Valparaíso. Para determinar la muestra se elaboran mezclas binarias entre todos los irrigantes a estudiar. Se decide realizar triplicado (n=3) de las mezclas por los protocolos de química analítica para optimizar la seguridad del estudio.

Para determinar la muestra se elaboran mezclas binarias entre todos los irrigantes a estudiar (ver Tabla I). Se decide realizar triplicado (n=3) de las mezclas por los protocolos de química analítica para optimizar la seguridad del estudio.

Mezcla	Solución 1	Solución 2
1	Hipoclorito de sodio 5%	EDTA 17 %
2	Hipoclorito de sodio 5%	Clorhexidina 2 %
3	Hipoclorito de sodio 5%	Cloruro de sodio 0,9 %
4	Hipoclorito de sodio 5%	Agua destilada
5	EDTA 10 %	Clorhexidina 2 %
6	EDTA 10 %	Cloruro de sodio 0,9 %
7	EDTA 10 %	Agua destilada
8	Clorhexidina 2%	Cloruro de sodio 0,9 %
9	Clorhexidina 2%	Agua destilada
10	EDTA 10 %	Agua bidestilada
11	Hipoclorito de sodio 5%	Agua bidestilada
12	Clorhexidina 2%	Agua bidestilada

Tabla I: Composición mezclas binarias

### 3.-Variables:

Variable	Tipo		
Mezclas Binarias	Cualitativa	Nominal	Independiente
Formación de precipitado sólido	Cualitativa	Dicotómico	Dependiente
Característica física del precipitado sólido	Cualitativa	Nominal	Dependiente
Compuesto del subproducto	Cualitativa	Nominal	Dependiente
Presencia de Paracloroanilina	Cualitativa	Dicotómico	Dependiente

Tabla II: Variables

### Definiciones Conceptuales y operacionales:

#### 3.1 Mezcla Binaria

**Definición Conceptual:** Agregación o incorporación de dos sustancias o cuerpos entre sí.

**Definición Operacional:** Agrupación de dos irrigantes endodónticos de manera *in vitro* (Tabla 1).

#### 3.2 Formación de precipitado sólido

**Definición Conceptual:** Sedimentación de un material sólido de una disolución líquida <sup>(28)</sup>.

**Definición Operacional:** Presencia o ausencia de precipitado en la mezcla binaria, bajo el método ojo desnudo, graficado en una tabla dicotómica de la forma presencia sí/no.

#### 3.3 Característica física del precipitado sólido

**Definición Conceptual:** Corresponde a las cualidades propias del sólido <sup>(28)</sup>.

**Definición Operacional:** Color del precipitado de las mezclas

#### 3.4 Compuesto del subproducto

**Definición Conceptual:** Producto secundario o incidental, generalmente útil y comercializable, derivado de un proceso de manufactura o reacción química, que no es el producto primario o el servicio que se produce.

**Definición Operacional:** Producto(s) secundario(s) diferente a los utilizados originalmente, generado posterior a la interacción físico-química y activación ultrasónica de las mezclas binarias, que se identifica a nivel molecular a través del análisis del espectrómetro de masas.

### 3.5 Presencia de Paracloroanilina

**Definición Conceptual:** Es un compuesto  $\text{NaC}_6\text{H}_4\text{Cl}$  tóxico reconocido por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), como potencialmente carcinogénico para los humanos <sup>(1)</sup>.

**Definición Operacional:** Que en el gráfico de análisis se detecte el espectro de masa de 128,3 una coincidente con la molécula paracloroanilina.

## 4.- Muestra

Se obtuvieron 12 mezclas binarias que fueron triplicadas ( $n=3$ ) entre los irrigantes comerciales comúnmente usados en endodoncia: hipoclorito de sodio 5%, EDTA 10% (alfa dental), clorhexidina 2% (Villevie) y suero fisiológico 0,9 % (Sanderson), además de agua destilada(Sanderson) y bidestilada.

Para realizar las mezclas se tomó una alícuota de 1 ml de la solución 1 y se mezcló con 1 ml de la solución 2 en un tubo de centrifuga de 15 ml (proporción 1:1) para dar un volumen final de 2 ml.

## 5.-Procedimiento Metodológico

Una vez realizadas las 12 mezclas ( $n=3$ ) cada mezcla fue agitada en un vortex digital por 5 minutos, se dejó reposar por 5 minutos y se observó la presencia de precipitados en cada uno de los tubos, a continuación los tubos fueron centrifugados por 5 minutos a 5.000 r.p.m.

En los tubos donde se observó la presencia de precipitado se descartó el sobrenadante y se solubilizó cada precipitado formado en 2 mL de una solución de acetonitrilo + agua con 0,1 % de ácido fórmico (vehículo para ingresar las muestras líquidas al espectrómetro de masas). Se llevó a baño de ultrasonido continuo por 5 minutos para optimizar y completar el proceso de disolución, a continuación se centrifugaron las muestras a 5.000 r.p.m, cada sobrenadante se filtró por membrana de 0,22  $\mu\text{m}$  y se procedió a su análisis instrumental por espectrometría de masas

Para descartar la presencia de interferentes y contaminantes en la zona de monitoreo de masas se realizó una infusión de la solución. Entre muestras fue lavado el sistema con la solución del vehículo de infusión.

El estudio se llevó a cabo por el químico analítico Luis Roa Marin en el laboratorio de cromatografía avanzada SGS

### **Análisis instrumental**

Cada una de las muestras donde se observó la presencia de precipitado e independientemente si pudo ser solubilizado fue analizado el sobrenadante (vehículo de infusión) por espectrometría de masas. Las condiciones de la fuente de iones del espectrómetro fueron: un voltaje de capilar de 3500 Volt, una temperatura de 100 ° C, gases auxiliares GS1 y GS2 ambos en 20 unidades arbitrarias. La bomba de infusión se fijó a un flujo de 25 µL/ min. La colección de datos fue realizada en el intervalo de masas de entre 90 a 1000 m/z, en modo MCA colectando 10 espectros de masas sucesivos y aditivos.

### **Análisis Estadístico**

Este fue realizado por el software Analyst 1.5 propio del instrumento (Espectrómetro de masas 3200 Qtrap LC-MS/MS), que procesa e interpreta los datos cualitativa/cuantitativamente de manera simultánea. Tiene la facultad de transformar las intensidades de los iones a datos que pueden ser analizados, tabulados y visualizados en gráficos para cada muestra ingresada.

### **6.- Aprobación Comité de Bioseguridad**

El presente estudio fue aprobado por el comité de bioseguridad de la Universidad de Valparaíso

## Resultados

### 1.- Descripción física de las interacciones de las mezclas binarias posterior activación por ultrasonido.

En la tabla a continuación se muestra que la solución del tubo N°2 de Hipoclorito de Sodio 5% con Clorhexidina 2% forma un precipitado de color pardo intenso, y que las soluciones del tubo N° 5 y 8 de Clorhexidina 2% con EDTA 10% y Clorhexidina 2% con Cloruro de sodio 0,9% respectivamente, forman un precipitado blanco de características no idénticas.

Mezcla	Solución 1	Solución 2	Cambios físicos observados
1	Hipoclorito de sodio 5%	EDTA 10%	Sin cambio
2	<b>Hipoclorito de sodio 5%</b>	<b>Clorhexidina 2%</b>	<b>Precipitado pardo</b>
3	Hipoclorito de sodio 5%	Cloruro de sodio 0,9%	Sin cambio
4	Hipoclorito de sodio 5%	Agua Destilada	Sin cambio
5	<b>EDTA 10%</b>	<b>Clorhexidina 2%</b>	<b>Precipitado blanco</b>
6	EDTA 10%	Cloruro de sodio 0,9%	Sin cambio
7	EDTA 10%	Agua Destilada	Sin cambio
8	<b>Clorhexidina 2%</b>	<b>Cloruro de sodio 0,9%</b>	<b>Precipitado blanco</b>
9	Clorhexidina 2%	Agua Destilada	Sin Cambio
10	EDTA 10%	Agua Bidestilada	Sin Cambio
11	Hipoclorito de sodio 5%	Agua Bidestilada	Sin Cambio
12	Clorhexidina 2%	Agua Bidestilada	Sin Cambio

Tabla III: Cambios físicos obtenidos de la interacción química de las mezclas binarias

## 2.-Identificación de compuestos moleculares presentes en los precipitados sólidos de las mezclas Binarias n°2; 5 y 8 mediante espectrometría de masas

En el gráfico 1 se observa el espectro de masas del vehículo o medio de infusión. No se observa la presencia de especies moleculares atribuibles a los productos formados principalmente por precipitación y reacciones redox en el intervalo de masas entre 90 a 1000 m/z.



Figura 7: Aspecto visual de las reacciones de (2) Hipoclorito de sodio 5%, CHX 2%(5) CHX 2%, EDTA 10% (8) CHX 2%, Cloruro de sodio 0,9%

- a) Mezcla n°2 correspondiente a la interacción entre Hipoclorito de sodio 5% y Clorhexidina 2%.

Se identifican tres productos de formación en la mezcla N°2 que es posible detectar en el espectrómetro bajo la forma de aductos  $[M+H]^+$ , correspondientes a las relación m/z en los intervalos 537-441, 573-577 y 607-609 de fórmulas moleculares:  $C_{22}H_{30}N_{10}Cl_3^{+1}$ ,  $C_{22}H_{29}N_{10}Cl_4^{+1}$  y  $C_{22}H_{30}N_{10}Cl_5^{+1}$ , que incluye en su estructura 1, 2 y 3 átomos de cloro respecto a la molécula de clorhexidina. No es posible detectar paracloranilina (gráfico 2).

- b) Mezcla n°5 correspondiente a la interacción entre Clorhexidina 2% y EDTA 10%.

Se identifican espectros de masas de 540 a 546 que corresponden a especies moleculares de fórmula  $C_{22}H_{31}N_{10}Cl_3^{+1}$ . Además de especies entre 797,6 a 800,6 y 819 a 822,6, que corresponden a aductos de la forma  $[M+H]^+$ , en el primer caso formado entre una molécula de clorhexidina y una molécula de

EDTA y la segunda donde además se le suma una molécula de sodio. También se detectó el espectro de masa de 128,3 coincidente con la molécula paracloroanilina (gráfico 3).

- c) Mezcla n°8 correspondiente a la interacción entre Clorhexidina 2% y cloruro de sodio 0,9%

Se identificó principalmente dos especies moleculares  $C_{22}H_{31}N_{10}Cl_3^{+1}$  y  $C_{22}H_{30}N_{10}Cl_3Na^{+1}$  correspondientes especies con masas de 540 a 546 y 663 a 665, respectivamente, siendo los aductos de las formas  $[M+H]^+$  y  $[MNa+H]^+$ , esta última especie además la compone un átomo de sodio quien transfiere su masa y no su carga (el que transfiere la carga es el protón). Además se detecta la molécula de paracloranilina de espectro de masa 128,3 una (gráfico 4).

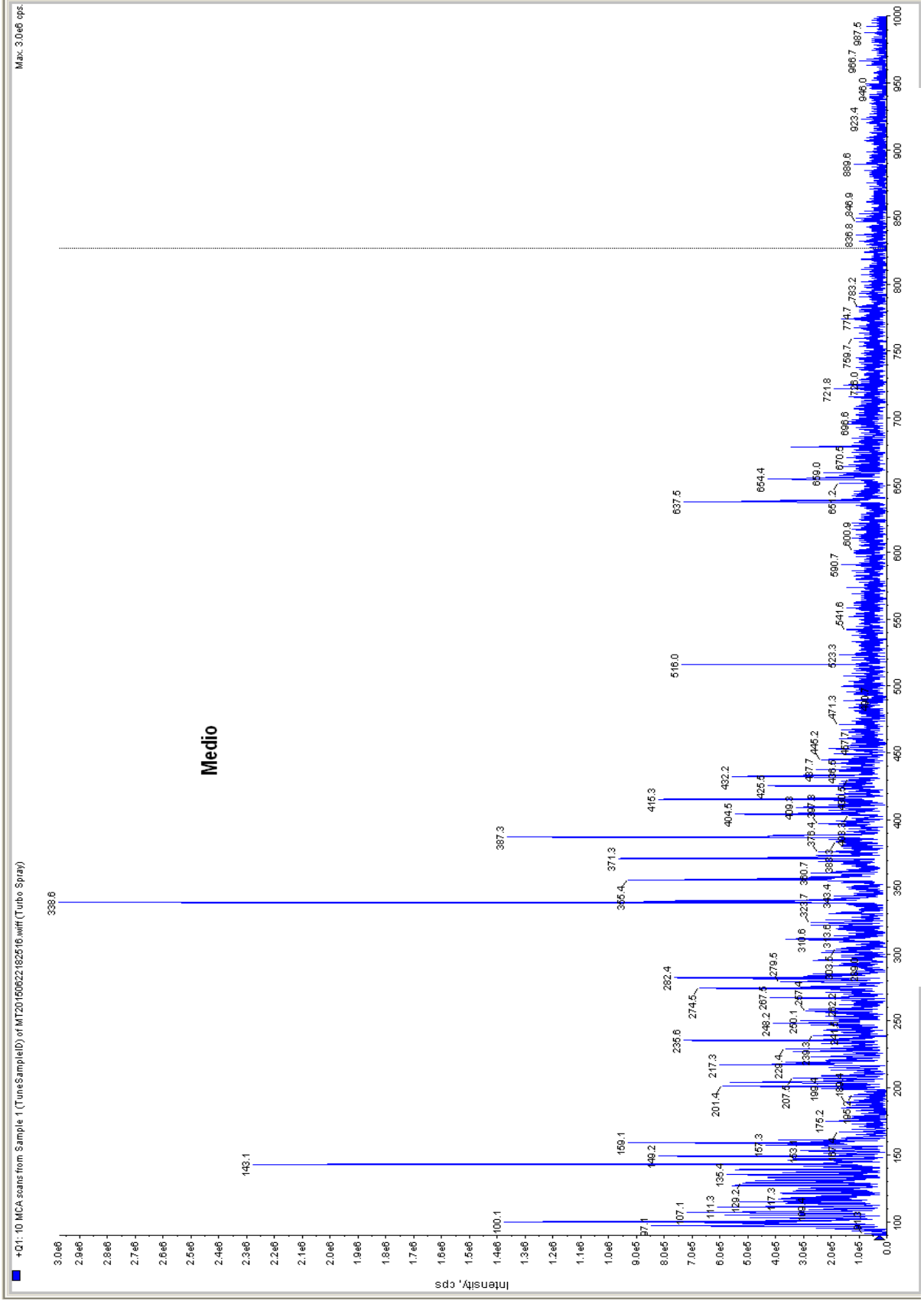


Gráfico 1: Espectros de masas del medio o vehículo de infusión.

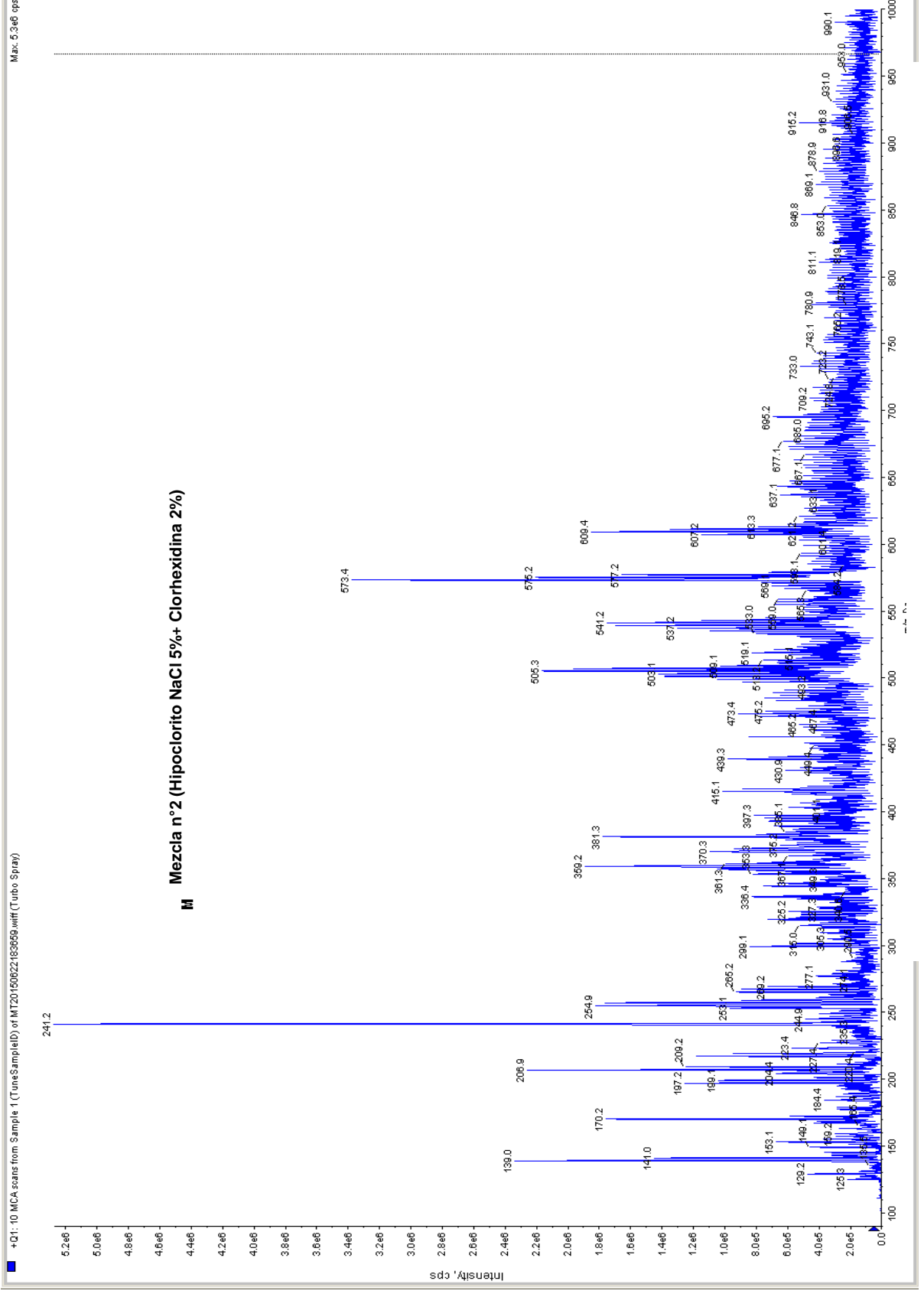


Gráfico 2: Espectros de masas de la mezcla n°2.

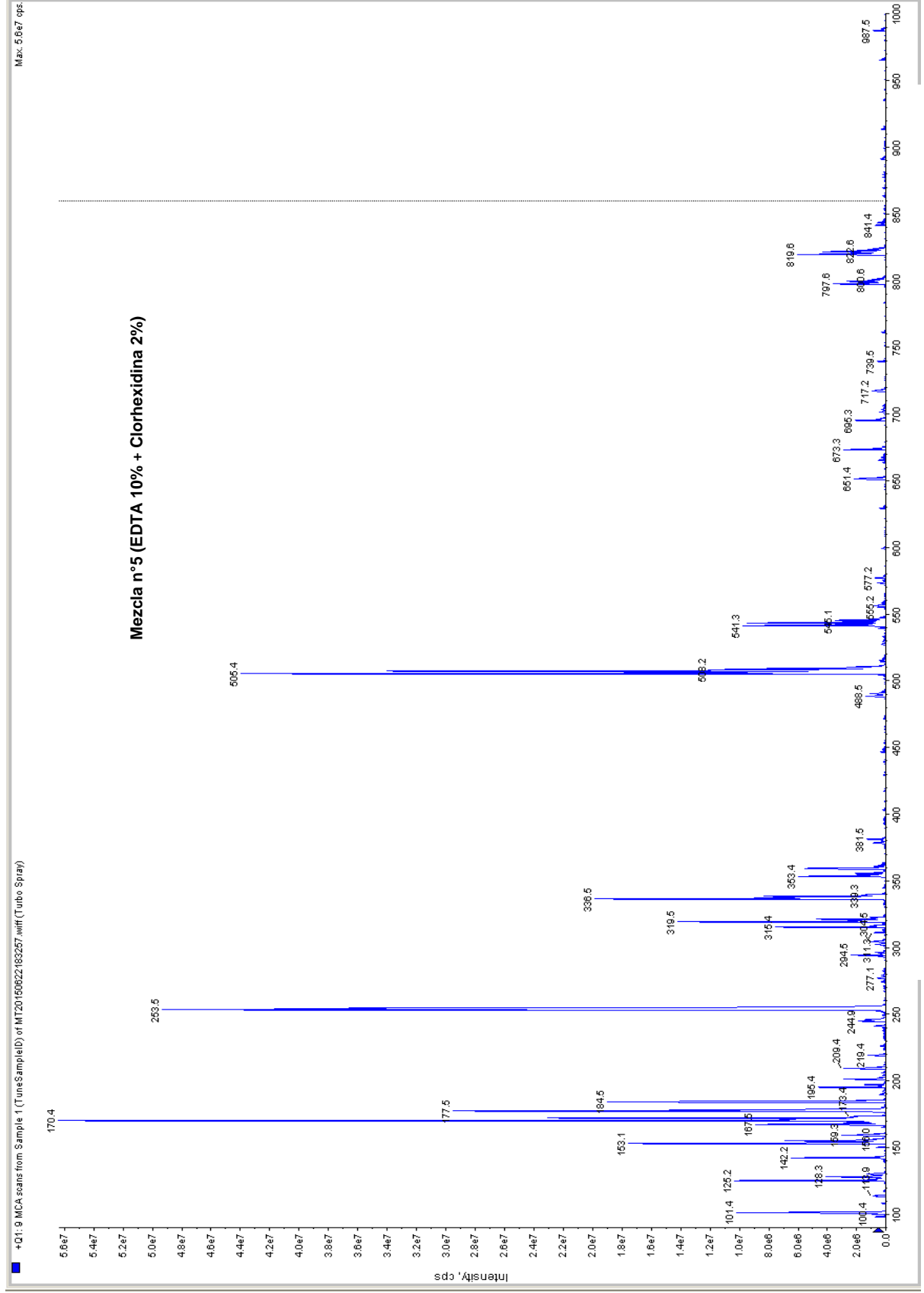
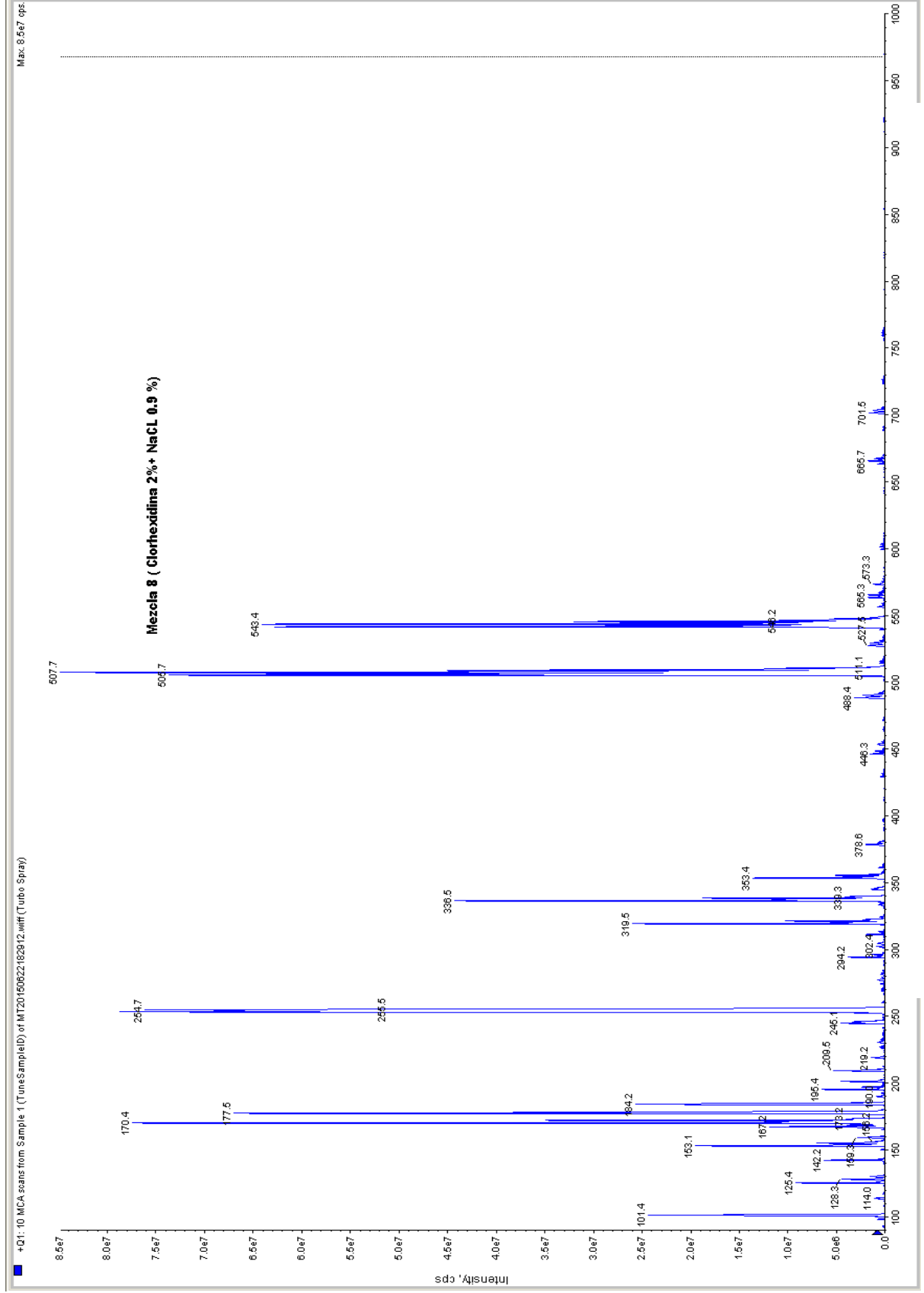


Gráfico 3: Espectros de masas de la mezcla n°5.



**Gráfico 4: Espectros de masas de la mezcla n°8.**

## Discusión

La etapa de irrigación, es clave en el tratamiento endodóntico, por lo que debe tener protocolos clínicos basados en la evidencia científica actualizada, para evitar combinaciones de sustancias químicas que presenten precipitados con subproductos perjudiciales para el éxito del tratamiento y la salud de nuestros pacientes. En cuanto a la elección del irrigante, el patrón de oro durante la preparación químico mecánica sigue siendo el Hipoclorito de sodio <sup>(5)</sup>, sin embargo el uso de la Clorhexidina se ha establecido como una alternativa viable por su poder antimicrobiano de amplio espectro, biocompatibilidad y sustentividad <sup>(33)</sup>.

Dentro de la práctica clínica, durante el uso de los irrigantes dentro del Sistema de conductos radiculares (SCR) a pesar de no ingresarlos de manera simultánea es posible la combinación intraconducto de estos, generando reacciones químicas, es por ello que en los protocolos de irrigación se utilizan soluciones líquidas intermedias de apariencia químicamente inertes (suero fisiológico o el agua destilada) para eliminar los residuos de los irrigantes del SCR previo a la introducción de un nuevo irrigante al mismo <sup>(22, 34)</sup>.

En este estudio se observó la formación de precipitado al realizar mezclas binarias de irrigantes endodónticos. De los resultados obtenidos de las 12 muestras hubo tres en donde se generó un precipitado insoluble. Estas tres incluían Clorhexidina como uno de sus componentes. Esto podría explicarse porque es un ácido dicatiónico de pH 5.5-6.0 con la habilidad de donar protones. Sin embargo, esta reacción ácido-base ocurre sólo en la mezcla binaria entre CHX e Hipoclorito de sodio.

En el caso de las mezclas de CHX/EDTA y CHX/ Suero la reacción producida es de tipo Redox, donde el intercambio de electrones genera la formación de sales insolubles que decantan formando un precipitado blanco lechoso. Estos resultados son concordantes con lo descrito por Prado et al (20) y Rossi Fedele et al (6).

Pese a que en estas tres mezclas hay formación de precipitado, el que tiene mayor relevancia clínica es aquella generado entre CHX/Suero, ya que es una mezcla comúnmente utilizada. La presencia de este precipitado podría indicar que el objetivo que se busca de la limpieza del SCR al utilizar el suero posterior a la irrigación con CHX, no se está cumpliendo debido a que la reacción generada entre ambos provoca este precipitado que se podría acumular en el fondo del conducto y en los túbulos dentinarios, taponando el primero o interfiriendo en la limpieza química de los segundos.

El precipitado naranja-marrón observado en este estudio, al mezclar Hipoclorito de Sodio y CHX ha sido altamente investigado. Se ha visto que es capaz de teñir la dentina, adherirse al piso de la cámara pulpar y de las paredes del conducto radicular actuando como una película residual que afecta la difusión de medicamento intraconducto a la dentina e afectar la adhesión del material obturador y posterior pronóstico de tratamiento rehabilitador <sup>(35)</sup>.

Basrani et al <sup>(36)</sup>, utilizando cromatografía gaseosa adosada a Espectrometría de masas (GC-MS), fue capaz de identificar en este precipitado, el compuesto Paracloroanilina. Cabe descartar que en base a nuestro estudio observamos que la presencia de PCA no guarda relación con el color naranja-marrón.

Este compuesto es perjudicial para la salud, todos los isómeros cloroanilina son tóxicos, pero la PCA posee problemas adicionales ya que se absorbe rápidamente y es metabolizada. Sus metabolitos reactivos al unirse covalentemente a la hemoglobina, el hígado y proteínas renales, ha demostrado nefro y hepatotoxicidad. También ha sido descrita como cancerígena y posiblemente genotóxica <sup>(24)</sup>. La Agencia internacional para la investigación del Cáncer (IARC) categoriza la PCA en el Grupo 2B, esto quiere decir que este agente es potencialmente carcinogénico para los humanos <sup>(1)</sup>. Aquí radica la importancia de no dejar precipitados dentro del conducto que pueden interferir en el sellado de la obturación y no sólo eso sino que en este caso particular sería una exposición sostenida en el tiempo a un agente tóxico, lo cual es conveniente evitar, sobre todo debido a que aún no está determinada la cantidad necesaria del elemento capaz de producir los efectos descritos. En los resultados obtenidos de este estudio, mediante espectrometría de masas, no fue posible detectar PCA en la mezcla de Hipoclorito 5% y Clorhexidina 2%, guardando similitud con los resultados obtenidos por Thomas y Sem <sup>(21)</sup> Nowiki y Sem <sup>(25)</sup> y Prado et al. <sup>(20)</sup>. En cambio, Krishnamurty y Sudhakaran <sup>(22)</sup>, mediante estereomicroscopía pudieron detectar la presencia de este compuesto en mezclas entre NaClO 2,5% y CHX 2% previo lavado con EDTA 17%. Mortenson et al <sup>(34)</sup>, en su estudio, también observaron la formación de este compuesto en la disolución (NaClO/EDTA/CHX). En ambos se confirmó formación inmediata del precipitado, sin embargo la detección de la PCA en estos estudios podría deberse a la mezcla de la CHX/EDTA que ocurre en el interior al no poder remover por completo los irrigantes, y no necesariamente entre el Hipoclorito de Sodio y Clorhexidina.

Según el análisis molecular de los subproductos en las mezclas de CHX con EDTA y CHX con Cloruro de Sodio, se detectó la presencia de paracloroanilina identificada con un espectro de masas de 128,3 uma. En las cuales el precipitado formado no se visualizó de color naranja-marrón, el cual tradicionalmente se ha

asociado a la presencia de PCA <sup>(23)</sup> por lo que cabe pensar que la formación de ésta no guarda ninguna relación con el color del precipitado ya que donde se detectó fue en precipitados blancos. Rasimick et al <sup>(10)</sup> también infirió que había probabilidad de su presencia en la combinación de CHX con EDTA pero en menos de un 1% de la mezcla.

La formación de paracloroanilina según Zong et al <sup>(37)</sup> ocurre cuando la CHX es sometida a un medio ambiente ácido o básico. En una solución con un pH bajo, la CHX se degrada, ya sea directamente en PCA, o indirectamente en PCA por un producto intermedio de pchlorophenyl-biguanida-amidino-p-clorofenil-urea. Mientras que en un pH elevado, lo hace mediante una vía indirecta de descomposición a través de p-clorofenil-urea.

Para descartar que la PCA es intrínseca de la Clorhexidina y de las condiciones del medio, se controló en la mezcla de éste con agua destilada, donde no se observó formación de precipitado. A pesar de este resultado se sugiere observar nuevamente si hay factores extrínsecos a la interacción química entre la CHX y otro irrigante en la formación de PCA (pH y temperatura).

Las diferencias en los resultados observados, pueden atribuirse a las metodologías adoptadas por los diferentes autores, ya que no solo se utilizaron instrumentos distintos con métodos de detección variable, donde los más precisos corresponden a los Espectrómetros de masas, utilizado en este estudio al igual que en las investigaciones de Prado et al, Basrani et al, y Mortenson et al, sino que además dentro de estos mismos, no existe un manejo estandarizado de la preparación de las muestras. Con respecto a este último, las diferencias entre las variables a la que se ven sometidas las mezclas, como temperatura, tiempo de centrifugado, y presencia o no de activación ultrasónico, podrán también contribuir a este factor.

Hubo además una identificación de otras macromoléculas orgánicas en los precipitados formados en las tres mezclas. Se sugiere continuar este estudio para determinar si la presencia de estos compuestos generan alguna repercusión clínica en el tratamiento endodóntico.

La activación de la mezcla mediante ultrasonido podría llegar a tener un efecto de catalizador de las reacciones, posiblemente alterando la formación y posterior detección de subproductos. En este estudio se activó todas las mezclas donde se encontro precipitado, perdiendo la opción de grupo control. Es por eso que se sugiere que en los próximos estudios que se realicen, exista un grupo en donde no se active la mezcla para verificar si realmente altera químicamente la reacción.

La reacción de formación de precipitado en conjunto a su composición química, producto de las interacciones entre los irrigantes intraconductos es importante, por su posible relevancia clínica. Hubo mezclas en que no se encontraron precipitado sin embargo puede que hayan otras reacciones como de sinergismo o antagonismo entre los irrigantes que en base a esta metodología no puede detectarse.

Al ser una investigación experimental *in vitro*, no necesariamente es extrapolable a clínica, ya que al no utilizar el diente como contenedor de las mezclas, no se pudo medir el efecto de la dentina *in vivo* sobre las interacciones químicas es por ello que debe ser investigado, porque si bien algunos estudios lo han utilizado como Mortenson et al <sup>(34)</sup> este incluye el EDTA como irrigante intermedio alterando la detección de Paracloroanilina ya que podría deberse a la mezcla CHX/EDTA como se detectó en nuestro estudio.

Otra limitación fue, dado los recursos disponible no fue posible analizar diferentes concentraciones de los mismos irrigantes para revisar posibles alteraciones atribuibles a este factor.

Si bien la CHX ha mostrado ser bondadosa en muchas áreas de la Odontología, como en el control microbiológica de la biopelícula en la enfermedad periodontal, con respecto a los resultados obtenidos en este estudio y su relación con la formación de Paracloroanilina, su uso como enjuague e interacción química con los fluidos orales debe seguir siendo investigada ya que podría estar generando efectos no deseados que limitarían su uso.

Es por ello que en base a lo revisado y obtenido mediante el presente estudio consideramos que el uso clínico de CHX como irrigante endodóntico debe ser limitado y usado solo en conjunto con agua destilada, debido a que fue solo en combinación con ésta que no presentó precipitados.

## Conclusiones

- Se observó precipitado sólido en tres de las mezclas binarias correspondientes a Clorhexidina 2% - Hipoclorito de Sodio 5%, Clorhexidina 2%- EDTA 10%, Clorhexidina 2% - Cloruro de Sodio 0,9%.
- Se observó en el tubo (n°2) correspondiente a la mezcla Hipoclorito de Sodio 5% con Clorhexidina 2% la formación de un precipitado de color pardo intenso, y que las soluciones del tubo N° 5 y 8 de Clorhexidina 2% con EDTA 10% y Clorhexidina 2% con Cloruro de sodio 0,9% respectivamente, forman un precipitado blanco de características no idénticas.
- Fue posible identificar los compuestos del subproducto de los precipitados pero no todos poseen nombre para el compuesto  $C_{22}H_{30}N_{10}Cl_3^{+1}$ ,  $C_{22}H_{29}N_{10}Cl_4^{+1}$  y  $C_{22}H_{30}N_{10}Cl_5^{+1}$  en la mezcla Clorhexidina 2% - Hipoclorito de Sodio 5%,  $C_{22}H_{31}N_{10}Cl_3^{+1}$  en la mezcla Clorhexidina 2%- EDTA 10% y  $C_{22}H_{31}N_{10}Cl_3^{+1}$   $C_{22}H_{30}N_{10}Cl_3Na^{+1}$  en la mezcla Clorhexidina 2% - Cloruro de Sodio 0,9%.
- Fue posible detectar paracloroanilina en las mezclas binarias Clorhexidina 2%- EDTA 10% y Clorhexidina 2% - Cloruro de Sodio 0,9% Pero no se detectó en la mezcla Hipoclorito de Sodio al 5% - Clorhexidina 2%.

## Resumen

El objetivo de esta investigación fue detectar la presencia de paracloroanilina (PCA) en los compuestos presentes en el precipitado de los subproductos resultantes de variadas mezclas, activadas mediante ultrasonido, de diferentes soluciones definidas como irrigantes intraconducto por la cátedra de Endodoncia de la Universidad de Valparaíso.

Para lograr este objetivo se llevó a cabo un estudio experimental *in vitro*, donde se realizaron mezclas binarias entre el Hipoclorito de sodio 5% (NaOCl), EDTA 10%, Clorhexidina 2% (CHX), Cloruro de sodio 0,9% además de agua destilada. Las soluciones fueron mezcladas en proporción 1:1, luego centrifugadas por 5 minutos a 5.000 r.p.m. En aquellas mezclas en donde se formó precipitado se analizó este mediante espectrometría de masas.

Se realizaron 12 mezclas binarias de las cuales, 3 formaron precipitado. El Hipoclorito de sodio 5% en conjunto con Clorhexidina 2% forma un precipitado de color pardo. En cambio la CHX al combinarse con EDTA 10% o Cloruro de sodio 0,9%, produce un precipitado de color blanco no idénticas con presencia de PCA.

La CHX juega un rol fundamental en la formación de precipitado ya que interactúa mediante reacción ácido-base en el caso de la combinación con NaOCl o a través de reacciones redox, al mezclarse con EDTA o suero generando sales insolubles. Estas sales no solo podrían afectar negativamente el pronóstico de los tratamientos de endodoncia sino que además la formación de PCA puede ser dañino a la salud del paciente.

## Bibliografía

1. Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. 4-CHLOROANILINE | C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>CIN - PubChem [Internet]. 2015 [cited 14 July 2015]. Available from: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-chloroaniline#section=Toxicity>
2. Grazielle Magro M, Kuga MC, Regina Victorino K, Vázquez-Garcia FA, Aranda-Garcia AJ, Faria-Junior NB, Faria G, Luis Shinohara A. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and several formulations containing chlorhexidine and its effect on the radicular dentin--SEM and push-out bond strength analysis. *Microsc Res Tech.* 2014 Jan;77(1):17-22.
3. Hewitt P. Física Conceptual. 10th ed. Naucalpan de Juarez: Enrique Quintanar Duarte; 2007 Capitulo: 13 Líquidos p. 246-261.
4. Chang R. Química. 7th ed. Colombia: Felipe Hernandez Carrasco; 2003. Capitulo: 3 Relaciones de masa en las reacciones químicas p. 74-80
5. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Root canal irrigants. *J Conserv Dent.* 2010 Oct;13(4):256-264.
6. Rossi-Fedele G, Dođramaci EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JA. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *J Endod.* 2012 Apr;38(4):426-31.
7. Soares I, Goldberg F. Endodoncia. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2002.
8. Mozayeni MA, Zadeh YM, Paymanpour P, Ashraf H, Mozayani M. Evaluation of push-out bond strength of AH26 sealer using MTAD and combination of NaOCl and EDTA as final irrigation. *Dent Res J (Isfahan).* 2013 May;10(3):359-63
9. Poudyal S, Pan WH, Zhan L. Efficacy of solution form of ethylenediaminetetraacetic acid on removing smear layer of root canal at different exposure time In Vitro. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2014 Jun;34(3):420-424.

10. Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, Musikant BL, Deutsch AS. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *J Endod.* 2008 Dec;34(12):1521-1523.
11. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006 May;32(5):389-398
12. Galimberti Jarman B, Russell R, Carvajal C, Horwood J. *The Oxford Spanish dictionary.* Oxford: Oxford University Press; 2003.
13. Leonardo M. *Endodoncia.* São Paulo: Artes Médicas; 2005.
14. Mayer BE, Peters OA, Barbakow F. Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J.* 2002 Jul;35(7):582-9
15. Topçuoğlu HS, Tuncay Ö, Demirbuga S, Dinçer AN, Arslan H. The effect of different final irrigant activation techniques on the bond strength of an epoxy resin-based endodontic sealer: a preliminary study. *J Endod.* 2014 Jun;40(6):862-866.
16. Macedo RG, Wesselink PR, Zaccheo F, Fanali D, Van Der Sluis LW. Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH. *Int Endod J.* 2010 Dec;43(12):1108-1115.
17. Park E. Ultrasonics in endodontics. *Endodontic Topics.* 2013;29(1):125-159.
18. Harrison AJ, Chivatxaranukul P, Parashos P, Messer HH. The effect of ultrasonically activated irrigation on reduction of *Enterococcus faecalis* in experimentally infected root canals. *Int Endod J.* 2010 Nov;43(11):968-977.
19. van der Sluis LW, Vogels MP, Verhaagen B, Macedo R, Wesselink PR. Study on the influence of refreshment/activation cycles and irrigants on mechanical cleaning efficiency during ultrasonic activation of the irrigant. *J Endod.* 2010 Apr;36(4):737-740
20. Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA, Gomes BP. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis. *J Endod.* 2013 Apr;39(4):505-510.

21. Thomas JE, Sem DS. An in vitro spectroscopic analysis to determine whether para-chloroaniline is produced from mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod.* 2010 Feb;36(2):315-7
22. Krishnamurthy S, Sudhakaran S. Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod.* 2010 Jul;36(7):1154-1157.
23. Akisue E, Tomita VS, Gavini G, Poli de Figueiredo JA. Effect of the combination of sodium hypochlorite and chlorhexidine on dentinal permeability and scanning electron microscopy precipitate observation. *J Endod.* 2010 May;36(5):847-850
24. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod.* 2007 Aug;33(8):966-969.
25. Nowicki JB, Sem DS. An in vitro spectroscopic analysis to determine the chemical composition of the precipitate formed by mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod.* 2011 Jul;37(7):983-8.
26. Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *J Endod.* 2008 Feb;34(2):181-185.
27. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J.* 2003 Jun;36(6):411-417.
28. Costa J. *Diccionario de química física.* Madrid: Díaz de Santos; 2005.
29. Acer.forestaes.upm.es. [Internet]. 2015 [cited 2 July 2015]. Available from: [http://acer.forestaes.upm.es/basicas/udfisica/asignaturas/fisica/magnet/espectrometro\\_files/espectrometro.gif](http://acer.forestaes.upm.es/basicas/udfisica/asignaturas/fisica/magnet/espectrometro_files/espectrometro.gif).
30. Hoffmann E, Stroobant V. *Mass spectrometry.* Chichester, West Sussex, England: J. Wiley; 2007.

- 31.Liceoagb.es. [Internet]. 2015 [cited 14 July 2015]. Available from: <http://www.liceoagb.es/quimiorg/imagenes/msdecano.gif>.
- 32.Sciex.com. QTRAP 3200 System [Internet]. 2015 [cited 14 July 2015]. Available from: <http://sciex.com/products/mass-spectrometers/qtrap-systems/3200-qtrap-system>.
- 33.Gomes B, Vianna M, Zaia A, Almeida J, Souza-Filho F, Ferraz C. Chlorhexidine in Endodontics. *Braz Dent J*. 2013;24(2):89-102.
- 34.Mortenson D, Sadilek M, Flake NM, Paranjpe A, Heling I, Johnson JD, Cohenca N.The effect of using an alternative irrigant between sodium hypochlorite and chlorhexidine to prevent the formation of para-chloroaniline within the root canal system. *Int Endod J*. 2012 Sep;45(9):878-82.
- 35.Ahmed HM, Abbott PV. Discolouration potential of endodontic procedures and materials: a review. *Int Endod J*. 2012 Oct;45(10):883-97.
- 36.Basrani B, Manek S, Mathers D, Fillery E, Sodhi R. Determination of 4-Chloroaniline and Its Derivatives Formed in the Interaction of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine by Using Gas Chromatography. *Journal of Endodontics*. 2010;36(2):312-314.
- 37 Zong Z, Kirsch L. Studies on the instability of chlorhexidine, part I: Kinetics and mechanisms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;101(7):2417-2427.