

**ESTUDIO IN VITRO: ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DEL PH DEL
HIPOCLORITO DE SODIO AL 4,9% DURANTE EL PROCESO DE DISOLUCIÓN
ORGÁNICA DE SANGRE BOVINA EN PLACAS PETRI.**

Trabajo de investigación
Requisito para optar al
Título de Cirujano Dentista

Alumnos: Samuel Cáceres
Javiera Reyes
Rolfi Richards

Docente guía: Prof. Dr. Carlos Marchant
Área Ciencias Básicas

Dedicatoria

Dedicado a mi familia, padres, hermano, Sandra y Sergio, quienes me han acompañado y entregado su amor y apoyo durante todo este proceso, creyendo siempre en mí, en especial a mi abuela Maria Elena, por contenerme y ser la luz que me acompaña y acompañará por siempre. Sin dejar de lado a mis amistades formadas en el pregrado, incluyendo a mis compañeros de tesis, Samuel y Rolfi, por ser un gran equipo de trabajo.

Javiera

Dedicado a mi familia, por ser el pilar en mi vida, amigos y cercanos quienes han estado conmigo durante todo este proceso, confiando en mis capacidades y dándome su apoyo. A mis amigos y compañeros de tesis, por la gran experiencia de realizar esta investigación juntos.

Samuel

Quiero dedicar este trabajo representativo del culmine de una de las importantes etapas de mi vida a mis padres, por confiar en mí y ser mi respaldo, a mis hermanos por ser mi inspiración y la razón de mis éxitos y superación. A Isabella y a mis amigos por ser mi apoyo y mi soporte durante todo este proceso. A mis compañeros y amigos Javiera y Samuel por la grata experiencia de trabajar a su lado.

Rolfi

Agradecimientos

A nuestras familias, amigos, y cercanos que nos han apoyado en este proceso y todo el desarrollo del pregrado. A nuestro docente guía Dr. Carlos Marchant, un gran docente y profesional, por su preocupación, empuje y motivación otorgado durante el desarrollo de esta tesis, que ha sido sin duda, un desafío que nos proporcionó grandes aprendizajes.

Índice

Introducción	1
Marco teórico	3
1. Química Orgánica	3
1.1 Definición y características	3
1.2 Ácidos y bases	3
1.3 Sistema de tamponamiento	4
2. Desinfectantes	6
2.1 Definición y características	6
2.2 Clasificación	6
2.3 Factores que afectan la potencia de los desinfectantes	7
2.3.1. Concentración y tiempo de exposición	7
2.3.2. pH	7
2.3.3. Temperatura	8
2.3.4. Presencia de materiales extraños	8
2.3.5. Naturaleza del microorganismo y otros factores asociados	8
2.3.6. Agitación de las partículas	8
3. Hipoclorito de sodio	9
3.1. Definición y propiedades	9
3.2. Mecanismo de acción	9
3.3. Uso en odontología	11
4. Materia orgánica	12
4.1 Definición y características	12
4.2 Tipos de materia orgánica	13
4.3 Materiales biológicos similares a la pulpa dental	14

Hipótesis	15
Objetivos	16
Materiales y métodos	17
Diseño de estudio	17
Sujeto de estudio	17
Criterios de inclusión	18
Criterios de exclusión	18
Tamaño muestral	18
Aleatorización	18
Estandarización de los investigadores	19
Metodología	19
Experimento	20
Método de análisis de datos	23
Resultados	24
Discusión	37
Conclusión	44
Bibliografía	45

Resumen

El Hipoclorito de Sodio (NaOCl) es considerado el gold standard en la irrigación endodóntica. Este se utiliza en diferentes concentraciones, pH, tiempos y temperatura. El objetivo de este estudio experimental fue analizar el comportamiento del valor de pH del hipoclorito de sodio al 4,9%, antes, durante y posterior al proceso de disolución de material orgánico en placas Petri con 1 mL de sangre bovina in vitro. Para ello, se dispuso de 12 placas Petri aleatorizadas en 4 grupos, de los cuales el grupo experimental estaba formado por hipoclorito de sodio al 4,9% y 1 mL de sangre bovina, mientras que los 3 grupos restantes, correspondían a grupos controles formados por suero fisiológico por sí solo, hipoclorito de sodio al 4,9% por sí solo y una solución de suero fisiológico con 1 mL sangre de bovino. Las mediciones fueron hechas cada 1 minuto, en donde cada 30 segundos se realizaron activaciones con ultrasonido, y recambios de los irrigantes cada 6 minutos durante los 3 ciclos hasta culminar los 22 minutos. Las muestras fueron medidas mediante phmetro y papeles marcadores de pH, registradas en tablas de tiempo y valores pH, posteriormente analizadas con estadística descriptiva. Los resultados de este estudio permitieron concluir que existe una fluctuación medible del valor pH del hipoclorito de sodio al contactar con el material orgánico y que este tiende a estabilizarse transcurrido 14 minutos aproximadamente, indicando una presunta disolución del material orgánico.

Introducción

La preparación y limpieza de los conductos radiculares utilizando irrigantes resulta ser esencial para la correcta desinfección y desbridamiento, los cuales son factores clave para el éxito en el tratamiento de endodoncia (1, 2, 3). La utilización de los irrigantes se explica debido a la alta complejidad anatómica presente en el sistema de conductos radiculares. Esto trae como consecuencia que la instrumentación por sí sola no sea eficaz en la eliminación de las bacterias del sistema de conductos, dejando superficies sin desinfectar como los istmos, conductos laterales y sinuosidades (3, 4).

La eliminación incompleta de material orgánico es la causa principal del fracaso de conductos obturados, puesto que los microorganismos pueden permanecer dentro de las diferentes estructuras, conllevando a la necesidad de retratamiento, lo que implica costos tanto para el clínico como para el paciente (5).

En la actualidad existen diferentes soluciones químicas que se utilizan como irrigantes para la desinfección de los conductos radiculares (2). Entre los cuales, el hipoclorito de sodio (NaOCl) se destaca por su eficaz actividad antimicrobiana y su capacidad de disolución de tejidos orgánicos (3, 6, 7), propiedades que hasta el momento ningún otro irrigante realiza con la misma efectividad, por lo que sigue siendo considerado como el irrigante gold standard (8, 9). El NaOCl es una solución que se clasifica como un compuesto halogenado, la asociación Americana de Endodoncia lo define como un líquido claro, de color verde-amarillento, muy alcalino, de pH cercano al 11,7 (3, 10).

La disolución del material orgánico por parte del NaOCl se genera producto de los iones de hipoclorito y ácido hipocloroso que contiene en diferentes proporciones, los cuales juntos generan el cloro libre disponible que promueve este proceso (7). Investigaciones previas demuestran que esta propiedad puede ser afectada significativamente por diferentes factores tales como la temperatura, el tiempo de exposición, la concentración del irrigante, el pH de la solución, entre otros (10, 11).

Se conoce que el NaOCl presenta múltiples reacciones cuando contacta con la parte orgánica del complejo dentino-pulpar (7, 10), siendo una de estas la variación de su pH (10). A pesar de saber esto, aún no existe evidencia disponible sobre el valor exacto de pH en donde el NaOCl completa en su totalidad la disolución del material orgánico intracanal. La ausencia de este valor exacto se vio evidenciada mediante una revisión bibliográfica realizada el año 2020 (10), siendo este vacío de conocimiento lo que lleva a plantear la pregunta ¿A qué valor de pH el hipoclorito de sodio al 4,9% completa mayoritariamente la disolución de material orgánico en el conducto radicular?

Proyectar la evolución de la disolución orgánica durante el tratamiento de endodoncia, permitirá determinar, mediante un parámetro clínico medible (10) y reproducible, el momento en el que se considera concluido el proceso de irrigación, para proceder a la obturación radicular, lo que mejoraría no solo los pronósticos de los tratamientos realizados, sino que también permitirían reducir las complicaciones asociadas al NaOCl y su sobre irrigación, aumentando así la seguridad del procedimiento.

Por lo tanto, este estudio exploratorio tiene dentro de sus objetivos determinar el valor del pH en que culmina la disolución de material orgánico, mediante la realización de un protocolo para la medición de pH al contactar hipoclorito de sodio al 4,9% con sangre bovina, considerando temperatura, concentración y tiempo constante. De esta forma, sentar las bases para la futura realización de un papel marcador de pH (similar a cono de papel utilizado en endodoncia), que permita aumentar aún más la efectividad del tratamiento de endodoncia, mejorar la toma de decisiones, reducir tiempos y costos por parte del clínico.

Marco teórico

1. Química orgánica

1.1 Definición y características:

La química orgánica o también conocida como “la química de los compuestos del carbono” (12) es una rama de la ciencia que estudia la reactividad, la transformación de los compuestos orgánicos, la estructura y las propiedades físicas de los compuestos orgánicos. Una de las características de estas sustancias es que se encuentran constituidas principalmente por el elemento carbono, el cual tiene la propiedad de combinarse consigo y de esta manera formar cadenas carbonadas estables que pueden ser lineales o ramificadas, creando así una variedad de compuestos orgánicos nuevos (13, 15).

La diferencia principal existente entre los compuestos orgánicos e inorgánicos es el tipo de enlace que los une. Los compuestos orgánicos se forman a través de enlaces covalentes con bajos puntos de ebullición y fusión, mientras los compuestos inorgánicos se unen a través de enlaces iónicos y covalentes presentando altos puntos de ebullición y fusión.

La química orgánica responde a las mismas reglas, teorías y leyes de la química general, lo que da a entender que la química orgánica es una rama de la ciencia química, lo que complementa su estudio (13, 14).

1.2 Ácidos y bases

Las propiedades de los ácidos y las bases son importantes para el estudio de la química orgánica. En la ciencia se han realizado dos grandes definiciones de este tipo de reacciones, los ácidos y bases de Arrhenius y los de Bronsted-lowry (13).

La teoría de Arrhenius plantea una definición de los ácidos como sustancia que se disocia en agua para formar iones hidronios (H_3O^+) mientras que las bases son

sustancias que se disocian en agua para formar iones hidróxido. Por otra parte, las reacciones ácido y base de Bronsted- lowry se basan en la transferencia de un protón (H^+). A raíz de esto se define un ácido como un dador de protones mientras que las bases se definen como receptores de protones. Los productos de las reacciones ácido-base se denominan ácido y bases conjugados (14, 16).

La acidez o basicidad de una disolución acuosa se mide a través de la concentración de H_3O^+ , cuyo valor implica también la concentración de $-OH$ (hidróxido), esto debido a que estas concentraciones se encuentran en relación por la constante del producto iónico del agua. En una disolución neutra las concentraciones de H_3O^+ y $-OH$ son iguales. Las disoluciones ácidas y básicas se definen por un exceso de H_3O^+ u $-OH$.

Dado que estas concentraciones pueden abarcar un amplio rango de valores, la acidez y basicidad de una disolución se mide en una escala logarítmica de pH, el cual se define como el logaritmo negativo (base 10) de la concentración del H_3O^+ . Bajo esta lógica una disolución neutra tendría un pH 7, una disolución ácida un pH menor a 7 y una disolución básica un pH mayor a 7 (13, 15).

1.3 Sistema de tamponamiento

La homeostasis o capacidad para mantener una situación de equilibrio dinámico favorable para un organismo es un aspecto fundamental de la fisiología. Los sistemas amortiguadores también llamados buffer tienen una gran relevancia en el equilibrio del pH de las sustancias ácidas y básicas presentes en todo organismo y manteniendo el pH de los medios biológicos dentro de los valores compatibles con la vida (16), amortiguando la intensidad de los cambios agudos del equilibrio ácido-base (17).

La acción enzimática y las transformaciones químicas de las células se realizan dentro de unos estrictos márgenes de pH. Los rangos de valores de pH en humanos compatibles con la vida oscilan entre 6,8 y 7,8 siendo un rango normal de 7,35 – 7,45 (18), por ejemplo, los cambios agudos en el pH sanguíneo inducen efectos regulatorios

en la estructura y función de enzimas y proteínas, capaces de generar cambios en las funciones celulares como la glucólisis, la glucogénesis, la mitosis y la síntesis de ADN entre otros (19). Por otra parte, en el trabajo de laboratorio también es de mucha importancia mantener un pH estable para la realización de muchas reacciones químico-biológicas (16).

Un buffer o amortiguador o tampón de pH es un sistema químico que afecta la concentración de los iones hidrógeno en una solución, de manera que cuando se agregan pequeñas cantidades de un ácido o una base, no se produce un cambio significativo de pH (20). Estos son por lo general soluciones de ácidos débiles y de sus bases conjugadas o de bases débiles y sus ácidos conjugados. Estas soluciones obedecen al principio de Le Chatelier que establece que, si a una reacción en equilibrio se le aplica una distorsión, el equilibrio se desplazará en la dirección que contrarreste la distorsión (16, 18).

2. Desinfectantes

2.1 Definición y características

Los desinfectantes son agentes químicos que se utilizan en los diferentes objetos y superficies para eliminar la mayoría de los microorganismos patógenos que conocemos a excepción de las endosporas (21, 22), esto sin afectar la calidad de la superficie (23). Debido al amplio espectro de microorganismos que existen es que los desinfectantes cumplen un rol fundamental, sin embargo, estos van a depender de diferentes factores como son su tiempo de exposición a la superficie y su concentración (24, 25).

Dentro de estos los desinfectantes más utilizados en el área de la odontología son el yodoformo, glutaraldehído, hipoclorito de sodio, 0,25% de cloruro de benzalconio, alcoholes, clorhexidina, agua de ozono, entre otros (23, 26).

Si bien todos los desinfectantes utilizados logran eliminar gran cantidad de los microorganismos, cada uno de estos tiene un espectro de acción diferente (27). No obstante, la mayoría impide la entrada y/o la salida de los elementos vitales del microorganismo o alteran la estructura de este ya sea por su membrana plasmática, pared celular o su citoplasma (27, 29).

Estos agentes han demostrado ser más rápidos, potentes y termoestables que los antisépticos, sin embargo, no poseen selectividad en su acción frente a los patógenos (10).

2.2 Clasificación

Los desinfectantes se pueden clasificar según su nivel de cobertura, tales como:

- De nivel bajo, estos destruyen las bacterias vegetativas, algunos hongos y virus, pero no micobacterias o esporas (10, 30, 31).

- De nivel intermedio, pueden destruir la mayoría de los virus, micobacterias, hongos y bacterias vegetativas, sin embargo, no pueden eliminar a la mayoría de las esporas bacterianas y priones (10, 32).
- De nivel alto, los cuales destruyen todos los microorganismos vegetativos, virus pequeños lipídicos, virus pequeños no lipídicos micobacterias, virus medianos lipídicos, virus medianos no lipídicos, esporas de hongos y algunas esporas bacterianas y priones (18, 33).

2.3 Factores que afectan la potencia de los desinfectantes

2.3.1. Concentración y tiempo de exposición del agente:

Un aumento en el tiempo de exposición del agente permite un mayor grado de desinfección de la superficie en cuestión, por lo que, si tengo una baja concentración, esta puede ser compensada aumentando el tiempo de actuación ya que estos factores se relacionan de manera inversa. Cabe destacar que las altas concentraciones de desinfectantes si bien pueden tener más efectividad en la limpieza, estas pueden ser más irritantes y corrosivas, por lo que para lograr la máxima efectividad de los desinfectantes es importante seguir las indicaciones del fabricante (10, 34, 35).

2.3.2. pH:

Los cambios de pH permiten una mejor predicción y control de la desinfección (36). Esto debido a que este afecta tanto la carga superficial neta de bacterias como el grado de ionización del agente, siendo este último el responsable de una mayor difusión del desinfectante (10, 36).

2.3.3. Temperatura:

Se ha determinado que la óptima temperatura de los desinfectantes es uno de los factores más importantes para la eficacia de los desinfectantes, relacionándose de forma proporcional con la aceleración del proceso de desinfección. Sin embargo, es importante destacar que las temperaturas bajo cero no se consideran adecuadas para una buena desinfección (28, 37).

2.3.4. Presencia de materiales extraños:

La presencia de materia orgánica y otras sustancias interferentes en los desinfectantes a base de cloro puede ser perjudicial, llegando a afectar la eficacia de la desinfección de las superficies (10, 28, 35).

2.3.5. Naturaleza del microorganismo y otros factores asociados:

Los desinfectantes pueden ser efectivos dependiendo de la especie del microorganismo a eliminar, la presencia de esporas o priones, la cantidad de microorganismos y hasta su fase de cultivo, lo que afecta directamente a la potencia del desinfectante (10, 28, 31).

2.3.6. Agitación de las partículas:

Algunos desinfectantes como el hipoclorito de sodio, ácido peracético, entre otros, se ven significativamente afectados en sus funciones con la agitación de sus partículas, ya sea de forma mecánica (ultrasonidos, energía sónica) o manual (limas endodónticas, instrumentos palpares), aumentando considerablemente la disolución de los tejidos orgánicos y su remoción mecánica (4, 11, 38, 39).

3. Hipoclorito de sodio

3.1. Definición y propiedades

El hipoclorito de sodio corresponde a un compuesto químico halogenado (3), por lo tanto, es una base fuerte, de fórmula NaOCl. La asociación Americana de Endodoncia lo define como un líquido claro, de color verde-amarillento, muy alcalino, de pH cercano al 11, y con un olor muy característico, similar al cloro, el cual presenta una acción disolvente sobre los tejidos orgánicos, y residuos necróticos, baja tensión superficial, entre otros (4).

Dentro de sus propiedades, también podemos encontrar; tiene un buen efecto bactericida, es un buen disolvente orgánico, tiene una solubilidad alta, es de bajo costo, decolorante y desodorizante, adecuada facultad de limpieza, efectiva capacidad antimicrobiana, neutralizador de productos tóxicos, y posee acción lubricante (40). Todos estos factores, lo convierten en el irrigante más utilizado en el tratamiento de endodoncia.

3.2. Mecanismo de acción

Varios profesionales diluyen el hipoclorito de sodio en agua para su utilización en odontología. En un sondeo de opinión, se declara que el 35.9% (n = 69) de la población encuestada usa el hipoclorito de sodio directo de la botella, mientras tanto el 17.2% (n = 33) lo diluye en partes iguales; el resto de la población lo usa de diversas maneras, variando cantidades entre hipoclorito de sodio y agua (41). Al estar en combinación con el agua se disocia en dos moléculas que presentan características y propiedades diferentes: Hidróxido de Sodio (NaOH) y Ácido Hipocloroso (HOCl), manteniéndose siempre en estado de equilibrio dinámico (4). Entre los valores de pH 4 y 7, el ion cloro existe como ácido hipocloroso (HClO) mientras que, a pH por encima de 9, predomina el NaOCl (3). El Hidróxido de Sodio (NaOH) es un poderoso solvente orgánico y de grasas. Le otorga la alcalinidad al hipoclorito de sodio, además, es el que produce la

saponificación. Por su parte, el ácido hipocloroso (HOCl): es un excelente antimicrobiano, libera cloro y oxígeno.

Este ácido hipocloroso se une a las proteínas que son insolubles para formar polipéptidos que sean más solubles y poder degradar; en otras palabras, va formando partículas más pequeñas para que puedan ser eliminadas con más facilidad (42).

Al entrar en contacto el hipoclorito de sodio con el tejido orgánico, se producen distintas reacciones, tales como:

- Saponificación, donde se genera la disolución de tejido orgánico, donde el NaOH es el factor principal, ya que esta molécula se combina con los ácidos grasos de las paredes bacterianas, desnaturalizándolos, obteniendo sales de ácidos grasos (jabón) y glicerol (alcohol), reduciéndose así la tensión superficial de la solución (43).
- Neutralización, donde también el elemento responsable es NaOH. En este proceso se obtiene agua y sales a partir de los aminoácidos. Este proceso provoca la salida de iones OH⁻, disminuyendo el pH de la solución, generando así una interferencia en la integridad de la membrana citoplasmática, lo que, en consecuencia, produce alteraciones en el metabolismo celular, así como inhibición enzimática irreversible y degradación de fosfolípidos, evidenciada en la peroxidación lipídica (43).
- Cloraminación, en donde el HOCl (ácido hipocloroso) proporciona las características antisépticas a la solución (44), ya que al liberar cloro permite que este se una a las proteínas del grupo amina, generando cloraminas (42). Dichas cloraminas tienen la facultad de inhibir a las enzimas bacterianas mediante la oxidación irreversible de sus grupos sulfurados (42, 44).

3.3. Uso en odontología

Es usado en diversas concentraciones que varían entre 2.6 y 5.25; A 1% ya posee efecto antimicrobial y puede disolver tejido orgánico, pero en el tratamiento de conductos se usan concentraciones mayores que potencian los riesgos; es así como en la literatura están reportadas diversas reacciones adversas, aunque muchas de ellas están originadas en complicaciones por falta de precauciones en su manejo (45).

El NaOCl es el irrigante más utilizado en el tratamiento endodóntico (41), siendo las soluciones de NaOCl utilizadas en concentraciones bajas (0.5-1%), medianas (2.5%) y altas (4-6%). A mayor concentración es mayor su capacidad de disolver tejidos, a su vez, está demostrado que a una concentración mayor de 0,5% tiene capacidad citotóxica (45). Según estas concentraciones podrían variar sus características de densidad, tensión superficial, pH, viscosidad, conductividad y capacidad de humectación (10). Las concentraciones más utilizadas son las de 2.5% y 5,25% (de marca comercial clorox) (41). A pesar de que el hipoclorito de sodio es ampliamente utilizado en endodoncia, aún no existe un consenso sobre la concentración ideal. Una irrigación frecuente y copiosa con una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% de concentración, puede mantener una reserva suficiente de cloro para eliminar un número significativo de células bacterianas, compensando el efecto irritante causado por el uso de concentración altas (41).

Su uso en odontología fue introducido por Barret, quien lo utilizó para la irrigación de conductos radiculares, reportando su eficiencia como antiséptico. Posteriormente, fue utilizado por Coolidge para mejorar el proceso de limpieza y desinfección del sistema de conductos (4). El Dr. Blass fue uno de los precursores en la utilización del NaOCl al 5% como solvente de materia orgánica y bactericida en el tratamiento de conducto radicular en dientes con necrosis pulpar (46).

En endodoncia, es empleado como un irrigante ya que elimina todos los tejidos y materiales sueltos, necróticos o contaminados del conducto radicular antes de ser empujados hacia los tejidos apicales. También proporciona lubricación, desbridamiento, destrucción de microbios y disolución de tejidos (47). La capacidad de

disolución del tejido y las propiedades de desbridamiento se pueden mejorar significativamente aumentando la temperatura, la concentración y la agitación de hipoclorito de sodio (3, 11).

El impacto del NaOCl en el órgano dentino-pulpar varía según distintos factores, siendo la concentración, la agitación de sus partículas, la temperatura y el tiempo de exposición influyentes tanto en su acción antimicrobiana como en su velocidad de disolución, afectando a su vez, la estructura dentinaria (3, 11). El quinto factor corresponde al pH, que al ser más alcalino presenta mejor acción disolvente, mientras que, al ser más ácido tiene mejores propiedades antibacterianas, permitiéndole a su vez reflejar la etapa de reacción en la que se encuentra la solución. Por lo tanto, según la bibliografía evaluada, demuestra ser el único parámetro químico eventualmente medible que predice la estabilidad de la solución luego de la eliminación del material orgánico (4, 10).

4. Materia orgánica

4.1 Definición y características

La materia orgánica es aquella que está formada principalmente a base de moléculas de carbono, sin embargo, se considera como una mezcla compleja de compuestos orgánicos, ya que si bien se presenta el carbono en gran cantidad, también posee moléculas de oxígeno e hidrógeno, incluyéndose hasta nitrógenos en algunos casos. Es por esto, que cuando hablamos de materia orgánica aludimos al término vida, ya que esta compone los cuerpos de los seres vivos entre un 95-99% del total de su peso, conformando hasta sus sustancias y sus desechos (48, 50).

A pesar de esto, la materia orgánica se considera como omnipresente, ya que no solo se encuentra en los seres vivos, sino que también se puede encontrar en los ambientes terrestres (8) y de nuestro ecosistema (51).

Cabe destacar que la materia orgánica tiene en parte carga negativa y puede contener una amplia diversidad de composiciones como proteínas, lípidos, glúcidos, entre otros. Además, de diversas estructuras químicas y de diferentes tamaños moleculares, donde cuyas combinaciones aún no son descubiertas en su totalidad (51, 52).

4.2 Tipos de materia orgánica

Es difícil encontrar una clasificación propiamente tal sobre los tipos de materia orgánica ya que estas van desde la materia orgánica terrestre hasta la acuática (49, 52), sin embargo, en lo que respecta dentro de la materia orgánica, se encuentra el material biológico, el cual se define como cualquier material de origen humano y/o de otras especies vinculadas a la salud humana, nativo o modificado, como excreciones, secreciones, líneas celulares, tejidos, líquidos tisulares (sangre, plasma, suero, saliva) y aislamientos de microorganismos (cultivos) (53).

Dentro de este contexto, uno de los materiales biológicos encontrados en la cavidad bucal es el órgano dentino-pulpar el cual está compuesto tanto por material orgánico como inorgánico. Esto, ya que en su estructura se encuentra una serie de proteínas, tales como colágeno, GAG y amida III. Además, se encuentran otros elementos como magnesio, calcio, fósforo, nitrógeno y sustancias químicas como carbonato y fosfato (10, 54).

El órgano o complejo dentino-pulpar, está formado por tejido pulpar y dentario, los cuales poseen un origen embrionario en común (ectomesénquima), que luego forma la papila del germen dentario. Su principal célula, el odontoblasto, tiene la particularidad de que su cuerpo se ubica en la periferia de esta pulpa, mientras que sus prolongaciones se alojan en los túbulos dentinarios, y penetran todo el espesor de la dentina. De esta forma obtenemos un vínculo de interdependencia entre las mencionadas estructuras (55).

4.3 Materiales biológicos similares a la pulpa dental:

La pulpa dental es un tejido único, que corresponde a un tejido blando de origen mesenquimatoso, está compuesta por tejido conectivo, componentes vasculares, linfáticos y nerviosos que ocupan la cámara pulpar y los canales o conductos radiculares del diente. Contiene células especializadas como lo son los odontoblastos dispuestos periféricamente y en contacto con la dentina conformando el complejo pulpodentinario. Además de otros tipos de células como fibroblastos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos y mastocitos (56, 58).

En base a su composición y estructura este tejido complejo tiene múltiples funciones tales como la formativa, ya que es capaz de formar dentina primaria y secundaria en la capa más externa del órgano pulpar, la función sensorial, capaz de alertar cuando ocurre una injuria que pueda provocar daños en el diente, y una función defensiva, ante una injuria como un proceso carioso sintetizando dentina terciaria o dentina esclerótica para obliterar los túbulos dentinarios (56, 57, 59).

Por esta razón, cuando se habla de la pulpa dental hablamos de un tejido único y complejo que difícilmente se compara a algún otro tejido del cuerpo humano. Sin embargo, dentro de su composición histológica encontramos algunas células y tejidos existentes en el resto del cuerpo, como es la sangre, los vasos sanguíneos y el tejido conectivo que comparten las propiedades y comportamiento del material biológico de un sistema humano y sus componentes.

Hipótesis

Hipótesis nula:

No existe una fluctuación medible en el valor de pH del Hipoclorito de Sodio al 4,9% cuando este contacta con el material orgánico, la cual tenderá a ser nula a medida que este sea disuelto por el irrigante.

Hipótesis alternativa:

Existe una fluctuación medible en el valor de pH del Hipoclorito de Sodio al 4,9% cuando este contacta con el material orgánico, la cual tenderá a ser nula a medida que este sea disuelto por el irrigante.

Objetivos

Objetivo General:

Analizar el comportamiento del valor de pH del hipoclorito de sodio al 4,9%, antes, durante y posterior al proceso de disolución de material orgánico en placas Petri con 1 mL de sangre bovina in vitro.

Objetivos específicos:

- Registrar el valor de pH del Hipoclorito de Sodio al 4,9% y del suero fisiológico antes, durante y después de contactar con material orgánico en placas Petri con 1 mL de sangre Bovina, considerando 3 recambios y succiones de líquido en el procedimiento.
- Determinar la existencia de un tiempo exacto en el que el Hipoclorito de Sodio al 4,9% deje de mostrar alteraciones en su pH al contacto con la solución.
- Determinar si el pH del Hipoclorito de Sodio al 4,9% se altera sin la presencia de material orgánico en el mismo lapso del estudio y con las mismas condiciones de recambio de la solución.

Materiales y métodos

Diseño de estudio

Este protocolo de investigación corresponde a un **estudio experimental in vitro de tipo exploratorio**, establecido de esta forma por ser un ámbito no estudiado anteriormente. La investigación se llevó a cabo con una técnica de enmascaramiento simple (cegamiento de investigador encargado del registro de datos) con el motivo de evitar el sesgo de resultados en el proceso de registro de los pH de las diferentes muestras.

La finalidad de este diseño se centró en conocer la naturaleza del pH del hipoclorito de sodio al 4,9% y cómo éste fluctúa durante el proceso de la disolución de la materia orgánica.

Sujeto de estudio

Las muestras evaluadas se constituyeron de 2 mezclas binarias y 2 soluciones homogéneas, conformando 4 grupos en total. El grupo experimental compuesto de sangre bovina e NaOCl al 4,9%, el grupo control "A" compuesto de sangre bovina y suero fisiológico, el grupo control "B" compuesto de NaOCL al 4,9% y el grupo control "C" compuesto por Suero fisiológico. Dichos controles tuvieron por finalidad establecer parámetros que permitan referenciar los valores de pH basales.

Cada material utilizado en el estudio se obtuvo de la misma fuente, es decir la sangre bovina se adquirió del mismo animal en un matadero, el NaOCl al 4,9% fue de la misma marca comercial (Clorinda ®) la cual se encuentra estandarizada para el porcentaje a estudiar y el Suero fisiológico utilizado fue siempre de un mismo contenedor.

Criterios de inclusión

- Sangre bovina del mismo animal.
- Hipoclorito de Sodio al 4,9% de la marca Clorinda ®.
- Suero fisiológico del mismo fabricante.

Criterios de exclusión

- Cualquier tipo de sangre de origen humano u otro tejido orgánico de cualquier especie.
- Hipoclorito de Sodio de otra concentración u otra marca comercial.
- Suero fisiológico de diferentes fabricantes.

Tamaño muestral

Producto de la inexistencia de una población total medible, la estandarización de la muestra y los procedimientos afines, se realizó un muestreo por conveniencia en este estudio exploratorio, realizando un análisis en triplicado para cada uno de los grupos establecidos.

Aleatorización

Con la finalidad de evitar el sesgo de asignación, se enumeraron las placas Petri del 1 al 12, dándoles a cada una de ellas un protocolo de irrigación al azar, ya sea grupo control "A" (Sangre bovina + Suero fisiológico), grupo experimental (Hipoclorito de sodio al 4,9% + Sangre bovina), grupo control "B" (Hipoclorito de sodio al 4,9% solo) o grupo control "C" (Suero fisiológico solo).

Estandarización de los investigadores

Previamente a la realización del experimento, se definieron de manera clara los parámetros bajo los cuales se preparó y se llevó a cabo este. Esto con el fin de lograr que los investigadores estuviesen estandarizados al momento de recoger los datos.

Se marcó en el anverso de las placas Petri con un plumón permanente los sitios en donde se dispuso la sangre y donde se aplicó la punta del ultrasonido. Utilizando para esta última una estructura creada para generar la vibración efectiva sin tocar la placa Petri y sin depender del operador.

Para introducir los líquidos en los recipientes, el operador lo realizó con un flujo de 1 ml por 3 segundos, manteniendo el mismo valor del flujo al momento del retiro del líquido de la placa Petri.

Para la estandarización del color (valor) del papel pH, se fotografió el papel aplicado ante un fondo blanco y se comparó con la escala colorimétrica entregada por el fabricante. Luego se evaluó por los 3 investigadores, los cuales dieron su apreciación final del valor que fue comparado con el valor entregado por el phmetro que fue previamente calibrado según las instrucciones del fabricante.

Respecto a la recogida de datos experimentales, se tuvo como referente las indicaciones del fabricante adjuntas en el sistema de medición de pH (tanto para el papel pH como para el pHmetro). Finalmente, para recoger los datos dentro de los mismos intervalos de tiempo en cada muestra, se utilizaron relojes previamente sincronizados.

Metodología

Los recursos necesarios para conformar las muestras que se utilizaron en este estudio, se obtuvieron tanto de forma comercial (NaCl 4,9% y Suero fisiológico) como en un matadero (sangre bovina), esto último para asegurar que la muestra fuera obtenida de un mismo animal.

Una vez obtenida la materia orgánica (sangre bovina) esta fue mezclada con EDTA al 10% con el fin de homogeneizar la muestra y evitar el proceso de coagulación (61, 62). Estas mezclas se reservaron en contenedores herméticos y guardadas en tubos EDTA, estandarizados según el fabricante. Este proceso se realizó de esta manera con el fin de facilitar el uso de la cantidad exacta de 1 mL en cada muestra.

Para el caso del Hipoclorito de sodio se utilizó el producto comercial de la marca Clorinda® que se encuentra estandarizado al porcentaje a estudiar (4,9%).

La generación de la mezcla binaria entre la sangre y el hipoclorito de sodio al 4,9% fue llevada a cabo en las dependencias de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso posterior a la aprobación del Comité de Bioseguridad perteneciente a la misma institución. Durante el procedimiento todos los investigadores emplearon uniforme clínico, pechera desechable, pantalla facial, gorro, guantes, tapabocas, lentes y cubrecalzado, con el fin de mantenerla bioseguridad en todo momento.

Experimento

1. Se posicionaron las doce placas Petri de 15 x 100mm (tamaño estándar), previamente esterilizadas y aleatorizadas para la asignación de cada muestra.

2. 3 de las placas se utilizaron para medir la estabilidad en el tiempo de la solución de hipoclorito de sodio al 4,9% (grupo control "B"), para ellos se:
 - a. Posicionaron 3mL de NaOCl, midiendo y registrando con pHmetro y papel pH el valor inicial

- b. A los 30 segundos se realizó una activación ultrasónica, mediante un Scaler Woodpecker y su respectiva punta de limpieza gingival que se posicionó en el centro de la placa Petri por 10 segundos a una potencia de 5, cautelando no tocar las paredes de la placa (63).

- c. Treinta segundos después se volvió a medir y realizar el mismo procedimiento, esto fue realizado de la misma forma durante los primeros 6 minutos.

- d. Entre el minuto 6 y el minuto 7, fue utilizada una jeringa de irrigación para remover el NaOCl presente y se volvió a aplicar 3 mL de la solución de NaOCl.

- e. Entre los minutos 7 y 13 se realizó el mismo tipo de medidas previamente descrito.

- f. Entre el minuto 13 y el minuto 14, se realizó el mismo procedimiento del paso "d".

- g. Entre los minutos 14 a 20 se realizaron los pasos "a", "b" y "c" hasta completar el minuto 20.

- h. Al minuto 21 se volvió a realizar el paso "d", posteriormente el "a", realizándose la medición final al minuto 22.

- i. Se eliminaron los restos por el desagüe y se realizó limpieza y desinfección de los materiales e instrumentos utilizados.

Este procedimiento fue replicado en 3 placas Petri (previamente definidas) pero reemplazando el hipoclorito de sodio por el suero fisiológico (Grupo control "C"). Cabe mencionar que el operador que realizó las mediciones no fue el mismo que aplicó los irrigantes, desconociendo los irrigantes a utilizar, esto con el fin de generar el ciego experimental previamente descrito. Todos los pasos anteriores fueron correctamente registrados en la hoja de evolución dispuesto para tal fin (ver Anexo 1).

3. Las 6 placas Petri restantes se utilizaron con la muestra de sangre, tanto para el grupo experimental (Sangre bovina + Hipoclorito de sodio al 4,9%) como el grupo control "A" (Sangre bovina + Suero fisiológico), esto siguiendo los siguientes pasos:

- a. Se posicionó 1 mL de sangre en la placa Petri, esperando 5 segundos a que esta decante en el recipiente.
- b. Se Replicó el paso 2.a. según lo establecido previamente sobre la placa inoculada con sangre bovina. 3 de estas placas utilizaron el NaOCl y las otras 3 utilizaron el suero fisiológico.
- c. Se Replicó toda la secuencia de pasos descrita anteriormente en los puntos 2.b, 2.c, 2.d, 2.e, 2.f, 2.g, 2.h y 2.i; en cada placa, realizando una

medición final a los 22 minutos. Los materiales con contacto sanguíneo y que no fueron tratados con hipoclorito de sodio (tubo EDTA, jeringas de transporte) se desecharon en contenedores de material orgánico.

El operador que realizó las mediciones no fue el mismo que aplicó los irrigantes, desconociendo los irrigantes a utilizar, esto con el fin de generar el ciego experimental previamente descrito. Todos los pasos anteriores fueron correctamente registrados en la hoja de evolución dispuesto para tal fin (ver Anexo 1).

Método de análisis de datos

Los datos obtenidos a nivel experimental fueron sometidos a estudios de análisis estadístico descriptivo, mediante el programa STATA, que permite tener una aproximación de la estructura de los datos en cada uno de los tratamientos estudiados.

Resultados

En el grupo experimental, se observó que el valor de pH tiende a disminuir a medida que transcurren los minutos. Sin embargo, luego del recambio de hipoclorito de sodio, el pH de la solución tiende a estabilizarse con valores entre 11,3-11,6, proceso que se repite en cada ciclo (intervalos de 7 min) hasta culminar la última medición.

El promedio de las mediciones de pH desde el minuto 0 hasta el 22 del grupo experimental de las 3 placas Petri, fue registrado entre 10,22 a 10,5, con una desviación estándar entre 1,35-1,29.

Los grupos controles "A" y "C" mantuvieron un pH relativamente constante en el transcurso de los 22 minutos, variando levemente en las mediciones posteriores a los recambios de la solución.

El grupo control "B" se presentó relativamente estable hasta el minuto 21, sin embargo, al realizar el último recambio se obtuvo un pH entre 7,8-7,9.

PRIMER CICLO

Corresponde al periodo contemplado desde el minuto 0 al 7, durante el cual, en el grupo experimental se obtuvo en la primera placa un promedio de valor pH de 9,145 y una desviación estándar de 1,33, en la segunda placa se obtuvo un promedio de 9,398 y una desviación estándar de 1,23, mientras que en la tercera placa se obtuvo un promedio de 9,357 y una desviación estándar 1,39. En total en el primer ciclo en el grupo experimental se logró un promedio de 9,3 con una desviación estándar de 1,266, con una diferencia entre la medición inicial y final de 0,18 en el promedio de sus pH. (Tabla 1).

Tabla 1: Valores pH placas petri del grupo experimental durante el primer ciclo.

	1° Ciclo grupo experimental			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
0	11,2	11,42	11,57	11,39666667
1	9,07	9,02	8,94	9,01
2	8,6	8,74	8,69	8,676666667
3	8,43	8,59	8,59	8,536666667
4	8,26	8,84	8,47	8,523333333
5	8,16	8,69	8,57	8,473333333
6	8,14	8,55	8,41	8,366666667
7	11,3	11,34	11,62	11,42
Promedio (\bar{X})	9,145	9,39875	9,3575	9,300416667
Dest. Estándar	1,333330952	1,231740203	1,390197828	1,266455098
				-
Dif. Inicial-Final	-0,1	-0,08	-0,05	0,076666666 67

En el grupo control "A" de sangre bovina + suero fisiológico, en la primera placa se obtuvo un promedio de 8,38 y una desviación estándar de 0,367, en la segunda placa se obtuvo un promedio de 8,41 y una desviación estándar de 0,354, por su parte, en la tercera placa se obtuvo un promedio de 8,338 y una desviación estándar de 0,335. Por lo tanto, en total en el primer ciclo en el grupo control "A" se logró un promedio de valor pH 8,377 con una desviación estándar de 0,338, con una diferencia entre la medición inicial y final de -0,4 en el promedio de sus pH. (Tabla 2)

Tabla 2: Valores pH placas petri del grupo control A durante el primer ciclo.

	1° Ciclo grupo control "A"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
0	8,88	8,86	8,81	8,85
1	8,99	8,94	8,89	8,94
2	8,34	8,34	8,3	8,326666667
3	8,3	8,33	8,27	8,3
4	8,09	8,07	8,06	8,073333333
5	8,06	8,1	8,09	8,083333333
6	8,02	8,04	8	8,02
7	8,38	8,6	8,29	8,423333333
Promedio (\bar{X})	8,3825	8,41	8,33875	8,377083333
Dest. Estándar	0,367646958	0,354441210	0,335705547	0,338480995
Dif. Inicial-Final	0,5	0,26	0,52	0,426666666

En el grupo control "B" de Hipoclorito de sodio al 4,9%, se observó que en su primera placa se obtuvo un promedio de 12,07 y una desviación estándar de 0,176. En la segunda placa se obtuvo un promedio de 12,02 y una desviación estándar de 0,28. Finalmente, que en la tercera placa se obtuvo un promedio de 12,13 y una desviación estándar de 0,374. Considerando el total en el primer ciclo en el grupo control "B" se logró un promedio de valor pH 12,074 con una desviación estándar de 0,227, con una diferencia entre la medición inicial y final de 0,47 en el promedio de sus pH. (Tabla 3)

Tabla 3: Valores pH placas Petri del grupo control B durante el primer ciclo.

	<i>1° Ciclo grupo control "B"</i>			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
0	12,03	12,05	12,05	12,04333333
1	12,02	12,03	12,06	12,03666667
2	12,15	12,2	12,2	12,18333333
3	12,1	12,01	12,3	12,13666667
4	12	11,58	12	11,86
5	11,98	12,05	12,07	12,03333333
6	11,85	11,73	11,79	11,79
7	12,45	12,51	12,57	12,51
Promedio (\bar{X})	12,0725	12,02	12,13	12,07416667
Dest. Estándar	0,1761290112	0,2808660077	0,3748	0,2277091331
Dif. Inicial-Final	-0,42	-0,46	-0,52	-0,4666666667

En el grupo control "C" de suero fisiológico, se observó que en su primera placa se obtuvo un promedio de 8,68 y una desviación estándar de 0,613, mientras que en la segunda placa se obtuvo un promedio de 8,64 y una desviación estándar de 0,6149. En cuanto a la tercera placa se obtuvo un promedio de 8,668 y una desviación estándar de 0,6118. Cabe considerar, que en total en el primer ciclo en el grupo control "C" se logró un promedio de valor pH 8,666 con una desviación estándar de 0,586, con una diferencia entre la medición inicial (minuto 0) y final (minuto 7) de 1,85 en el promedio de sus pH. (Tabla 4)

Tabla 4: Valores pH placas Petri del grupo control C durante el primer ciclo.

	1° Ciclo grupo control "C"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
0	9,78	9,76	9,78	9,773333333
1	9,31	9,3	9,28	9,296666667
2	8,9	8,8	8,88	8,86
3	8,44	8,42	8,43	8,43
4	8,47	8,45	8,46	8,46
5	8,45	8,43	8,44	8,44
6	8,17	8,12	8,15	8,146666667
7	7,93	7,91	7,93	7,923333333
Promedio (\bar{X})	8,68125	8,64875	8,66625	8,66625
Dest. Estándar	0,61324517	0,61492014	0,61189255	0,58723939
Dif. Inicial-Final	1,85	1,85	1,85	1,85

SEGUNDO CICLO

Está formado por el periodo contemplado desde el minuto 8 al 14, durante el cual, en el grupo experimental se obtuvo en la primera placa un promedio de valor pH de 10,15 y una desviación estándar de 1,06, en la segunda placa se obtuvo un promedio de 10,54 y una desviación estándar de 0,91, y en la tercera placa se obtuvo un promedio de 10,73 y una desviación estándar 0,87. En cuanto, el total en el segundo ciclo en el grupo experimental se obtuvo un promedio de 10,47 con una desviación estándar de 0,93, y una diferencia entre la medición inicial (minuto 8) y final (minuto 14) de 0,2 en el promedio de sus pH, siendo esta, una leve alza. (Tabla 5).

Tabla 5: Valores pH placas Petri del grupo experimental durante segundo ciclo.

	2° Ciclo grupo experimental			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
8	11,2	11,3	11,42	11,30666667
9	11	11,05	11,36	11,13666667
10	10,22	11,04	11,27	10,84333333
11	9,23	10,08	10,18	9,83
12	9,1	9,53	9,85	9,49333333
13	8,92	9,26	9,47	9,21666667
14	11,4	11,55	11,58	11,51
Promedio (\bar{X})	10,15285714	10,54428571	10,73285714	10,47666667
Dest. Estándar	1,068811088	0,9108394872	0,8709709962	0,9383194197
Dif. Inicial-Final	-0,02	-0,25	-0,16	-0,1433333333

En el grupo control "A" se observó que en la primera placa se obtuvo un promedio de 8,25 y una desviación estándar de 0,08. Mientras tanto, en la segunda placa se registró un promedio de 8,27 y una desviación estándar de 0,12. Por su parte, la tercera placa promedia 8,29 y presentó una desviación estándar de 0,10. También cabe considerar, que en total en el segundo ciclo en el grupo control "A" se logró un valor promedio de pH 8,275 con una desviación estándar de 0,1, con una diferencia entre la medición inicial y final de 0,16 en el promedio de sus pH. (Tabla 6)

Tabla 6: Valores pH placas Petri del grupo control "A" durante segundo ciclo.

	2° Ciclo grupo control "A"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
8	8,34	8,3	8,33	8,323333333
9	8,32	8,47	8,42	8,403333333
10	8,3	8,34	8,4	8,346666667
11	8,32	8,3	8,33	8,316666667
12	8,23	8,19	8,29	8,236666667
13	8,16	8,1	8,17	8,143333333
14	8,12	8,2	8,15	8,156666667
Promedio (\bar{X})	8,255714286	8,271428571	8,298571429	8,377083333
Dest. Estándar	0,08715066319	0,1203368289	0,1046308704	0,1011740603
Dif. Inicial-Final	0,22	0,1	0,18	0,1666666667

En el grupo control "B", se observó que en su primera placa se obtuvo un promedio de 11,735 y una desviación estándar de 0,29. En la segunda placa se obtuvo un promedio de 11,73 y una desviación estándar de 0,24. Mientras que en la tercera placa se obtuvo un promedio de 11,75 y una desviación estándar de 0,246. Considerando el total en el segundo ciclo en el grupo control "B" se logró un promedio de valor pH 11,74 con una desviación estándar de 0,25, con una diferencia entre la medición inicial y final de -0,16 en el promedio de sus pH, indicando una disminución en su valor (Tabla 7).

Tabla 7: Valores pH placas Petri del grupo control "B" durante el segundo ciclo.

	<i>2° Ciclo grupo control "B"</i>			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
8	11,9	11,91	11,97	11,92666667
9	11,84	11,81	11,87	11,84
10	11,54	11,52	11,55	11,53666667
11	11,6	11,76	11,76	11,70666667
12	11,73	11,81	11,82	11,78666667
13	11,3	11,3	11,31	11,30333333
14	12,24	12	12	12,08
Promedio (\bar{X})	11,73571429	11,73	11,75428571	11,74
Dest. Estándar	0,2996585358	0,2408318916	0,2462286974	0,2502798434
Dif. Inicial-Final	-0,34	-0,09	-0,03	-0,1533333333

En el grupo control "C", se observó que en la primera placa se registró un promedio de 7,59 y una desviación estándar de 0,17, en la segunda placa se observó un promedio de 7,57 y una desviación estándar de 0,17, y en la tercera placa un promedio de 7,57 y una desviación estándar de 0,168. Cabe considerar, que en total en el segundo ciclo en el grupo control "C" se logró un promedio de valor pH 7,58 con una desviación estándar de 0,16, con una diferencia entre la medición inicial (minuto 0) y final (minuto 7) de 0,23 en el promedio de sus pH (Tabla 8).

Tabla 8: Valores pH placas Petri del grupo control "C" durante el segundo ciclo.

	2° Ciclo grupo control "C"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
8	7,79	7,77	7,79	7,7833333333
9	7,72	7,71	7,7	7,71
10	7,58	7,57	7,55	7,566666667
11	7,74	7,73	7,71	7,726666667
12	7,39	7,38	7,39	7,386666667
13	7,35	7,34	7,34	7,3433333333
14	7,56	7,55	7,56	7,556666667
Promedio (\bar{X})	7,59	7,578571429	7,577142857	7,581904762
Dest. Estándar	0,1722401424	0,1703358028	0,1684947364	0,1617287559
Dif. Inicial-Final	0,2	0,22	0,23	0,2166666667

TERCER CICLO

Corresponde al periodo contemplado desde el minuto 15 al 22, durante el cual, en el grupo experimental se registró en la primera placa un promedio de valor pH de 11,37 y una desviación estándar de 0,18, en la segunda placa se observó un promedio de 11,44 y una desviación estándar de 0,10, mientras que en la tercera placa se obtuvo un promedio de 11,47 y una desviación estándar 0,10. En total en el tercer ciclo en el grupo experimental se logró un promedio de 11,42 con una desviación estándar de 0,13, con una diferencia entre la medición inicial(minuto 15) y final(minuto 22) de 0,18 en el promedio de sus pH (Tabla 9).

Tabla 9: Valores pH placas Petri del grupo experimental durante tercer ciclo

	3° Ciclo grupo experimental			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
15	11,25	11,48	11,57	11,43333333
16	11,33	11,5	11,34	11,39
17	11,33	11,31	11,58	11,40666667
18	11,43	11,49	11,5	11,47333333
19	11,62	11,31	11,41	11,44666667
20	11,36	11,45	11,42	11,41
21	11,05	11,36	11,35	11,25333333
22	11,61	11,62	11,6	11,61
Promedio (\bar{X})	11,3725	11,44	11,47125	11,42791667
Dest. Estándar	0,1866050068	0,1071714248	0,1050765027	0,1386575126
Dif. Inicial-Final	-0,36	-0,14	-0,03	-0,1766666667

En el grupo control "A" en la primera placa se registró un promedio de 8,11 y una desviación estándar de 0,13, en la segunda placa se observó un promedio de 8,15 y una desviación estándar de 0,11, por su parte, que en la tercera placa se obtuvo un promedio de 8,14 y una desviación estándar de 0,13. Por lo tanto, en total en el tercer ciclo en el grupo control "A" se logró un promedio de valor pH 8,13 con una desviación estándar de 0,12 con una diferencia entre la medición inicial y final de 0,28 en el promedio de sus pH (Tabla 10).

Tabla 10: Valores pH placas Petri del grupo control "A" durante tercer ciclo

	3° Ciclo grupo control "A"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
15	8,11	8,18	8,13	8,14
16	8,13	8,28	8,19	8,2
17	8,08	8,2	8,05	8,11
18	8,2	8,21	8,3	8,236666667
19	8,17	8,16	8,2	8,176666667
20	8,2	8,18	8,23	8,203333333
21	8,21	8,13	8,2	8,18
22	7,81	7,9	7,88	7,863333333
Promedio (\bar{X})	8,11375	8,155	8,1475	8,13875
Dest. Estándar	0,1314683558	0,1118672683	0,1302470181	0,1206977
Dif. Inicial-Final	0,3	0,28	0,25	0,2766666667

En el grupo control "B", podemos observar que en su primera placa se registró un promedio de 11,74 y una desviación estándar de 0,46. En la segunda placa se observó un promedio de 11,76 y una desviación estándar de 0,43. Finalmente, que en la tercera placa se obtuvo un promedio de 11,76 y una desviación estándar de 0,43. Considerando el total en el tercer ciclo en el grupo control "B" se logró un promedio de valor pH 11,75 con una desviación estándar de 0,42, con una diferencia entre la medición inicial y final de -0,03 en el promedio de sus pH (Tabla 11).

Tabla 11: Valores pH placas Petri del grupo control "B" durante tercer ciclo

	3° Ciclo grupo control "B"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
15	12,09	12,08	12,09	12,08666667
16	11,94	11,95	11,96	11,95
17	12,32	12,4	12,4	12,37333333
18	11,66	11,65	11,68	11,66333333
19	11,42	11,52	11,55	11,49666667
20	11,21	11,23	11,23	11,22333333
21	11,12	11,2	11,17	11,16333333
22	12,2	12,08	12,06	12,11333333
Promedio (\bar{X})	11,745	11,76375	11,7675	11,75875
Dest. Estándar	0,4604966263	0,4333569133	0,4354882318	0,4236930031
Dif. Inicial-Final	-0,11	0	0,03	-0,0266666667

En el grupo control "C", tenemos que en su primera placa se registró un promedio de 7,25 y una desviación estándar de 0,21, en la segunda placa se observó un promedio de 7,23 y una desviación estándar de 0,22, y en la tercera placa se obtuvo un promedio de 7,23 y una desviación estándar de 0,198. Cabe considerar, que en total en el tercer ciclo en el grupo control "C" se logró un promedio de valor pH 7,24 con una desviación estándar de 0,20, con una diferencia entre la medición inicial y final de -0,03 en el promedio de sus pH. (Tabla 12)

Tabla 12: Valores pH placas Petri del grupo control "C" durante tercer ciclo

	3° Ciclo grupo control "C"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3	\bar{X} Total
15	7,53	7,52	7,53	7,526666667
16	7,28	7,26	7,27	7,27
17	7,24	7,24	7,23	7,236666667
18	7,21	7,21	7,19	7,203333333
19	7,04	7,01	7,03	7,026666667
20	6,98	6,95	6,97	6,966666667
21	7,15	7,12	7,14	7,136666667
22	7,6	7,58	7,49	7,556666667
Promedio (\bar{X})	7,25375	7,23625	7,23125	7,240416667
Dest. Estándar	0,2172515001	0,2225140445	0,1987415766	0,2038430591
Dif. Inicial-Final	-0,07	-0,06	-0,04	-0,05666666667

DISCUSIÓN

Dentro de los factores que alteran las propiedades físico-químicas del hipoclorito de sodio encontramos el pH (3, 4, 10, 11), este influye en la cantidad de formas de cloro libre disponible en el momento de la desinfección y la disolución de materia orgánica (32, 42, 64). Es debido a lo anterior que la evaluación de la fluctuación del pH de las soluciones parece ser pertinente para controlar y evaluar la evolución de diferentes soluciones heterogéneas.

A través de este estudio se registró una evidente disminución de pH, la cual se generó desde el momento en el que se inició el contacto del Hipoclorito de sodio con el material orgánico, y se mantuvo hasta el final del segundo ciclo (fluctuando los valores de pH en un rango inicial entre 11 hasta 9 aproximadamente), la magnitud de semejante fluctuación es tal que permite ser registrada y reproducida, lo que podría llevar a teorizar sobre la factibilidad de la existencia de un parámetro reproducible y medible a nivel clínico. El resultado observado en este estudio no es de sorprender, dado que ya previamente había sido descrita la reacción del NaOCl en su contacto con la materia orgánica, proceso en el cual se producen las reacciones de saponificación y neutralización que causan dicha disminución (42, 64, 65).

De la interacción química que ha sido observada y registrada en este estudio se puede colegir la relevancia de la irrigación continua del NaOCl dentro del Sistema de conductos radiculares, puesto que, se ha vuelto a demostrar que este compuesto, en los primeros minutos del contacto con el material orgánico, tiene una considerable baja en sus mediciones de pH del NaOCl, haciendo que estos caigan a valores mucho menores a 11, de esta forma, la solución se vuelve más inestable y la pérdida de cloro es más rápida, resultando en una reducción del tiempo de vida útil del NaOCl (66) y, por consiguiente, generando la necesidad del recambio de irrigación.

A pesar de lo mencionado anteriormente, existen estudios que indican que las variaciones de pH no afectarían la efectividad del hipoclorito de sodio y por consecuencia tampoco influiría en la capacidad de disolución de tejidos orgánicos. Zehnder et al., realizó un estudio donde se prepararon 4 soluciones de diferentes

concentraciones de hipoclorito de sodio tamponados y no tamponados, y se probó su eficacia de disolución con mucosa palatina de 4 cerdos, midiendo su peso previo y posterior al contacto con el irrigante, para así medir su capacidad de disolución de tejido orgánico, y a la vez observar cantidad de cloro libre. En sus resultados se obtuvo que el pH de la solución de NaOCl al 0,5 % sin tampón cayó de 12 a 10,5 después de 120 minutos de incubación del tejido, mientras que los valores de pH para las soluciones tamponadas de hipoclorito al 0,5% y al 2,5% permanecieron estables, estas variaciones no alteraron el proceso de disolución, ya que se le atribuye esta capacidad a la cantidad de cloro disponible. Por lo que se puede deducir que el pH no sería influyente en las propiedades de disolución de tejidos (67).

Por otro lado, al analizar las fluctuaciones de pH del grupo experimental durante el tercer ciclo, podemos observar que se obtuvo un pH final 11,6, siendo estos resultados similares a las mediciones de NaOCl obtenidos en el estudio de Barrera (66), en el cual se analiza el valor de pH del hipoclorito de sodio por sí solo de 15 marcas comerciales, logrando un promedio de valor pH 11,9 +/- 0,683. Valores similares fueron obtenidos en los estudios de Rutala (68), con un pH alcalino cercano a 11, y Davalos (69), en donde se demuestra que las soluciones analizadas presentan un pH alcalino cercano a 12. Dichos autores respaldan los resultados obtenidos en este estudio, entendiéndose que los valores finales obtenidos cercanos a 12 indican una disolución completa del material orgánico, considerando que los valores de pH al final del tercer ciclo son similares a los del hipoclorito de sodio por sí solo.

El principio de Le Chatelier indica que cuando un sistema experimenta una alteración este responderá y se volverá a establecer un nuevo estado de equilibrio. Esto es aplicable también a soluciones y en este caso al experimento desarrollado. En este, los factores en discusión que pudieron generar la distorsión del equilibrio inicial son; la unión de las 2 soluciones (Sangre de bovino + hipoclorito de sodio), el recambio del irrigante entre los ciclos y la posterior activación de este. Lo que da respuesta a la diferencia en los valores de pH inicial y final posterior al tercer ciclo de recambio en el grupo experimental observados en los resultados del experimento (70).

Por otra parte, la diferencia de valores de pH iniciales y finales han sido observados en otros estudios donde se midió el pH del hipoclorito de sodio antes, al contactar con pulpa de bovino y posteriormente, en donde los resultados obtenidos muestran que el pH final disminuye en comparación al pH inicial (64). Esto podría ser atribuido, en primera instancia, a la presencia de partículas de materia orgánica que persistieron posterior al proceso de disolución y también a que se debe considerar que, al contactar el hipoclorito de sodio con materia orgánica, este neutraliza a los aminoácidos de dicha materia liberando agua y sal, esta reacción produce una salida de iones hidroxilos, lo que podría justificar la reducción de pH resultada en estos estudios (42).

Asimismo, se observó que en las mediciones finales realizadas en el irrigante se obtuvo un valor pH igual al valor inicial, es decir cercano a 12, lo que es indicador de que hubo una disolución efectiva del material orgánico. Es necesario considerar que para el diseño de este experimento se utilizó un protocolo guía con un tiempo establecido (71), sin embargo, se encontró en la literatura diferentes investigaciones que señalan que aún no existe un tiempo determinado en donde se logre una completa disolución del material orgánico. Esto se debe a que cada diseño experimental difiere en el tiempo de exposición al irrigante por parte del material orgánico para completar su disolución y también en la cantidad de material orgánico/hipoclorito de sodio utilizados (72, 73). Se propone la necesidad de estandarizar los tiempos de exposición y la posterior creación de protocolos que orienten su medición. Pese a ello, Christensen et al. (74) indica que la reducción de pH conlleva a la necesidad de aumentar el tiempo de contacto con el tejido orgánico, asimismo, otros autores también consideran el pH como una variable importante, ya que al aumentar este valor mejora la eficacia del hipoclorito de sodio en la disolución de tejidos. Lo que, en conjunto a la optimización de factores como temperatura y concentración, logra mejorar la capacidad de disolución del NaOCl hasta 50 veces (10, 11). Con respecto a la concentración de la solución, se sabe que a menor concentración, mayor es la reducción del pH después de la exposición con el tejido orgánico, esto se podría explicar debido a que al reaccionar todas las partículas de NaOCl con la materia

orgánica, se produce en gran medida una liberación de hidroxilos, lo que se traduce en una reducción del valor pH y en la saturación de la solución (42).

Es menester considerar que a pesar de haber utilizado coadyuvantes para mejorar la efectividad de la disolución como es el propio recambio del hipoclorito de sodio y de su activación con ultrasonido, con los cuales se aumentó considerablemente el tiempo de disolución, sigue siendo insuficiente el tiempo destinado en este estudio para lograr este procedimiento en su totalidad. Es por esto que, a modo de propuesta para mejorar futuros estudios, ya sean in vitro o en etapa clínica, se sugiere aumentar el tiempo de exposición del material orgánico con el NaOCl, e inclusive agregar un 4to ciclo con la finalidad de comprobar si existe o no una disolución completa de la materia orgánica, teniendo en consideración que en un sistema de conductos no se logrará un 100% de desinfección de dicho sistema, sino más bien, se busca lograr la mayor desinfección posible.

La activación del hipoclorito de sodio con ultrasonido realizada en este experimento no solo mejora la capacidad de disolución de los tejidos, sino que además aumenta la temperatura de la solución, sin embargo, la literatura señala que este aumento de temperatura no resulta ser suficiente para mejorar la velocidad de disolución (76, 77). De igual forma, en aquellos productos de NaOCl cuyas concentraciones son cercanas a 5% (similar a lo utilizado en este estudio), las variaciones de temperatura no son tan determinantes en variar la velocidad de disolución, como si lo es la activación de las partículas sobre la solución de NaOCl y material orgánico (72). Existen, por el contrario, estudios que indican que la vibración ultrasónica cumple un rol sinérgico, es decir, que el aumento de la capacidad de contacto con las moléculas más el aumento de la temperatura producido por este resultaría en una mayor disolución de los tejidos (77). Este aspecto indicaría que la activación realizada al hipoclorito de sodio en este estudio corresponde a un elemento favorecedor en la disolución de tejido orgánico que se evidenció en los resultados obtenidos.

A pesar de lo mencionado, para este estudio se consideró que el aumento de temperatura inducido por el instrumento de ultrasonido no tiene implicancia en la

efectividad de disolución del hipoclorito, ya que el tiempo de exposición del instrumento es considerablemente menor a lo expuesto en estudios anteriores, por lo que la propiedad más influyente sería el rol de activación, el cual fue incluido como variable en el estudio, con la finalidad de simular las acciones realizadas en la práctica clínica (11).

En lo que respecta al grupo control "A" conformado por sangre con suero, se debe considerar que el valor pH de la sangre descrito en la literatura varía entre 7.35 y 7.45 aproximadamente (78), y el valor pH de una solución de suero varía entre 4,5 y 7.7 (79). Al reaccionar ambos elementos en una solución los resultados del experimento mostraron que el pH tiende a estabilizarse en un valor promedio de 7,8 al final del tercer ciclo lo que, si bien es cercano a los valores de pH normales de cada elemento por sí solo, sigue siendo más alto que estos. Dicho fenómeno responde al principio de Le Chatelier mencionado anteriormente (70), que postula que cuando un sistema sufre una alteración, este responderá y se volverá a establecer un nuevo equilibrio, por lo que, aplicado a este estudio, es posible que ocurra un aumento del valor pH en una solución en la que se encuentran elementos reaccionando entre sí, en este caso sangre bovina y suero fisiológico, lo que se podría considerar dentro de los parámetros de normalidad.

Este mismo fenómeno se repite en los grupos controles "B" y "C", sin embargo, el pH inicial del grupo "C" (solo suero) se encuentra más alto en comparación a los valores descritos en la literatura (79), lo que puede suceder por la interacción de los mismos componentes del suero fisiológico al utilizar la activación con ultrasonido. Otra causa posible puede estar relacionada con la persistencia de elementos de desinfección, como jabón enzimático, que pudieron haber quedado de manera residual en las placas Petri posterior al proceso de esterilización.

Una de las limitaciones de este estudio fue la cantidad de muestras analizadas por grupo, ya que, si bien las mediciones en las 3 muestras de cada grupo entregaron resultados similares, estos no fueron exactamente iguales. Sin embargo, las diferencias entre los valores de pH observadas en los resultados en cada grupo

experimental, no son lo suficientemente grandes como para marcar una variación visible en el resultado que entrega el papel marcador pH, por lo que no resultaría relevante, considerando que la finalidad de este estudio es entregar los fundamentos para el diseño de un instrumento en forma de cono de papel capaz de medir el pH, que ayude a aumentar la efectividad del tratamiento de endodoncia y la toma de decisiones por parte del clínico.

Otra limitación a considerar en este estudio es el uso de placas Petri estériles como contenedor de la reacción entre el material orgánico y el NaOCl. Si bien, el valor pH reportado en la literatura del suero fisiológico es de 7, en el presente estudio se obtuvo un promedio de valor inicial cercano a 9 medido a tiempo 0 cuando se depositó en la placa Petri, esto se atribuye a la presencia de elementos residuales de desinfección química del proceso de esterilización a cargo de agentes externos a la investigación.

La falta de estandarización internacional en el tiempo de disolución del material orgánico y en la cantidad de material orgánico/hipoclorito de sodio, también se puede considerar como una limitación en nuestro estudio, ya que hace difícil el poder extrapolar los resultados a otro tipo de estudio con otros parámetros.

Por otro lado, el protocolo de irrigación utilizado en este estudio podría considerarse como fortaleza de este mismo, ya que la metodología utilizada fue seguida minuciosamente utilizando como base los protocolos de irrigación dictados por la cátedra de endodoncia de la Universidad de Valparaíso, lo que junto con la previa aleatorización de las muestras (placas Petri) aporta en la reproducibilidad del experimento para futuros estudios.

En base a lo anterior, este experimento busca fundamentar la futura creación de un instrumento similar a un cono de papel, con la capacidad de medir los valores de pH, lo que ayudará al clínico tratante a determinar, por una parte, la efectividad del irrigante a utilizar, y comprobar que el valor pH de éste se encuentre acorde a lo manifestado por el fabricante, ya que se pueden presentar alteraciones tanto por su almacenamiento como en su comercialización. Junto con esto, uno de los objetivos

que persigue este experimento, es decir determinar el momento exacto en donde se cumpla efectivamente la disolución del material orgánico al interior del sistema de conductos radiculares, lo que va a ayudar a tener un parámetro clínico fácilmente medible para el tratante y además aportaría mayor seguridad para continuar con las etapas siguientes en el tratamiento de endodoncia, ofreciendo una alternativa innovadora respecto al manejo de la irrigación con hipoclorito de sodio.

CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio permitieron concluir que existe una fluctuación medible en el valor de pH del Hipoclorito de Sodio al 4,9% cuando este contacta con el material orgánico, la cual tiende a ser casi nula a medida que este se disuelve por el irrigante.

Este estudio permitió registrar los valores de pH de los diferentes irrigantes de los grupos experimentales y controles "A", "B" y "C" en el transcurso de los 3 ciclos y así observar sus fluctuaciones a lo largo del tiempo.

El pH del hipoclorito de sodio en contacto con la materia orgánica fluctúa bidireccionalmente durante el transcurso del experimento, sin embargo, este se estabiliza desde el minuto 14 en valores de pH básicos entre 11,3 - 11,6, hasta los 21 minutos. Esto último permite responder a la pregunta de investigación de este experimento.

Además, se logró determinar que el hipoclorito de sodio por sí solo no presenta variaciones considerables en el tiempo en las mismas condiciones que los demás grupos controles y experimental, demostrando así su estabilidad.

Bibliografía

1. Touboul V, Germa A, Lasfargues J-J, Bonte E. Outcome of endodontic treatments made by postgraduate students in the dental clinic of bretonneau hospital. *Int J Dent*. 2014;2014(684979):1- 11.
2. Gonçalves LS, Rodrigues RC, Andrade Junior CV, Soares RG, Vettore MV. The Effect of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine as Irrigant Solutions for Root Canal Disinfection: A Systematic Review of Clinical Trials. *J Endod*. 2016 Apr;42(4):527-532.
3. Abuhaimeed TS, Abou Neel EA. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. *Biomed Res Int*. 2017;2017(1930360):1-8.
4. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Muwaquet-Rodríguez S, Albero Monteagudo A. Update of the therapeutic planning of irrigation and intracanal medication in root canal treatment. A literature review. *J Clin Exp Dent*. 2019;11(2):185-193
5. Frough-Reyhani M, Ghasemi N, Soroush-Barhaghi M, Amini M, Gholizadeh Y. Antimicrobial efficacy of different concentration of sodium hypochlorite on the biofilm of *Enterococcus faecalis* at different stages of development. *J Clin Exp Dent*. 2016;8(5):480-484.
6. Ruksakiet K, Hanák L, Farkas N, Hegyi P, Sadaeng W, Czumbel LM, Sang-Ngoen T, Garami A, Mikó A, Varga G, Lohinai Z. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *J Endod*. 2020;46(8):1032-1041.
7. Coaguila-Llerena H, Barbieri I, Tanomaru-Filho M, Leonardo RT, Ramos AP, Faria G. Physicochemical properties, cytotoxicity and penetration into dentinal tubules of sodium hypochlorite with and without surfactants. *Restor Dent Endod*. 2020;45(4):47-58.

8. Guivarc'h, M., Ordioni, U., Ahmed, H. M. A., Cohen, S., Catherine, J.-H., & Bukiet, F. Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review. *J Endod.* 2017;43(1):16–24.
9. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontics irrigating solutions. *Endod Topics.* 2013;27(1):74-102.
10. Alfaro A, Araya M, Paredes C. Interacciones moleculares del hipoclorito de sodio y el órgano dentino pulpar. Una revisión crítica de la literatura [tesis pregrado]. Valparaíso: Universidad de Valparaíso, 2020.
11. Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod.* 2010;36(9):1558-62.
12. Autino J. Introducción a la química orgánica. 1st. ed. Buenos aires, Argentina. Editorial de la universidad de la plata; 2013.
13. Klein D. Química orgánica. 1st. ed. Baltimore: Médica panamericana; 2013.
14. L.G. Wade, Jr. Química orgánica. 7th. ed. México: Pearson educación; 2011.
15. Yurkanis P. Fundamentos de química orgánica. 1st. Ed. México. Pearson educación; 2007
16. Atkins P, Jones L, Cwi S, Ménez A, Rondinone S. Principios de química : los caminos del descubrimiento. Buenos Aires ; Madrid: Editorial Médica Panamericana, Cop; 2018.
17. Saínez B. Alteraciones del equilibrio ácido básico. *Rev Cubana Cir.* 2006; 45(1).
18. Mckee T, Mckee J. Bioquímica de las bases moleculares. 4th. ed. México: Mcgraw-hill / Interamericana de México;2014.
19. Aristizábal E, Calvo F, Valencia A, Montoya M, Barbosa O, Hincapié V. Equilibrio ácido-base: el mejor enfoque clínico. *Colomb J Anesthesiol.*

2015;43(3):219–224.

20. Bustamante A, Murillo N, Ayala A, Casas A. Estrategia didáctica para el aprendizaje de los conceptos de pH, efecto buffer y capacidad amortiguadora a partir del estudio de bebidas no alcohólicas. *Umb científico*. 2009;42(14). 181-192.
21. Aranke M, Moheimani R, Phuphanich M, Kaye AD, Ngo AL, Viswanath O, et al. Disinfectants In Interventional Practices. *Curr Pain Headache Rep*. 2021;25(4):21
22. Álvarez CA, Guevara CE, Valderrama SL, Sefair CF, Ortes JA, Jimenez MF, et al. Practical Recommendations for Preoperative Skin Antisepsis. *Infectio*. 2018;22(1):46-54.
23. Chidambaranathan AS, Balasubramanium M. Comprehensive Review and Comparison of the Disinfection Techniques Currently Available in the Literature: Disinfection of Dental Impressions. *J Prosthodont*. 2019;28(2):849-856.
24. Bock LJ, Wand ME, Sutton JM. Varying activity of chlorhexidine-based disinfectants against *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates and adapted strains. *J Hosp Infect*. mayo de 2016;93(1):42-48.
25. Hosseini H, Ashraf MJ, Saleh M, Nowroozzadeh MH, Nowroozizadeh B, Abtahi MB, et al. Effect of povidone–iodine concentration and exposure time on bacteria isolated from endophthalmitis cases. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(1):92-96.
26. Curaca SG, Huamán JL, Izaguirre CK. Eficacia de irrigantes para la desinfección de un biofilm salivario multiespecie de infección intraoral. Ica: Univ Nac San Luis Gonzaga Ica; 2018.
27. Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao MI, Medel M, et al. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud,

- Sociedad Chilena de Infectología. Rev Chil Infectol. 2017;34(2):156-174.
28. Hernández J, Celorrio M, Lapresta C, Solano M. Fundamentos de antisepsia, desinfección y esterilización. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2014;32(10):681-688.
 29. Ozonas BR. Biocidas: Datos sobre su evaluación para la salud, industria alimentaria e impacto ambiental. En: Aspectos higiénicos de los alimentos microbiológicamente seguros. Real Academia Nacional de Farmacia; 2010.
 30. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection, sterilization, and antisepsis: An overview. Am J Infect Control. 2019;47S:3-9.
 31. Schneiderman, M.T., Cartee, D.L. Surface Disinfection. DePaola, L., Grant, L. ed. Infection Control in the Dental Office. Springer, Cham; 2020.
 32. Campagna MV, Faure-Kumar E, Treger JA, Cushman JD, Grogan TR, Kasahara N, et al. Factors in the Selection of Surface Disinfectants for Use in a Laboratory Animal Setting. J Am Assoc Lab Anim Sci JAALAS. 2016;55(2):175-188.
 33. Petersen BT, Cohen J, Hambrick RD, Buttar N, Greenwald DA, Buscaglia JM, et al. Multisociety guideline on reprocessing flexible GI endoscopes: 2016 update. Gastrointest Endosc. 2017;85(2):282-294.
 34. Hong Y, Teska PJ, Oliver HF. Effects of contact time and concentration on bactericidal efficacy of 3 disinfectants on hard nonporous surfaces. Am J Infect Control. 2017;45(11):1284-1285.
 35. Gallandat K, Kolus RC, Julian TR, Lantagne DS. A systematic review of chlorine-based surface disinfection efficacy to inform recommendations for low-resource outbreak settings. Am J Infect Control. 2021;49(1):90-103.
 36. Amiri F, Mesquita MMF, Andrews SA. Disinfection effectiveness of organic chloramines, investigating the effect of pH. Water Res. 2010;44(3):845-853.

37. Jang Y, Lee J, So B, Lee K, Yun S, Lee M, et al. Evaluation of changes induced by temperature, contact time, and surface in the efficacies of disinfectants against avian influenza virus. *Poult Sci.* 2014;93(1):70-76.
38. Tanomaru-Filho M, Silveira BR, Martelo RB, Guerreiro-Tanomaru JM. Influence of Concentration and Agitation of Sodium Hypochlorite and Peracetic Acid Solutions on Tissue Dissolution. *J Contemp Dent Pract.* 2015;16(11):876-879.
39. Chubb DWR. A review of the prognostic value of irrigation on root canal treatment success. *Aust Endod J.* 2019;45(1):5-11.
40. Soares IJ, Goldberg F, González M. *Endodoncia: Técnica y fundamentos.* 2nd ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2012.
41. Cárdenas Á., Sánchez S, Tinajero C, González V, Baires L. Hipoclorito de sodio en irrigación de conductos radiculares: Sondeo de opinión y concentración en productos comerciales. *Rev Odont Mex.* 2012;16(4):252-258.
42. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mecanismo de acción del hipoclorito de sodio. *Braz. Mella. J.* 2002;13(2):113-117
43. Estrela C. *Ciencia endodóntica.* 1st ed. Sao Paulo: Artes Médicas; 2005.
44. Piskin B. Stability of various sodium hypochlorite solutions. *JOE.* 1995; 21(5):253-255
45. Marín ML, Gómez B, Cano AD, Cruz S, Castañeda DA, Castillo EY. Hipoclorito de sodio como irrigante de conductos. Caso clínico, y revisión de literatura. *Av Odontoestomatol.* 2019; 35(1):33-43.
46. Lewis PR. Sodium hypochlorite in root canal therapy. *Journal of the Florida Dental Society* 1954; 24:10-11.
47. Haapasalo M., Shen Y., Qian W., Gao Y. Irrigación en endodoncia. *Clínicas dentales de América del Norte .* 2010; 54(2): 291–312.

48. Gómez N. Remoción de materia orgánica por coagulación-floculación. Revisión de la literatura [tesis pregrado]. Manizales: Universidad Nacional de Colombia, 2005.
49. Kosobucki P., Buszewski B. Natural Organic Matter in Ecosystems - A Review. *Nov Biotech et Chim.* 2014; 13(2): 109-129
50. Julca A., Meneses L., Blas R., Bello S. Organic matter, importance, experiences and its role in agriculture. 2006; 24(1): 49-61
51. O'Melia. Interface science in drinking water treatment. *Interface Science and Technology*; 2006
52. Sillanpää M. Natural organic matter in water. 1st. ed. IWA publishing; 2015
53. MINEDUC. Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados. Fondecyt-CONICYT; 2018.
54. Figueroa M, Gil M. Órgano dentino-pulpar. Universidad Central de Venezuela; 2013.
55. Gómez ME, Campos A. Histología, Embriología e Ingeniería tisular bucodental. 3rd ed. Buenos Aires: Panamericana; 2009.
56. Cohen S. Vías de la pulpa. 10th. ed. Barcelona: Elsevier; 2011.
57. Inostroza C. Características funcionales y propiedades inmunomoduladoras de células madre mesenquimales de origen pulpar para el desarrollo de un modelo de regeneración tisular: Estudio experimental in vitro. [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad internacional de Cataluña, 2018.
58. Ortiz MA, Salazar L. Características Histológicas de la Pulpa Dental de Ratones de 4 y 12 Semanas. *International journal of odontostomatology.* 2014;8(2):159–164.

59. Yu C, Abbott P. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Australian Dental Journal*. 2007;52:4–6.
60. Gella Tomás FJ, Andrés Otero MJ, Rigo Bonnin R, Canalias Reverter F, Cano Corres R, Poblador SE, et al. Nomenclatura y unidades de las propiedades biológicas. Recomendación (2016). *Rev del Lab Clínico*. 2018;11(2):87–92
61. Banfi G, Salvagno GL, Lippi G. The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(5): 565–576.
62. Goedelmann C, Benavídez C, Durando M, Garcia R, M González, Sala M, Paz L. Influence of the EDTAK₂ and EDTAK₃ anticoagulants on hematology testing results. *Acta Bioq CI Latam*. 2018; 52(2):323-330.
63. Moradas M, Álvarez B. El barrillo dentinario y su importancia en endodoncia. *RCOE*. 2019;24(1): 11-21.
64. Spanó JCE, Barbin EL, Santos TC, Guimarães LF, Pécora JD. Solvent Action of Sodium Hypochlorite on Bovine Pulp and Physico-Chemical Properties of Resulting Liquid. *Braz Dent J*. 2001;12(3): 154-157.
65. Palazzi F, Morra M, Mohammadi Z, Grandini S, Giardino L. Comparison of the surface tension of 5.25% sodium hypochlorite solution with three new sodium hypochlorite-based endodontic irrigants. *Int Endod J*. 2012;45(2):129-135.
66. Borio B, Sol M. Verificación del ph de diferentes soluciones de hipoclorito de sodio. *UNCuyo*. 2016;10(1): 7-11.
67. Zehnder M., Kosicki D., Luder H., Sener B., & Waltimo T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surg, Med, Pathol, Rad, and Endod*, 2002;94(6):756–762.
68. Rutala WA, Weber DJ. Use of Inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin. Microbiol. Rev*. 1997;10(4): 597–610

69. Davalos S, Escobar PM, Perdomo M. Verificación del cloro activo y pH de diferentes soluciones de Hipoclorito de sodio encontradas en el Mercado Paraguayo. *Paraguay oral Res*;2012;1(1): 11-15
70. Quílez J, SanJosé, V. El principio de Le Chatelier a través de la historia y su formulación didáctica en la enseñanza del equilibrio químico. *Enseñ de las Cienc*;1996;14(3): 381-390
71. Iandolo A, Dagna A, Poggio C, Capar I, Amato A, Abdellatif D. Evaluation of the actual chlorine concentration and the required time for pulp dissolution using different sodium hypochlorite irrigating solutions. *J Conserv Dent*. 2019;22(2):108-113.
72. Jaiswal S, Gupta S, Nikhil V, Bhadoria A, Raj S. Effect of intracanal and extracanal heating on pulp dissolution property of continuous chelation irrigant. *J Conserv Dent*. 2021;24(6): 544-548
73. Srinivasan S, Kumarappan SK, Ramachandran A, Honap MN, Kadandale S, Rayar S. Comparative evaluation of pulp tissue dissolution ability of sodium hypochlorite by various activation techniques: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2020;23(3):304-308.
74. Christensen CE, McNeal SF, Eleazer P. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. *J Endod*. 2008;34(4):449-452.
75. Macedo, R. G., Wesselink, P. R., Zaccheo, F., Fanali, D., & Van Der Sluis, L. W. M. Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH. *Int Endod J*. 2010;43(12):1108–1115.
76. Mohammadi Z, Shalavi S, Giardino L, Palazzi F, Asgary S. Impact of Ultrasonic Activation on the Effectiveness of Sodium Hypochlorite: A Review. *Iran Endod J*. 2015;10(4):216-220.
77. Macedo, R. G., Verhaagen, B., Wesselink, P. R., Versluis, M., & van der Sluis, L. W. M. Influence of refreshment/activation cycles and temperature rise on the

reaction rate of sodium hypochlorite with bovine dentine during ultrasonic activated irrigation. *Int Endod J.* 2013;47(2):147–154.

78. Kellum JA. Determinants of blood pH in health and disease. *Crit Care.* 2000;4(1):6-14.

79. Reddi BA. Why is saline so acidic (and does it really matter?). *Int J Med Sci.* 2013;10(6):747-750.

Anexo 1

1° Ciclo grupo experimental			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
2° Ciclo grupo experimental			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
3° Ciclo grupo experimental			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			

1° Ciclo grupo control "A"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
2° Ciclo grupo control "A"			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
3° Ciclo grupo control "A"			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			

1° Ciclo grupo control "B"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
2° Ciclo grupo control "B"			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
3° Ciclo grupo control "B"			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			

1° Ciclo grupo control "C"			
Tiempo	pH Placa 1	pH Placa 2	pH Placa 3
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
2° Ciclo grupo control "C"			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
3° Ciclo grupo control "C"			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			