

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**“EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS DEL pH DEL  
HIDRÓXIDO DE CALCIO MEZCLADO CON HIPOCLORITO  
DE SODIO, CLORHEXIDINA Y SOLUCIÓN SALINA”.**

Trabajo Terminal que para obtener el  
DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

PRESENTA  
KARLA ANGÉLICA BARAJAS FIGUEROA

PRESIDENTE  
DR. JULIO CESAR GARCÍA BRIONES

SINODAL  
DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

SINODAL  
DRA. VERÓNICA GONZÁLEZ TORRES

Tijuana Baja California, a Mayo 2016

## **Dedicatoria**

---

Dedicado en especial a mi papá y familia, sin ellos esto no hubiera sido posible, amigos que me apoyaron durante todo este recorrido, a mis maestros de ayer y hoy que me enseñaron a conocer y amar la endodoncia.

Y a mi coordinadora por guiarnos y ayudarnos incondicionalmente.

## Resumen

---

El tratamiento endodóntico depende de diversos aspectos, entre ellos de la vitalidad de la pulpa.

En el caso de las biopulpectomías que por diversas circunstancias deban de postergar su culminación con una cita adicional, existe una controversia sobre el tipo de medicamento intraconducto entre sesiones a usar. Dentro de ellos las más aceptadas son las pastas de hidróxido de calcio por sus propiedades como antimicrobiano, favorecedor de la reparación tisular y su pH alcalino. Sin embargo, estos efectos pueden ser modulados o variantes por el vehículo de la pasta.

En esta investigación se propone el hipoclorito de sodio, clorhexidina y solución salina como vehículos de la pasta de hidróxido de calcio, ya que por sus propiedades biológicas pueden mejorar la respuesta tisular a la pasta de hidróxido de calcio.

El objetivo de esta investigación fue determinar la influencia del hipoclorito de sodio, clorhexidina y solución salina en el nivel de pH, cuando son utilizados como vehículo en las pastas de hidróxido de calcio.

Se prepararon tres pastas de hidróxido de calcio: la Pasta A (hidróxido de calcio con hipoclorito de sodio, B (hidróxido de calcio con clorhexidina), y la Pasta C (hidróxido de calcio con solución salina) y dos pastas utilizadas como control.

El diseño experimental elegido fue un modelo in vitro utilizando 38 dientes extraídos humanos a los cuales se dividió en 3 grupos y se les colocó las pastas de hidróxido de calcio con los distintos vehículos, y 2 grupos control, se sumergieron en agua destilada cada uno en un vaso pequeño de vidrio, se evaluó el pH a las 0 horas, 24 horas, 7 días y 12 días.

## Índice

---

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 1. Introducción                   | 1  |
| 2. Antecedentes                   | 3  |
| 3. Planteamiento del problema     | 11 |
| 4. Justificación                  | 12 |
| 5. Marco teórico                  | 13 |
| 6. Hipótesis                      | 28 |
| 7. Objetivos                      | 28 |
| 8. Materiales y Métodos           | 31 |
| 9. Resultados                     | 42 |
| 10. Discusión                     | 46 |
| 11. Conclusiones                  | 49 |
| 12. Referencias<br>bibliográficas | 50 |
| 13. Anexos                        | 54 |



## **1. Introducción**

---

La endodoncia es el campo de la odontología que estudia la morfología de la cavidad pulpar, la fisiología y la patología de la pulpa dental, así como la prevención y el tratamiento de las alteraciones pulpares y de sus repercusiones sobre los tejidos periodontales.

Tiene como objetivo primordial conservar la pulpa dental viva, o parte de ella, y en condiciones de ejercer sus funciones.

La endodoncia procura conservar los dientes cuya pulpa, por alguna razón, se encuentra afectada en forma irreversible o perdió la capacidad de mantenerse con vitalidad.

Durante la preparación biomecánica mediante el uso de instrumentos endodónticos y ayudados por productos químicos, será posible limpiar, conformar y desinfectar el conducto radicular y, de esa forma, tornar viables las condiciones para que pueda obturarse.<sup>1</sup>

La actividad antimicrobiana de los medicamentos intraconducto entre sesiones es una importante consideración en endodoncia.<sup>2</sup>

El hidróxido de calcio es el medicamento intraconducto más usado en endodoncia. Se disocia en iones de calcio e hidroxilo en una solución acuosa. La propiedad antimicrobiana del hidróxido de calcio se atribuye a la liberación de iones hidroxilo y proporciona un ambiente altamente alcalino con un valor de pH de aproximadamente 12.593,101. La mayoría de los microorganismos del conducto radicular infectados son incapaces de sobrevivir en el ambiente alcalino. Sin embargo, el hidróxido de calcio no es igual de eficaz contra todas las bacterias que se encuentran en el conducto de la radicular. Se ha demostrado que el tratamiento con hidróxido de calcio como una obturación provisional en la presencia de lesiones periapicales grandes y crónicas puede crear un entorno más favorable para la curación y fomentar la reparación ósea.<sup>3</sup>

El gluconato de clorhexidina se puede utilizar en endodoncia como un medicamento intraconducto irrigante y debido a su biocompatibilidad, sustentividad y a su amplia actividad antimicrobiana.<sup>4</sup>

El vehículo tiene un importante papel, ya que determina la velocidad de disociación iónica haciendo que la pasta para ser solubilizado y se reabsorbe a varios niveles desde el conducto radicular a hasta los tejidos periapicales. En general se utilizan tres tipos de vehículos: acuosa, viscoso, o aceitosa.<sup>3</sup>

El presente estudio se realizó para evaluar la influencia del hipoclorito de sodio al 2%, clorhexidina al 0.2% y solución salina en el nivel de pH, cuando son utilizados como vehículo en las pastas de hidróxido de calcio.

## 2. Antecedentes

---

En el 2015 Ferreira N S. realizó un estudio clínico que tuvo como objetivo determinar el perfil microbiológico resistente a los diferentes medicamentos intraconductos en infecciones endodónticas primarias mediante el uso de tanto el cultivo microbiológico y el tablero de ajedrez DNA-DNA técnica de hibridación. Se utilizaron veinte dientes se seleccionaron conductos de la raíz infectados y luego instrumentados antes de ser divididos aleatoriamente en 2 grupos de acuerdo con los medicamentos intraconducto: hidróxido de calcio Ca [OH]<sub>2</sub> o Ca (OH)<sub>2</sub> + clorhexidina (CHX). Las muestras se recogieron antes y después del procedimiento en el conducto radicular, que consistía en someter a cultivo microbiológico y los de procesamiento para tablero de ajedrez hibridación ADN-ADN. Los resultados fueron que no hubo diferencias encontradas entre el Ca (OH)<sub>2</sub> (99,98%) y Ca (OH)<sub>2</sub> + CHX grupos (99,76%) con respecto a la mediana los valores de porcentaje de reducción de bacterias cultivables. Las especies detectadas con mayor frecuencia fueron *Capnocytophaga* (70%) y *Fusobacterium ssp nucleatum. vincentii* (70%) en las muestras iniciales. Después de la instrumentación, la más frecuentemente detectados especies fueron *E. faecium* (60%). Después de utilizar Ca (OH)<sub>2</sub> o Ca (OH)<sub>2</sub> + CHX como medicamentos intraconducto, la mayor parte especies detectadas con frecuencia eran *F. nucleatum ssp. vincentii* (90%) y *Enterococcus faecium* (40%). Ambos tratamientos significativamente disminuyó el número de especies bacterianas en comparación con la muestra inicial. Sin embargo, esta reducción se significativamente mayor en el Ca (OH)<sub>2</sub> + Ca grupo CHX ( $P < 0,05$ ). También se observó Esta diferencia en la evaluación de la carga total de bacterias ( $P < 0,05$ ). Se concluyó que el uso de Ca (OH)<sub>2</sub> asociado con CHX como un medicamento intraconducto mostró mejores resultados actuando sobre grampositivos y microorganismos gram-negativos aunque como una acción para erradicar enterococos también debe ser buscado.<sup>5</sup>

Charu Grover y cols. 2014, realizaron un estudio para evaluar la liberación de iones de calcio y medir el cambio en el pH del medio ambiente que se produjo cuando el hidróxido de calcio se combinó con diferentes vehículos (agua destilada, propilenglicol, gutapercha de hidróxido de calcio y quitosano) durante diferentes períodos de tiempo.

Se utilizaron 40 dientes con 1 sola raíz de primeros premolares mandibulares. Los dientes se dividieron al azar en cuatro grupos. Los conductos fueron entonces rellenados con diferentes preparaciones de hidróxido de calcio utilizando los siguientes vehículos agua destilada, propilenglicol, puntas de gutapercha y quitosano. La liberación de iones de calcio en diferentes grupos se analizó usando un ultravioleta espectrofotómetro a 220 nm. Se determinó el cambio en el pH de la utilización de un medidor de pH. Los resultados fueron por la liberación de iones de calcio, Grupo de propilenglicol mostro liberación del fármaco acumulado de 81,97% a finales de los 15 días, el grupo de agua destilada, puntas de gutapercha que contienen hidróxido de calcio y quitosano mostraron una liberación de 99,53, 17,98, 74,93%, con una diferencia significativa entre todos los grupos. El grupo de agua destilada alcanzó el mayor nivel de iones de calcio (39,79%) al final de 1 día, pero mostró una liberación casi completa de hidróxido de calcio a los 15 días. Grupo de gutapercha de hidróxido de calcio mostró menos liberación de iones de calcio (17, 98%) a los 15 días. Grupo de quitasono mostró una liberación de iones de hidroxilo a partir de 74% a los 15 días a 95% al final de los 30 días. El grupo de agua destilada mostró el nivel de pH más alto (11, 8) y un pH reducido a 7, 8 al final de 30 días. El grupo propilenglicol mostró el valor más alto de pH (10, 35), seguido por el Grupo de quitosano (10,32) después de 30 días. Concluyeron que el quitosano se puede utilizar como un vehículo prometedor para el hidróxido de calcio para mantener un pH alcalino y para permitir la liberación sostenida de iones de calcio en el sistema de conductos radiculares.<sup>6</sup>

Agrafioti y cols. en el 2013, estudiaron la influencia de la dentina de las paredes radiculares y el piso de cámara pulpar en el pH de los medicamentos

intraconducto. Se utilizaron pasta de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , clorhexidina gel 2% y la combinación de ambas. El polvo de dentina se obtuvo de las paredes del conducto radicular y del piso de cámara pulpar de dientes de bovino y se le agrego el 1.8% al volumen de los medicamentos. El pH de las mezclas se evaluó inmediatamente después de la preparación, después de 24hrs y en 7 y 14 días. Los resultados fueron que el valor de pH del hidróxido de calcio fue siempre arriba de 12 en presencia o ausencia de polvo de dentina durante los 14 días del estudio. Hubo una disminución significativa en el valor del pH del hidróxido de calcio después de los 14 días cuando se le agrego polvo de dentina de las paredes del conducto. El pH de la clorhexidina gel aumento significativamente en presencia de dentina. El pH de la combinación del hidróxido de calcio con el gel de clorhexidina no fue influenciado por el polvo de dentina y se observó una reducción después de los 14 días, exactamente igual que el grupo control. El pH de la combinación no fue alterado a los 14 días cuando se le agrego el polvo de dentina de cámara pulpar. Concluyeron que los diferentes tipos de dentina afecta el pH de la pasta de hidróxido de calcio, clorhexidina gel y su combinación en los periodos de estudio.<sup>7</sup>

Ali Reza Farhad y cols en el 2012 realizaron una investigación para comparar la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio combinado con tres vehículos diferentes en el sistema de conductos radiculares.

Se utilizaron 61 dientes humanos recién extraídos con 1 sola raíz. A los dientes se les introdujo hidróxido de calcio en combinación con: G1: El agua destilada; G2: hipoclorito de sodio al 5,25%; G3: clorhexidina al 0,2%. Todos los dientes se montaron. Después de la esterilización, la cámara coronal fue expuesta a las bacterias y la camara en apical contenía caldo durante 90 días. Fue grabado y registrado la contaminación de cada grupo en diferentes tiempos. Los resultados fueron tiempo medio más alto de contaminación fue para la combinación clorhexidina con hidróxido de calcio ( $M = 66.76$  días), y la más baja fue para la combinación agua destilada con hidróxido de calcio ( $M = 40,29$  días). 88,23% de las muestras del grupo de agua destilada, 70,58% de hipoclorito de sodio al

5.25%, y 64,70% de clorhexidina al 0.2% estaban contaminadas después de 3 meses.<sup>2</sup>

En otro estudio realizado en el 2012, Húngaro y cols., analizaron la influencia de la activación ultrasónica de las pastas de hidróxido de calcio en el pH y en la liberación de calcio en reabsorciones radiculares externas simuladas. Utilizaron 46 incisivos de bovinos, los limpiaron e instrumentaron, les crearon un defecto en el tercio medio externo de las raíces. Los dientes se sellaron externamente, excepto en el área del defecto y se dividieron en 4 grupos de 10 muestras cada uno, de acuerdo con la pasta de hidróxido de calcio utilizada o no con activación ultrasónica: grupo 1: propilenglicol sin activación ultrasónica, grupo 2: agua destilada sin activación ultrasónica, grupo 3: propilenglicol con activación ultrasónica, y grupo 4: agua destilada con activación ultrasónica. Después de rellenar los conductos con las pastas, los dientes fueron restaurados e inmersos individualmente en frascos con agua ultrapura. Después de 7, 15 y 30 días las muestras fueron puestas en otros frascos y el pH del agua fue medido con un medidor de pH. La liberación de calcio fue medida con un espectómetro de absorción atómica. Se utilizaron 6 dientes como controles. Los resultados fueron estadísticamente comparados con la prueba Kruskal-Wallis y Mann-Whitney U. Obtuvieron como resultado que en todos los periodos analizados, el nivel de pH se encontró más alto en donde se utilizó la pasta de hidróxido de calcio activada con el ultrasonido. La liberación de calcio fue significativamente mayor utilizando la activación ultrasónica después de los 7 y 30 días. Llegaron a las conclusiones que la activación ultrasónica de las pastas de hidróxido de calcio favorece el incremento del nivel de pH y liberación de calcio en resorciones radiculares externas simuladas.<sup>8</sup>

Heward S y cols. 2011, se realizaron un estudio en el que se medía la penetración de iones hidroxilo intraconducto a través de la dentina y se utiliza para detener la reabsorción radicular inflamatoria externa. Sin embargo, a largo plazo y la colocación hidróxido de calcio a corto plazo se ha asociado con un mayor riesgo de fractura de la raíz. El mineral trióxido agregado (MTA) podría proporcionar una

alternativa al hidróxido de calcio como una fuente de iones hidroxilo. Se comparó los efectos del MTA e hidróxido de calcio en la penetración de iones hidroxilo intraconducto a través de la dentina por la medición de los cambios de pH de la raíz simulado defectos de reabsorción. Se utilizaron 21 pares de dientes extraídos, anteriores permanentes y 7 adicional dientes (controles). Los conductos radiculares fueron instrumentados para tamaño 50 / 0,04 y se introdujo el material dentro del conducto, MTA (Pro-Root) e hidróxido de calcio (ULTRACAL XS); dientes de control se llenaron con solución salina. El pH en las cavidades de la superficie de la raíz era medido a 3 horas, 24 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas y 4 semanas. Los resultados fueron en los controles, las lecturas de pH no difirió significativamente durante las 4 semanas. Como resultados el pH promedio fue mayor en el grupo de MTA 8,66 en comparación con el grupo de hidróxido de calcio 8,46. A las 4 semanas pH fue mayor en el grupo de MTA 8,30 en comparación con el grupo hidróxido de calcio 7,9. Como conclusión los grupos de MTA e hidróxido de calcio mediante el efecto de pH en general retrasan los defectos de reabsorción radicular a las 4 semanas como medicamento intraconducto.<sup>9</sup>

En el 2011 Madhubala et al, evaluaron y compararon la actividad antimicrobiana de hidróxido de calcio, mezcla de tres antibióticos (TAM), y un extracto de etanol de propóleo como medicamentos intraconducto en conductos radiculares infectados por *Enterococcus faecalis*. 120 incisivos centrales superiores permanentes intactos extraídos recientemente con raíces únicas y rectas y ápices maduros se almacenaron la solución salina. A todos los dientes se le retiro la corona con un disco de diamante y la longitud se estandarizo a 10mm. El tercio coronal se preparó con fresas Gates Glidden (1, 2, 3 y 4) y se utilizaron limas hedstrom para instrumentar a 0.5 mm más del foramen apical. Las muestras se colocaron en un baño ultrasónico con EDTA al 17% por 5 min. Seguido de hipoclorito de sodio al 5.25% por 5 min para remover el debris inorgánico y orgánico. La ampliación del foramen apical se selló con resina para prevenir la filtración bacteriana. Y las muestras se montaron verticalmente en cubos de acrílico. Estas muestras montadas se esterilizaron y se comprobó con cultivo su

esterilización. Se utilizó un cultivo de *E. faecalis*. Las colonias bacterianas se sumergieron en 5ml de caldo infusión cerebro-corazón y se incubaron por 4hrs a 37° C. Cada muestra fue contaminada con 10ml de *E. faecalis* y se incubaron a 37° C por 21 días. Después de la incubación se tomó la primer muestra, se inundó el conducto con solución salina y se colocó una lima hedstrom 50 para raspar la dentina durante el proceso. Se colocó una punta de papel absorbente por 60seg y se transfirió a tubos de prueba. Se colocó en platos con de Pfizer-selective *Enterococcus* médium., estos se incubaron por 24 hrs a 37° C. Las muestras se dividieron aleatoriamente en cinco grupos (n = 24). Cada grupo fue expuesto a diversos medicamentos intraconducto, hidróxido de calcio (grupo 1), TAM (grupo 2), propolis (grupo 3), etanol (grupo 4), y solución salina como el grupo de control (grupo V). Después de la colocación de los diferentes medicamentos, los grupos se subdividieron en 3 grupos de 8 muestras cada uno y fueron incubados por diferentes periodos de tiempo de 1, 2 y 7 días. La eficacia antibacterial del medicamento intraconducto se registró mediante la determinación del porcentaje de reducción en los recuentos de colonias (% RCC) al final del día 1, 2 y 7. Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando un solo sentido análisis de varianza Tukey Honestly Significant Difference (HSD) post hoc test. En los resultados el % RCC fue mayor para propóleos que muestra 100% de reducción en el día 2 seguido por TAM mostro un 82,5%, 92,2% y 98,4% de reducción en días 1,2, y 7, respectivamente. El hidróxido de calcio mostró un aumento gradual en la actividad antibacteriana, con un máximo de 59,4% en el día 7. Bajo las limitaciones de este estudio se puede concluir que el propolis puede ser utilizado como medicamento intraconducto a corto plazo, y el TAM y el propolis tuvieron una efectividad igual contra el *E. faecalis* en el espacio de los conductos radiculares.<sup>10</sup>

Fernandes de Magalhães y cols. 2011. Se realizó un estudio con el propósito de evaluar la actividad antibacteriana in vitro de cuatro formulaciones de hidróxido de calcio [Ca (OH) 2] pastas contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus áureas*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus mutans*. Se realizó un ensayo de dilución en caldo, y los períodos de tiempo para diferentes pastas para eliminar las

células microbianas se registraron y analizaron estadísticamente. Se evaluaron los siguientes medicamentos: Grupo I – hidróxido de calcio + clorhexidina al 2,0% en gel; Grupo II – Hidróxido de calcio + monoclorofenol alcanforado y propilenglicol; Grupo III - Hidróxido de calcio + propilenglicol; Grupo IV - Hidróxido de calcio + solución salina. Los resultados mostraron que *E. faecalis* fue el microorganismo más resistente. Grupos II y III eliminó todas las células microbianas en 15 segundos. Grupo I tomó 45 segundos para eliminar *E. faecalis*. Se concluyó que todos los medicamentos intraconducto mostraron actividad antibacteriana. Sin embargo, la asociación de  $\text{Ca (OH)}_2$  y PMCC o  $\text{Ca (OH)}_2$  y propileno glicol mostró un mejor rendimiento, ya que los grupos II y III tuvieron una longitud más corta de tiempo que los otros grupos para eliminar *S. áureas* y *E. faecalis*.<sup>11</sup>

Delgado et al, estudiaron en el 2010 la eficacia del hidróxido de calcio y el gel de clorhexidina al 2% en la eliminación de *Enterococcus faecalis* intratubular. Sesenta dientes unirradiculares extraídos se limpiaron y se almacenaron en formaldehído al 10%. 45 dientes se utilizaron como muestras experimentales y 15 en grupo control. Se les removió la corona clínica y 2-5mm de la porción radicular (raíces de 8mm). Se mantuvieron en solución salina. Se incubó *Enterococcus faecalis* en infusión cerebro corazón. Los conductos fueron infectados con colonias de EF diluido en infusión de cerebro corazón, manteniendo en contacto la susceptibilidad bacteriana con los conductos radiculares. Se colocó infusión cerebro corazón fresca para la supervivencia de las bacterias. Las muestras se incubaron anaeróbicamente a 37° C por 21 días. Después de este periodo cada muestra fue irrigada con solución salina y secada con puntas de papel. Terminado el proceso de incubación, se les colocó medicamento intraconducto:  $\text{Ca (OH)}_2$ , clorhexidina gel al 2%, una combinación de  $\text{Ca (OH)}_2$  con clorhexidina gel, y como grupo control negativo solución salina. Se sellaron tanto coronalmente como apicalmente con cemento provisional. Las muestras se colocaron en cajas petri con gasas estériles húmedas y se incubaron por 14 días a 37° C. Se lavaron las raíces con solución salina. Se realizó irrigación de los conductos con soluciones neutralizantes: ácido cítrico al 5% para hidróxido de calcio, Tween 80 al 0.5% para la clorhexidina gel y la combinación de clorhexidina con hidróxido de calcio. Se

realizó una irrigación final con solución salina. Se obtuvieron fragmentos de dentina del conducto radicular utilizando fresas Gates Glidden a lo largo del conducto y se colocaron los fragmentos en infusión cerebro-corazón. Después de 14 días de colocar el medicamento intraconducto (clorhexidina gel e hidróxido de calcio) encontraron que había una disminución en UFC de EF comparado con el grupo control (sol. Salina). No hubo diferencias significativas entre el grupo de clorhexidina gel y el grupo de hidróxido de calcio. No hubo diferencias cuando se utilizó clorhexidina gel con o sin hidróxido de calcio. Llegaron a las conclusiones de que tanto el Ca (OH) 2 y clorhexidina tiene efectos antimicrobianos contra E. faecalis. La clorhexidina ha aumentado la actividad antimicrobiana en comparación con Ca (OH) 2. Ca (OH) 2 en combinación con clorhexidina mostraron una actividad antimicrobiana similar a la clorhexidina sola.<sup>12</sup>

En el 2009 M.L. de la Casa y cols. Una de las sustancias más utilizadas para la desinfección de los conductos radiculares es el hidróxido de calcio. Es un polvo fuertemente alcalino que puede ser mezclado con diferentes vehículos y usado como pasta de obturación intermedia. Se han propuesto diferentes vehículos para formar la pasta de hidróxido de calcio, tales como agua destilada, solución fisiológica, anestesia, propilenglicol, paramonoclorofenol alcanforado entre otros. Estudios recientes han sugerido combinar el polvo del Ca (OH)<sub>2</sub> con soluciones de irrigación para mejorar su acción solvente sobre el tejido pulpar y antibacteriana especialmente frente al E. faecalis y Cándida albicans que mostraron ser resistentes a las pastas tradicionales. Objetivo: En este trabajo se comparó la acción solvente sobre el tejido pulpar bovino de diferentes pastas de hidróxido de calcio. Material y Métodos: Se usaron pulpas bovinas extraídas de animales jóvenes sobre las que se evaluó la acción de pastas de hidróxido de calcio con hipoclorito de sodio 1%, hidróxido de calcio con gluconato de clorhexidina 1%, hidróxido de calcio con solución fisiológica, hasta 21 días. Se evaluó la capacidad de disolución del tejido pulpar de estas pastas, usando como testigo los vehículos mencionados. Los datos se analizaron estadísticamente con el test de Kruskal Wallis. Resultados y Conclusiones: Las tres pastas de hidróxido de calcio se comportaron en forma semejante, con respecto a su acción solvente.<sup>13</sup>

### 3. Planteamiento del problema

---

Hemos observado en la práctica endodóntica, que la incidencia de retratamientos es frecuente debido a la actividad microbiana que persiste en los tratamientos de conductos que fueron tratados previamente ante un estado pulpar necrótico.

El tratamiento de conductos involucra una o varias citas dependiendo del tipo de lesión que se está tratando y de la destreza del operador. En el caso de las necropulpectomías generalmente se requieren por lo menos dos sesiones para concluir el tratamiento, y se utilizan diversos medicamentos dentro del conducto entre citas con características antibacterianas potentes.

El uso de hidróxido de calcio en pasta facilita su colocación dentro del conducto radicular, por lo tanto es necesario mezclarlo con un vehículo adecuado que ayude a conservar las propiedades físico-químicas del hidróxido de calcio. La fabricación de estas pastas por el clínico en el consultorio conlleva a la utilización de sustancias comúnmente encontradas en el mismo, como el hipoclorito de sodio, solución anestésica, solución salina entre otras. Por lo que nos planteamos la siguiente pregunta.

¿Existe una alteración del pH del hidróxido de calcio cuando es mezclado con el hipoclorito de sodio al 2%, clorhexidina al 0.2% y solución salina?

#### 4. Justificación

---

En la actualidad, la colocación de un medicamento intraconducto entre sesiones es ampliamente utilizado como coadyuvante en la desinfección del sistema de conductos radicular. El hidróxido de calcio es la sustancia que cumple con el mayor número de propiedades físico-químicas que debe cumplir un medicamento intraconducto, pero este debe ser mezclado con un vehículo acuoso para que pueda proveer las propiedades físico-químicas de este, y para la colocación dentro del conducto radicular. El empleo de diferentes sustancias como vehículo puede afectar o alterar las propiedades físico-químicas como el nivel de pH, modificando su potencial de acción. Comúnmente utilizamos como vehículo las sustancias que tenemos disponibles en el consultorio como son el hipoclorito de sodio, soluciones anestésicas, solución salina, entre otras. Es importante determinar si las pastas de hidróxido de calcio que fabrica el clínico en el consultorio cumplen con las características que deben tener las pastas de hidróxido de calcio ideales, como es el nivel de pH, siendo este importante para el control antibacteriano.

## 5. Marco teórico

---

Endodoncia es ciencia y es arte, comprende la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa dentaria y de sus repercusiones en la región periapical y por consiguiente en el organismo. En resumen, esa especialidad atiende la prevención y el tratamiento del endodonto y de la región apical y periapical.<sup>14</sup>

El objetivo de la endodoncia es conservar el diente limpiando los conductos, mantener su función en la masticación y dejar el diente apto para su posterior restauración. El objetivo biológico de los procedimientos de limpieza y remodelado consiste en eliminar todo el tejido pulpar, las bacterias y sus endotoxinas, del conducto radicular. Los objetivos mecánicos consisten en hacer posible la obtención del objetivo biológico, y en ampliar el conducto lo suficiente para permitir su obturación tridimensional.<sup>15</sup>

El ecosistema microbiano de un conducto y la respuesta inflamatoria subsecuente del tejido perirradicular persiste hasta que se elimina la fuente de irritación. El tratamiento debe establecer un medio favorable para que el huésped termine con la enfermedad. La clave del éxito en el tratamiento de la enfermedad perirradicular es la eliminación del reservorio de infección (tejido necrótico, bacterias, productos bacterianos) mediante una limpieza minuciosa.<sup>16</sup>

### Limpieza del sistema de conductos radiculares

La desbridación de los conductos como parte del proceso de limpieza y preparación, es la eliminación de sustratos que alimentan a los microorganismos. Como el sistema de conductos es irregular, los instrumentos no alcanzan todas las aletas, puntos ciegos, indentaciones y áreas entre los conductos principales. Los irrigantes enjuagan y aflojan los residuos, proporcionan lubricación, ejercen acción antimicrobiana y disuelven algunos residuos en los conductos.<sup>25.16</sup>

La irrigación acompañada por la aspiración, es un auxiliar en la preparación del conducto radicular. Sus objetivos son:

- Eliminar (por remoción o disolución, o ambos) los dentritos presentes en el interior del conducto radicular.
- Reducir la cantidad de bacterias existentes en los conductos radiculares.
- Facilitar la acción conformadora de los instrumento endodónticos. Hidratación y lubricación.

#### Soluciones De Irrigación

La función principal del irrigador es sacar por lavado los desechos del conducto. La remoción de los restos orgánicos y microorganismos del conducto radicular parecen depender más de la mayor cantidad de solución de irrigación usada, que del tipo de solución utilizada.

La selección de la solución adecuada depende del cotejo entre las propiedades del producto y los efectos deseados en cada una de las condiciones clínicas que puedan presentar el diente en tratamiento. Así, en los casos de dientes con pulpa viva, la contaminación microbiana ausente o incipiente permite el uso de productos sin poder antiséptico a favor de la aplicación de sustancias que, por su biocompatibilidad, respetan el muñón apical y los tejidos apicales, favoreciendo la reparación. En los dientes con pulpa mortificada, la irrigación se integra al conjunto de acciones destinadas a promover la desinfección del conducto radicular y la neutralización de las toxinas presentes en su contenido necrótico.

Soluciones y sustancias comúnmente indicadas son:

Compuestos halogenados:

Solución de hipoclorito de sodio

Solución de gluconato de clohexidina

Detergentes sintéticos:

Duponol C – al 1% (alquil-sulfato de sodio)

Zefirol – cloruro de aquildimetil-bencilamonio (cloruro de benzalconium)

Dehyquart-A (cloruro de cetiltrimetilamonio)

Tween – 80 (polisorbato 80)

Quelantes:

Soluciones de ácido etilnodiaminotetracético- EDTA

Largal ultra (agente quelante comercial)

Redta (agente quelante comercial)

Asociaciones:

-RC Prep

-Endo-PTC

-Glyde File Prep

-MTAD

-Smear Clear.

Otras soluciones de irrigación:

Agua destilada esterilizada

Agua de hidróxido de calcio – 0.14g%

Peróxido de hidrógeno – 10 vol.

Suero fisiológico

Solución de ácido cítrico.<sup>14</sup>

## Medicamentos intraconducto

La medicación intraconducto se caracteriza por la colocación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico. La literatura médica acuñó las expresiones medicación entre sesiones, medicación local y medicación intraconducto para denominar a este procedimiento.

Los objetivos de la medicación, así como las sustancias y las técnicas utilizadas difieren entre sí en función de la situación clínica del diente en tratamiento. En los casos de dientes con pulpa viva, la contaminación bacteriana, si existe, no será masiva y quedará restringida a las porciones más superficiales de la pulpa. Una limpieza bien realizada facilitará por cierto la eliminación de los microorganismos. En esa situación, la medicación intraconducto servirá para el control de la inflamación, consecuencia del acto quirúrgico.

En los dientes con pulpa mortificada, el contenido microbiano y tóxico de la cavidad pulpar determina la opción por sustancias antisépticas. La medicación intraconducto será entonces un auxiliar valioso en la desinfección del sistema de conductos radiculares, sobre todo en lugares inaccesibles a la instrumentación, como las ramificaciones del conducto principal y los túbulos dentinarios.<sup>1</sup>

La elección de una medicación intraconducto entre sesiones requiere de las mismas consideraciones que la aplicación de cualquier fármaco en otra región del organismo humano.

Por lo tanto es necesario considerar:

- Cantidad: se debe precisar la cantidad y la concentración del fármaco, para ejercer el efecto deseado sin lesionar tejidos circundantes.
- Localización: es indispensable tener en cuenta el mecanismo de acción de la sustancia para determinar la forma apropiada para su colocación.

- Tiempo de aplicación: conocer el tiempo que la sustancia permanece activa. Tiempo de vida útil.

### Requisitos Ideales Del Fármaco

Un fármaco que va a ser utilizado como medicamento intraconducto debe cumplir los siguientes requisitos:

1. Debe mantener su efecto germicida por 48-60 horas después de haber sido sellado en el diente.
2. Debe esterilizar sin irritación de los tejidos perirradiculares.
3. Sus vapores germicidas deben ser eliminados lentamente para establecer y mantener la esterilidad, y evitar cambios diarios de la aplicación; también estos vapores deben producirse a la temperatura corporal.
4. Ser biocompatible
5. Baja toxicidad tisular.
6. Ayuda a la remoción de tejido orgánico.
7. Penetrar en el sistema de conductos radiculares y los túbulos dentinarios.
8. Inducir una barrera de calcificación en la unión con los tejidos periradiculares.
9. Fácil colocación y remoción.
10. No debe manchar el diente.

Los medicamentos colocados dentro de la cámara o el conducto ejercen su actividad antimicrobiana por contacto directo con los microorganismos o por vía de la acción de vapores de los componentes volátiles.

El medicamento ideal debe poseer una alta actividad antibacterial combinada con una baja toxicidad tisular. De hecho, un medicamento que posee una baja toxicidad pero actúa por un largo período de tiempo, debe ser tan efectivo en la

desinfección del conducto que uno que tiene una actividad antimicrobiana alta pero se disipa rápidamente. A esto se le agrega que debe poseer propiedades físico-químicas que permitan su difusión a través de los túbulos dentinarios y ramificaciones laterales del sistema de conductos radiculares y un tiempo suficiente de acción para eliminar bacterias, también cabe resaltar que los medicamentos intraconductos son capaces de irritar los tejidos periapicales, por lo que se recomienda que los mismos se limiten a los confines del conducto.

Sustancias utilizadas:

#### Asociación Corticoide-antibiótico

Los corticoides son los antiinflamatorios más eficaces de los que se disponen en la actualidad. Reduce significativamente la fase aguda del proceso inflamatorio. Por sus propiedades está indicado como medicación temporaria en las pulpectomías, en procura de reducir la intensidad de la inflamación del muñón apical y de los tejidos periapicales. La presencia de antibiótico en la formula se justifica por la necesidad de combatir una eventual contaminación bacteriana producida durante la preparación. Se recomienda la permanencia del fármaco en el conducto por periodos breves, inferiores a siete días, para mayores plazos está indicada la utilización de una pasta de hidróxido de calcio.

#### Paramonoclorofenol alcanforado

Presenta doble acción antiséptica, basada en la función fenólica y en la presencia del ion cloro, liberando con lentitud durante el uso. Indicado como medicación intraconducto temporaria en el tratamiento de dientes con pulpa mortificada. Es una alternativa en conductos estrechos, donde es difícil aplicar la pasta alcalina o cuando la permanencia de la medicación temporaria fuere inferior a siete días, tiempo en que el hidróxido de calcio no muestra eficiencia total.

#### Tricerol formalina

Este fármaco, constituido por una mezcla de cresoles y formol, se utilizó tradicionalmente como antiséptico. El compuesto, acumula las actividades

antimicrobianas del cresol y del formol, posee también la capacidad de neutralizar toxinas presentes en el conducto radicular. La aplicación en la cámara pulpar, en pequeñas cantidades, permite controlar su reconocida agresividad para los tejidos. El poder de acción a distancia, proporcionado por el desprendimiento de gases, favorece la reducción de los factores de agresión contenidos en el conducto, lo que minimiza el riesgo de secuelas después de la instrumentación.<sup>1</sup>

### Clorhexidina

La clorhexidina fue utilizada por primera vez en Inglaterra en 1954, como limpiador de piel y heridas. Químicamente es una bisbiguanidina catiónica comercializada como sal de gluconato. Se ha demostrado que la clorhexidina posee gran afinidad hacia la pared celular de los microorganismos, lo que modifica sus estructuras superficiales, provoca pérdida del equilibrio osmótico y la membrana plasmática se destruye, por lo que se forman vesículas y el citoplasma se precipita. Esta precipitación inhibe la reparación de la pared celular y causa la muerte de las bacterias.<sup>14</sup>

Es utilizado como irrigante endodóntico al 0.12% o 2%, demostrando propiedades antibacterianas como el hipoclorito de sodio, pero a diferencia de este, continua su liberación por un periodo de 48 a 72 horas posterior a la instrumentación. Su prolongada presencia dentro del conducto puede favorecer la acción antibacteriana en caso de que fuera necesario dejarlo como medicamento intraconducto, demostrando así eficientes características clínicas debido a que va a estar mayor tiempo en contacto con el tejido, esto en el caso de que la endodoncia no pueda ser realizada en una sola cita.<sup>17</sup>

La clorhexidina es eficaz contra microorganismos gran positivos, gran negativos, levaduras, aerobios o anaerobios y facultativos; los de mayor susceptibilidad son estafilococos, estreptococo mutans, *S. silvarius*, bacterias coli; con susceptibilidad mediana el estreptococo sanguis y con baja Klebsiella.<sup>14</sup>

En diversos estudios se ha informado su posible utilidad como irrigante pulpar. Al parecer la clorhexidina ayuda a la adecuada regeneración de tejidos sin efectos

tóxicos o irritantes, en comparación con otros agentes irritantes tanto in vitro como in vivo. Asimismo, se han obtenido resultados satisfactorios en las evaluaciones microbiológicas donde se ha comprobado la eficacia de la clorhexidina en conductos radiculares. También se ha empleado para la desinfección de los túbulos dentinarios con buenos resultados. Se recomienda su empleo como irrigante o curativo temporal.<sup>18</sup>

#### Hidróxido de calcio

El hidróxido de calcio es la medicación intraconducto más utilizada en el mundo, pues agrega el mayor número de propiedades deseables. La disociación iónica del hidróxido de calcio, en iones de calcio e iones de hidroxilo, y el efecto de estos iones sobre los tejidos y los microorganismos posibilitaron ese reconocimiento, permaneciendo firme a las pruebas de investigación y del tiempo.<sup>17</sup>

El hidróxido de calcio es un polvo blanco inoloro con la formula  $\text{Ca (OH)}_2$ , y un peso molecular de 74.08. Es poco soluble en agua, tiene un pH alto (12.5-12.8) y es insoluble en alcohol. El material es químicamente clasificado como una base fuerte.<sup>19</sup>

El CaOH se obtiene por calcinación del carbonato de calcio y su transformación en óxido de calcio. Con la hidratación de óxido de calcio se obtiene el CaOH:  $\text{CO}_3 \text{Ca} = \text{CaO} + \text{CO}_2$ ,  $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} = \text{Ca (OH)}_2$ ; además este polvo granular, amorfo y fino posee marcadas propiedades básicas, su pH es muy alcalino, aproximadamente 12.4. Su disociación iónica en iones calcio e iones hidroxilo explica su acción sobre los tejidos, posee valiosas cualidades desde el punto de vista biológico, antimicrobiano y mineralizador.

Principales atributos del ión calcio:

1. Acción higroscópica: disminuye el extravasamiento de líquido de los capilares, y por tanto, la cantidad de líquido intercelular, controla la formación de exudado, por eso en los procesos inflamatorios disminuye el dolor.

2. Elevan el umbral para la iniciación del impulso nervioso: se ha reportado que la aplicación del cloruro de calcio sobre la dentina recién cortada es capaz de eliminar el impulso y la actividad nerviosa.

3. Estimulan el sistema inmunitario y activan el sistema de complemento.

4. Acción mitogénica: se ha verificado que los dientes restaurados con CaOH presentan mayor número de divisiones celulares, lo que demuestra su capacidad en la división celular.

Efectos del ión hidroxilo:

1. Acción antimicrobiana: un elevado pH influye notablemente en el crecimiento, metabolismo y división celular bacteriana. Existe un gradiente de PH a través de la membrana citoplasmática responsable de producir energía para el transporte de nutrientes y componentes orgánicos hacia el interior de la célula que se ve alterado ante un aumento notable del pH. Como el sitio de acción de los iones hidroxilo es la membrana citoplasmática, el hidróxido de calcio tiene un amplio espectro de acción sobre una gama diversa de microorganismos.

2. Efecto mineralizador: activa enzimas como la fosfatasa alcalina, la adenosina trifosfatasa y la pirofosfatasa calcio dependiente que favorecen el mecanismo de reparación apical y el proceso de mineralización.

Es uno de los mejores fármacos empleados durante las curas oclusivas o temporales en forma de pasta. Para obturar herméticamente el conducto el único material indicado es la suspensión de CaOH, por su biocompatibilidad, estimulación de la actividad de los osteoblastos y desinfección. En experimentos comparativos se ha encontrado que es más eficaz que el monoclorofenol alcanforado y los resultados han demostrado signos precisos de curación de periodontitis apical en más del 90 % de los casos.

-Acción antiinflamatoria: debido a su acción higroscópica, a la formación de puentes de calcio- proteínas, la cual previene la salida de exudado desde los

vasos sanguíneos hacia los ápices, y por la inhibición de la fosfolipasa con lo cual disminuye la lisis celular y consecuentemente la liberación de prostaglandinas.

-Control de la hemorragia: mediante el taponamiento con el CaOH en la superficie hemorrágica, lo cual detiene con efectividad la hemorragia en unos minutos.

-Capacidad de desnaturalizar e hidrolizar proteínas: destruyendo dentro del conducto el tejido blando remanente, haciéndolo más limpio.

-Como solución irrigadora (agua de cal): indicada en biopulpectomías ya que no irrita el muñón pulpar y facilita su reparación. Es altamente hemostático y no provoca el efecto rebote en los vasos sanguíneos como sucede con la adrenalina y la noradrenalina.

- Control de abscesos y de conductos húmedos con drenaje persistente de exudado: debido a sus propiedades antibacterianas, a que favorece la reparación y la calcificación, pudiendo influir la contracción de capilares, formación de una barrera fibrosa o de un tapón apical, lo que ayuda a la curación de la inflamación periapical. El CaOH puesto en contacto con el tejido conjuntivo vital en la zona apical produce el mismo efecto que cuando se coloca sobre la pulpa coronal, se forma un tejido parecido al cemento, en vez de dentina, debido a que están involucradas células diferentes.

-Disminuye la filtración apical: lo cual mejora el pronóstico del tratamiento. Un tapón apical de CaOH consigue un mejor sellado formando una matriz con la gutapercha y el cemento sellador. Se ha demostrado que conductos obturados con conos de CaOH o donde es usado el mismo como cura intraconducto presentaron menos filtración apical que los obturados en forma convencional. En un estudio sobre este tema se encontró que para que las pastas de CaOH puedan desempeñar bien sus propiedades es necesario que sean bien colocadas de forma que selle herméticamente.

-Tratamiento de dientes con desarrollo radicular incompleto: la inducción a la formación del ápice radicular representa el empleo más importante del CaOH,

para lo que se deben tener en cuenta las indicaciones precisas. El CaOH junto a la preparación mecánica, creará el ambiente adecuado para que las células diferenciadas del periápice produzcan el cierre apical mediante la elaboración de un tejido que posteriormente se remineraliza.

Parte del mecanismo antimicrobiano del hidróxido de calcio, se explica a partir de que las enzimas de la membrana citoplasmática de las bacterias son sensibles a cambios severos del pH. La presencia de iones hidroxilo por periodos largos puede llevar a la inactivación, reversible o irreversible, de los sistemas enzimáticos presentes en la membrana bacteriana, y a daños en su estructura a partir de la peroxidación lipídica de los fosfolípidos que la componen. El elevado pH del hidróxido de calcio inhibe actividades enzimáticas esenciales del metabolismo, crecimiento y división de las bacterias. Los altos niveles de pH, por largos periodos de tiempo, alteran la integridad de la membrana citoplasmática por daño químico (fosfolípidos y proteínas) que produce lesiones en la estructura de la membrana y la consecuente afectación del transporte de nutrientes microbianos, que pueden llevar a la muerte de la bacteria.

Otra importante propiedad enzimática del hidróxido de calcio, por su elevado pH, es la activación de enzimas tisulares, como la fosfatasa alcalina, lo que causa un efecto mineralizador en el sitio, favoreciendo la deposición de sales de calcio en la matriz de la fosfatasa ácida, enzima necesaria para las células clásticas que reabsorben hueso, cemento o dentina.<sup>20</sup>

El efecto antiséptico del hidróxido cálcico es lento. En experiencias clínicas se ha demostrado la necesidad de dejar colocado el preparado durante una semana para desinfectar con seguridad los conductos radiculares. Además de destruir las bacterias, el hidróxido cálcico tiene la extraordinaria cualidad de hidrolizar la mitad lipídica de los lipopolisacáridos bacterianos, inactivando así la actividad biológica del lipopolisacárido (LPS). Este efecto es muy deseable, puesto que el material de la pared celular muerta permanece después de destruir las bacterias causantes de la infección del conducto radicular. El hidróxido cálcico no sólo destruye las

bacterias, sino que también reduce el efecto del lipopolisacárido contenido en el material restante de la pared celular.<sup>1</sup>

Asimismo, participa en la reparación periapical de las lesiones presentes en los conductos de los dientes con pulpas necróticas e infectadas al crear un entorno desfavorable para las bacterias, y un ambiente para la actividad celular. Las propiedades del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , como histocompatibilidad, capacidad antimicrobiana o características físico-químicas, dan bases científicas para el uso de estas sustancia como medicamento intraconducto en piezas con lesión periapical.<sup>19</sup>

#### Vehículos para formar pastas de hidróxido de calcio como medicamento intraconducto

Para prepararse la pasta de hidróxido de calcio se mezclan el polvo de hidróxido de calcio y diversos vehículos. Los factores que influyen la disociación y difusión de los iones hidroxilo y calcio son las características fisicoquímicas del vehículo. El vehículo determina la velocidad de disociación iónica, haciendo que la pasta sea solubilizada y reabsorbible por los tejidos periapicales desde el interior del conducto radicular. La disociación iónica tiene influencia directa sobre las actividades biológicas de la bacteria y los tejidos.

De acuerdo a Fava y Saunders, el vehículo ideal debería:

- a) Permitir una gradual y lenta difusión iónica de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{OH}^-$
- b) Permitir una lenta difusión en los tejidos con baja solubilidad en los fluidos tisulares.
- c) No tener efectos adversos sobre la inducción del depósito de tejido óseo.

A pesar de que el vehículo tendría solo un rol de soporte, modulando la disociación, difusibilidad y capacidad de llenado de la pasta de hidróxido de calcio en el conducto radicular, sería deseable que el vehículo tenga propiedades que mejoren la pasta formada con el hidróxido de calcio.

## Características fisicoquímicas de los vehículos

### Solubilidad del vehículo

Por esta característica los vehículos son identificados como hidrosolubles y no hidrosolubles u oleosos. Los vehículos hidrosolubles presentan mejores características de disociación, difusión y capacidad de llenado del conducto radicular, y por lo tanto son decisivos para su acción antimicrobial e inducción de reparación tisular.

Los vehículos no hidrosolubles reducen la difusión de los iones hidroxilo y calcio disminuyendo el efecto necrotizante sobre los tejidos, y como sostiene Gomes y cols., posiblemente mejoren la acción antibacteriana por contacto directo de medicamento intraconducto.

### Tensión superficial del vehículo

La tensión superficial es la fuerza existente entre las moléculas de la superficie que causa una gota de líquido para difundirse o concentrarse cuando se coloca sobre ella. Esto depende de los valores de la fuerza cohesiva (fuerza de atracción resultante de las fuerzas que las moléculas del líquido ejercen entre ellas), y las fuerzas adhesivas (fuerza que las moléculas de la superficie ejercen sobre el contacto con los del líquido). Los vehículos con baja tensión superficial son capaces de penetrar a través de los túbulos dentinarios más profundamente, mejorando la difusión iónica, y se ha demostrado que los vehículos influyen en la tensión superficial de la pasta de hidróxido de calcio.

### Características acido-base del vehículo

Siendo el pH del hidróxido de calcio uno de los responsables de los efectos antes mencionados, el vehículo mezclado no debería tener pH más bajo, ya que podría tener un efecto neutralizante sobre la base. Varios investigadores analizaron este aspecto, y encontraron que al utilizar vehículos con pH ligeramente ácido, no se influye drásticamente en las características acido-base de la pasta, como es el caso de la glicerina y las soluciones anestésicas.

No obstante, existen ventajas de tener influencia en esta característica, ya que se podría disminuir la toxicidad de la pasta. Aunque controversial, sería beneficioso manejar un punto en el cual conserve sus propiedades y no dañe a los tejidos periapicales.

### Tipos de vehículos

En general tres tipos de vehículos son usados: los acuosos, viscosos y oleosos.

#### Vehículos acuosos

Los vehículos acuosos son el agua (estéril, destilada, bidestilada), suero fisiológico, solución anestésica, solución de Ringer, suspensión acuosa de metilcelulosa o carboximetilcelulosa y solución de detergente aniónicos. Cuando el hidroxilo de calcio es mezclado con alguno de estos vehículos, los iones calcio e hidroxilo son liberados rápidamente. Este tipo de vehículos promueven un alto grado de solubilidad cuando la pasta permanece en contacto directo con los tejidos y fluidos tisulares, causando que sea rápidamente solubilizado y reabsorbido. Desde el punto de vista clínico significa que el conducto debería ser medicado varias veces hasta que el efecto deseado sea logrado por lo tanto incrementa el número de citas.

#### Vehículos viscosos

Los vehículos viscosos son sustancias hidrosolubles que liberan los iones calcio e hidroxilo más lentamente y por periodos extensos. Promueven una baja solubilidad de la pasta, comparada con los vehículos acuosos, probablemente por su alto peso molecular. El alto peso molecular de estos vehículos minimizan la dispersión del hidroxilo de calcio en los tejidos y mantiene la pasta en el área deseada por intervalos de tiempo más largos, esto prolonga la acción de la pasta, los iones calcio e hidroxilo son liberados más lentamente, y reducen el efecto toxico. Por este mecanismo, las pastas pueden permanecer en contacto directo con los tejidos vitales por intervalos extensos

de tiempo. Por lo tanto, el número de citas y medicaciones se reduce. Algunos vehículos viscosos son la glicerina, propilenglicol y polietilenglicol.

#### Vehículos oleosos

Los vehículos oleosos son sustancias no hidrosolubles que promueven la solubilidad y difusión iónica más baja de la pasta dentro de los tejidos. Las pastas que contienen estos vehículos pueden permanecer dentro del conducto radicular, por largos periodos que las pastas que contienen vehículos acuosos y viscosos. Algunos vehículos oleosos incluyen el aceite de oliva, aceite de silicona, camfor (aceite esencial de p-monoclorofenol), metacresilaceto y algunos ácidos grasos tales como ácido oleico, linoleico e isostearico.<sup>21</sup>

## **6. Hipótesis**

---

H0 No existe diferencia significativa en el cambio de pH de la solución circundante al utilizar hipoclorito de sodio al 2%, clorhexidina al 0.2% y solución salina como vehículo en las pastas de hidróxido de calcio utilizadas como medicamento intraconducto no influye.

H1 (alternativa). Utilizar hipoclorito de sodio al 2%, clorhexidina al 0.2% y solución salina como vehículo en las pastas de hidróxido de calcio utilizadas como medicamento intraconducto influye en el cambio de pH de la solución circundante.

## **7. Objetivo**

---

Determinar la influencia del hipoclorito de sodio al 2%, clorhexidina al 0.2% y solución salina en el pH de la solución circundante cuando son utilizados como vehículos en las pastas de hidróxido de calcio en tiempos determinados a las 0 horas, 24 horas, 7 días y 12 días.

## **Tipo de estudio**

---

Prospectivo

Comparativo

Experimental

### **Variable dependiente**

---

PH de la solución circundante conteniendo pasta de hidróxido de calcio como medicamento intraconducto.

### **Variables independientes**

---

Hipoclorito de sodio al 2%

Clorhexidina al 0.2%

Solución salina

Al realizar la mezcla a las 0 horas, 24 horas, 7 días y 12 hrs.

### **Operación de variable**

---

El hidróxido de calcio es un polvo blanco inoloro con la formula  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , y un peso molecular de 74.08. Es poco soluble en agua, tiene un pH alto (12.5-12.8) y es insoluble en alcohol. El material es químicamente clasificado como una base fuerte. La principal acción del hidróxido de calcio viene de la disociación iónica de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{OH}^-$ , la acción de estos iones en tejido vital y bacterias es generar la inducción de deposición de tejido duro y el efecto antibacterial.

## **Universo de estudio**

---

38 raíces de dientes extraídos.

## **Criterios de inclusión**

---

Raíces palatinas de molares superiores,

Raíces distales de molares inferiores,

Premolares unirradiculares,

Caninos

Incisivos centrales superiores extraídos humanos.

## **Criterios de exclusión**

---

Raíces mesiales y distales de molares superiores,

Raíces mesiales de molares inferiores,

Premolares birradiculares

Incisivos inferiores.

## **Criterios de eliminación**

---

Raíces amplias con dos o más conductos.

## **8. Materiales**

---

- Discos de diamante, Harbor Freight Tools.
- Micromotor
- Explorador DG16, HuFriedy.
- Pinzas de curación, HuFriedy.
- Gasas, Borgatta Specialties.
- Lima tipo K 10, 15, 20, 25 y 30, Dentsply Maillefer.
- Endoring, Sybronendo.
- Hipoclorito de sodio, Viarzoni-T al 2% y cloralex.
- Limas Rotatorias Tf Adaptive, ML2 50/04 SybronEndo.
- Micromotor Element SybronEndo.
- Jeringa hipodérmica de 10ml, BD Plastipak.
- Agujas para irrigar Appli-Vac 30ga, Vista.
- Ultrasonido Varios2 Lux 370, NSK.

- Punta ultrasónica tipo U, NSK
- Limas ultrasónicas 20,25, NSK.
- EDTA 17%, Vista.
- Puntas de papel 50, Hygienic.
- Esmalte de uñas transparente.
- Limas Reciprocantes Tf Adaptive Sm1, sm2, sm3, ml1, ml2, ml3.
- Cera pegajosa.
- Hidróxido de calcio, Viarden
- Semi-microbalanza analítica New Classic MS, Mettler Toledo
- Papel encerado, Reynolds.
- Solución salina, Pisa.
- Agua destilada, Sparkletts.
- Loleta de vidrio
- Clorhexidina al 2%, (Consepsis)
- Espátula, HuFriedy
- Cavit G, 3M ESPE.
- Cianocrilato , Kola loka.
- 38 vasos de vidrio.
- Probeta graduada
- Papel parafilm, Bemis.
- Medidor de pH, CHAUS.

- Soluciones buffer 7.00 y 10.00, Orión Thermo Scientific.
- Vaso de precipitado 100ml
- Toallas de papel absorbente
- Etiquetas adhesivas blancas, office depot.
- Plumón permanente, Sharpie
- Glyde file prep (Maillefer)

## Metodología

---

Se seleccionaron 38 dientes extraídos humanos.



Figura 1 y 2. Muestras.

Fueron seccionados los dientes con un disco de diamante (Harbor Freight Tools).



Figura 3. Seccionando dientes.

Posteriormente se realizó la apertura y se estandarizaron las raíces a 15 mm y se patentizaron con una lima K 10 (K-Files, Dentsply Maillefer) a 1mm fuera del foramen apical.



Figura 4. Apertura.

Figura 5. Patentización.

Se determinó la longitud de trabajo a 1 mm del foramen apical, esto se realizó retirando 1mm la lima K 10 después de salir por el foramen apical con apoyo del endoring (Sybronendo). Se instrumentaron manualmente con la técnica de fuerzas balanceadas hasta la lima K 20 (K-Files, Dentsply Maillefer).



Figura 6. Instrumentación manual.

Siguiendo con el sistema recíprocante Tf Adaptive (Sybronendo) de la lima sm2 hasta la ml3, con giros de 370° horario y 50° antihorario (Micromotor Element de Sybronendo), con irrigación pasiva entre lima y lima con 2 ml de hipoclorito de sodio al 5.25% (Cloralex, Industrias Alen), utilizando una jeringa hipodérmica (BD Plastipak) y aguja para irrigación 30ga (Appli-Vac, Vista).



Figura 7. Instrumentación Tf adaptive.



Figura 8. Irrigación con hipoclorito de sodio.

Como irrigación final, se realizó irrigación ultrasónica pasiva (Ultrasonido Varios 350, NSK) con una lima tipo U 20 (NSK) aplicando dos ciclos con hipoclorito de sodio al 5.25% por 20 seg, irrigación pasiva con solución salina (Pisa) y se secaron con una punta de papel 50 (Hygienic).



Figura 9. Irrigación ultrasónica pasiva.

Se colocó una capa de esmalte de uñas transparente en la parte externa de la raíz con el fin de impermeabilizar, excepto en el área de acceso y foramen apical, colocando una bolita de cera pegajosa en el tercio apical.



Figura 10 y 11. Se barnizaron y colocó cera pegajosa.

Los dientes se dividieron al azar en 5 grupos:

- Grupo A: doce raíces para la pasta de hidróxido de calcio mezclado con hipoclorito de sodio al 2%.
- Grupo B: doce raíces para la pasta de hidróxido de calcio mezclado con clorhexidina al 0.2%.
- Grupo C: doce raíces para la pasta de hidróxido de calcio mezclado con solución salina.
- Grupo Control Positivo (CP): una raíz sin pasta.
- Grupo Control Negativo (CN): una raíz para la pasta de hidróxido de calcio con agua destilada (Sparkletts) y sellado con cianocrilato el foramen apical.

Se preparó la pasta de hidróxido de calcio pesando 0.8 g de polvo de hidróxido de calcio (Viarden) en un trozo de papel encerado en una semi-microbalanza analítica (Mettler Toledo).



Figura 12. 0.8 g de hidróxido de calcio.



Figura 13. Microbalanza Mettler Toledo.

Se colocó el polvo de hidróxido de calcio en un vaso de vidrio estéril y se les agregó 0.4 ml del vehículo, mezclando con una espátula estéril hasta obtener una mezcla homogénea.



Figura 14. Mezcla hidróxido de calcio y vehículo.

Se colocó la pasta de hidróxido de calcio dentro del conducto con lima K 30 (K-Files, Dentsply) y activación ultrasónica con lima U-25 (NSK) aplicando un ciclo

de 10 seg, rellenando con lima K 30 y otro ciclo de activación ultrasónica por 10seg.



Figura 15. Se colocó hidróxido de calcio con lima 30.



Figura 16. Activación ultrasónica.

Se sellaron en la parte coronal con cavit G (3M ESPE) y una capa de cianocrilato (Kola loca) para impermeabilizar.



Figura 17. Sellado con cavit G.



Figura 18. Se impermeabilizaron con cianocrilato.

Se les colocó una etiqueta auto-adherible (Office depot) según el grupo al que pertenecían. Las muestras se colocaron con una pinza de curación (HuFriedy) en el fondo de los vasos nuevos y previamente lavados con agua destilada y se les agrego 10ml de agua destilada. Se calibro el medidor de pH (Ohaus) con soluciones buffer 7.00 y 10.01 (Orion, Thermo Scientific) y se realizó la medición inicial de las muestras.



Figura 19. Muestras en vasos de vidrio.

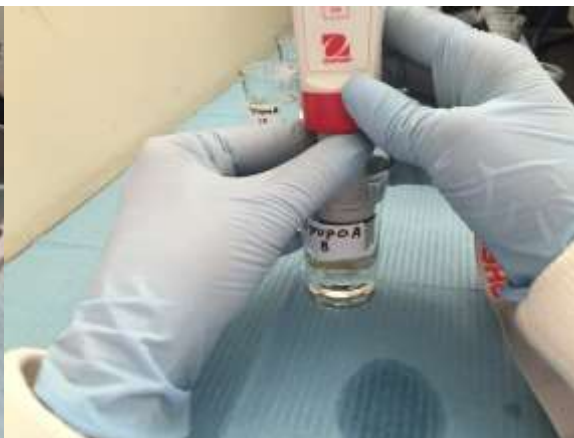


Figura 20. Toma de pH de cada muestra.

Se taparon con papel parafilm (Bemis) y se almacenaron a temperatura ambiente. Se realizaron las mediciones a las 0hrs, 24hrs, 1 semana y 12 días, calibrando el medidor de pH para cada grupo, enjuagando el electrodo con agua destilada y secando con papel absorbente entre cada muestra.



Figura 21. Muestras selladas con papel parafilm.

## **Análisis estadístico**

---

Se registraron los valores de los cambios de pH para cada grupo, se analizó a través del programa estadístico Sigma Plot. Se efectuó un análisis de varianza de una vía para verificar si la distribución de los datos se comportaba de manera normal, los resultados indicaron que la distribución no es normal.

Los valores de pH de cada grupo se compararon utilizando el análisis de varianza a través de la prueba de Kruskal-Wallis. (Anexo 7)

## 9. Resultados

---

En la figura 22. Se muestra la variación de pH del grupo de muestras con pasta de hidróxido de calcio preparado con hipoclorito de sodio como vehículo.

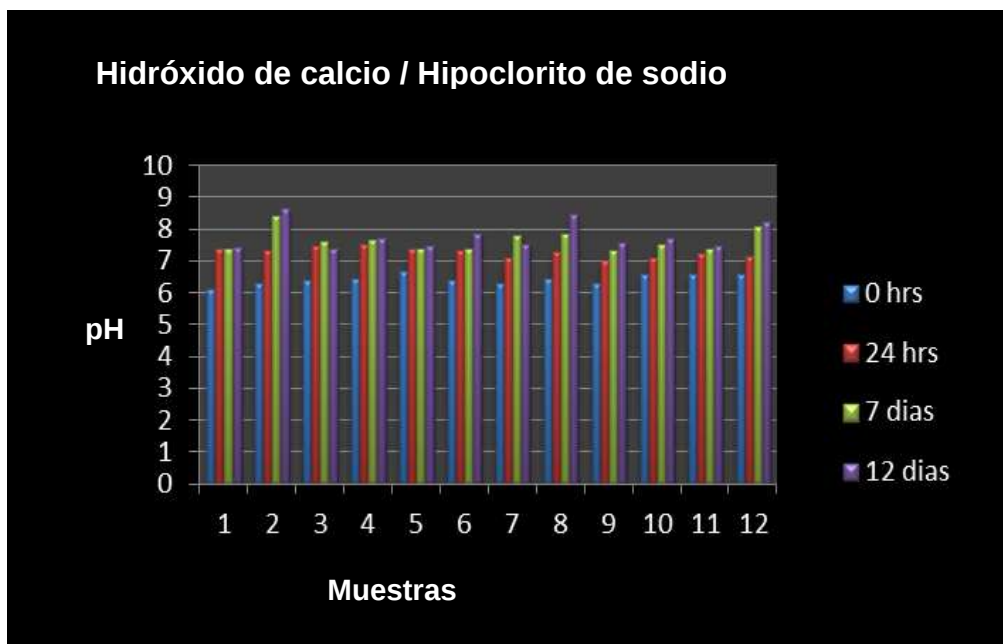


Figura 22. Variación del pH del agua destilada donde se sumergieron las muestras con pasta de hidróxido de calcio preparada con hipoclorito de sodio.

En la figura 23. Se muestra la variación de pH del grupo de muestras con pasta de hidróxido de calcio preparado con clorhexidina al 0.02% como vehículo.

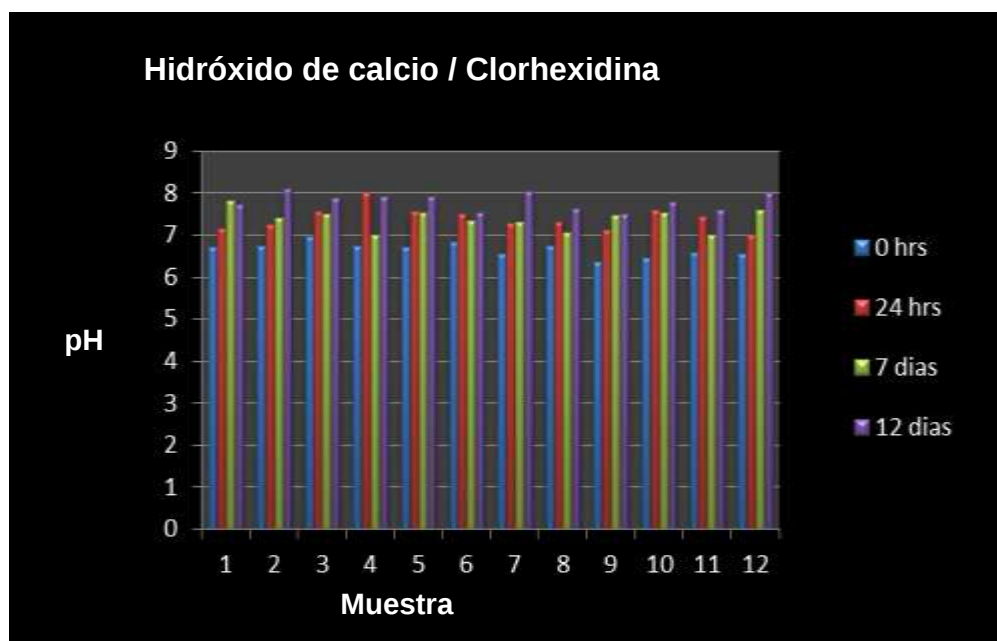


Figura 23. Variación del pH del agua destilada donde se sumergieron las muestras con pasta de hidróxido de calcio preparada con clorhexidina al 0.02%.

En la figura 24. Se muestra la se muestra la variación de pH del grupo de muestras con pasta de hidróxido de calcio preparado con solución salina como vehículo.

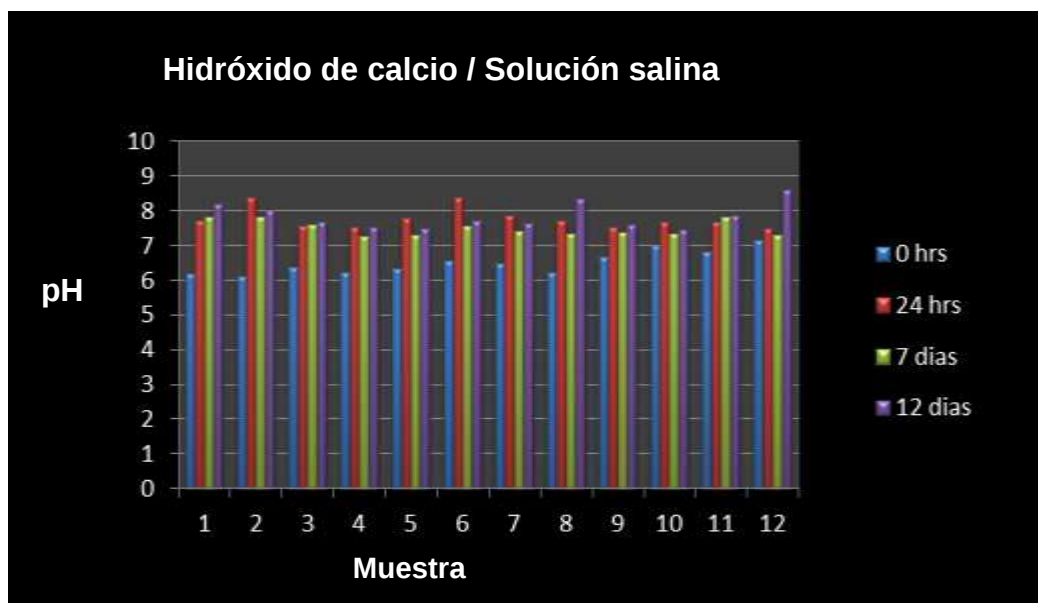


Figura 24. Variación del pH del agua destilada donde se sumergieron las muestras con pasta de hidróxido de calcio preparada con solución salina.

La tabla 1. Muestra la media y los valores mínimos y máximos de pH registrados para cada grupo después de las 0 hrs, 24 hrs, 7 y 12 días comparando los 3 grupos de manera individual Teniendo como resultado el valor ( $p=0.770$ ), no se observó una diferencia significativa en el cambio de pH.

Tabla 1. Media, mínimo y máximo de los valores de pH registrados por grupo.

|         | GRUPO A |       |      | GRUPO B |       |       | GRUPO C |       |       |
|---------|---------|-------|------|---------|-------|-------|---------|-------|-------|
|         | Med     | Min   | Max  | Med     | Min   | Max   | Med     | Min   | Max   |
| 0 hrs   | 6.41    | 6.23  | 6.74 | 6.695   | 6.54  | 6.725 | 6.39    | 6.295 | 6.55  |
| 24 hrs  | 7.695   | 7.54  | 7.82 | 7.375   | 7.185 | 7.555 | 7.29    | 7.11  | 7.35  |
| 7 días  | 7.38    | 7.31  | 7.7  | 7.38    | 7.03  | 7.515 | 7.565   | 7.365 | 7.805 |
| 12 días | 7.69    | 7.555 | 8.1  | 7.835   | 7.6   | 7.955 | 7.615   | 7.445 | 8.015 |

A (hidróxido de calcio /hipoclorito de sodio); B (hidróxido de calcio / Clorhexidina); C (hidróxido de calcio / solución salina).

## 10. Discusión

---

El hidróxido de calcio es el compuesto base de uno de los medicamentos intraconducto mas aceptados en la terapia endodóntica por sus propiedades antimicrobianas y osteogénicas. Es considerado como medicamento de elección en el tratamiento de conductos infectados.<sup>20</sup>

Los procesos inflamatorios e infecciosos se desarrollan en pH ácido. La atmósfera alcalina que es creada por el hidróxido de calcio o impide el desarrollo de infecciones y el efecto es directamente proporcional a su potencial alcalino. Un pH alto produce distracción bacteriana. Dado que el pH del hidróxido de calcio es de 12.5, gran número de especies bacterianas que comúnmente infectan los conductos radiculares son eliminados después de un periodo corto cuando entran en contacto directo con esta sustancia. La habilidad del medicamento para disolver y difundirse en el sistema de conductos es esencial para su acción antibacteriana. Una suspensión saturada de hidróxido de calcio posee un pH alto, con un gran potencial citotóxico. Sin embargo, esta sustancia es biocompatible, tiene baja solubilidad y capacidad de difusión. Debido a estas propiedades, la citotoxicidad es limitada al área de tejido que está en contacto directo con el hidróxido de calcio.<sup>22</sup>

Sin embargo, se ha demostrado que las características de la pasta de hidróxido de calcio pueden ser modificadas. Una de las formas es mediante la elección de un vehículo que limite la excesiva liberación de iones hidroxilo y no afecte la liberación de iones de calcio, ya que este está asociado con la propiedad de favorecer la reparación apical.

Algunos autores han demostrado que los vehículos viscosos presentan ventaja respecto a los acuosos y oleosos, ya que modulan la disociación y difusión de iones de la pasta de hidróxido de calcio.<sup>20</sup>

Las diferentes composiciones de dentina son responsables de la inactividad de los medicamentos intraconducto. La variación en la composición de la dentina afecta el pH de la medicación, subsecuentemente su efecto antimicrobiano. Debido a esto, estudios previos han demostrado que el pH del hidróxido de calcio siempre se mantiene alto en presencia o ausencia del polvo dentinario, con valores de 12 durante los 14 días estudiados.<sup>7</sup>

En un estudio previo, se utilizaron dientes de bovino donde verificaron la alcalinización y liberación de iones calcio en cavidades externas creadas en el tercio medio de las raíces, simulando resorción radicular externa. El pH fue medido en la solución donde se sumergieron los dientes con pastas de hidróxido de calcio en los conductos radiculares. En los resultados obtuvieron que el vehículo no fue un factor relevante en cuanto a la alcalinización. Se encontraron los niveles de pH altos. En el presente estudio se utilizó la metodología relacionada al pH del estudio anterior. En el estudio de Hungaro, dentro de los grupos experimentales donde la pasta de hidróxido de calcio fue agitada con el ultrasonido dentro de los conductos radiculares, se mantuvo el pH alto en la superficie externa, posiblemente porque la activación ultrasónica favoreció la penetración de las partículas del hidróxido de calcio dentro de los túbulos dentinarios.<sup>8</sup>

En este estudio se mantuvieron valores altos de pH y se utilizó la activación ultrasónica. En otros estudios han reportado que el tipo de sustancia que se le agrega a las pastas de hidróxido de calcio puede afectar el valor de pH. La asociación con agua favorece un pH alto, mientras que agregar otras sustancias, como la clorhexidina, resulta favorable en alcalinización. Para el grupo que contenía la pasta de hidróxido de calcio preparado con solución salina el cambio de pH vario poco, sigue estando en un rango alcalino pero no tanto como en el grupo de hipoclorito de sodio, es decir se mantuvo más estable.

La adicción de otras sustancias antisépticas al hidróxido de calcio ha sido propuesto para mejorar su efecto antimicrobiano. Muchos estudios han agregado clorhexidina, por su acción antimicrobiana acentuada y su pH entre los 5.5 y 7.0, y

este podría reducirse en asociación con sustancias con pH alcalino. En el presente estudio no se encontró diferencia significativa.

Los cambios de pH del agua en las que se sumergieron las raíces de dientes pueden deberse a que existió una filtración del material hacia el exterior, o de agua hacia el interior que al entrar en contacto con el material cambió su pH, pero no permite conocer con certeza si el pH de la pasta de hidróxido de calcio colocada en el conducto radicular en realidad disminuyó.

## 11. Conclusiones

---

La presencia de hidróxido de calcio en el conducto radicular por un determinado periodo de tiempo promueve un shock bacteriano como consecuencia de su elevado pH que inactiva las enzimas de la membrana celular bacteriana promoviendo su destrucción. La alteración de la membrana celular puede llevar a cambios reversibles o irreversibles de tal estructura dependiendo del tiempo de acción y valor del pH.

Se acepta la hipótesis 0 y se concluye que no existe diferencia significativa en el cambio de pH de la solución circundante al utilizar hipoclorito de sodio al 2%, clorhexidina al 0.2% y solución salina como vehículo en las pastas de hidróxido de calcio utilizadas como medicamento intraconducto no influye.

Después de realizar este estudio se recomienda seguir investigando la influencia de los vehículos o sustancias que module la acción del hidróxido de calcio, utilizando equipos más sensibles. Así como seguir con las siguientes fases para evaluar la respuesta celular y clínica, ya que se tiene la posibilidad de encontrar un medicamento intraconducto, mejorado, a base de hidróxido de calcio, con una adecuada respuesta de la región periapical.

## 12. Referencias bibliográficas

---

- 1.- Soares IJ, Golberg F. Endodoncia Técnicas y Fundamentos. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 2012. (21,153,205)
- 2.- Ali Reza Farhad, Behnaz Barekatin, Maryam Allameh, Tahmineh Narimani. Evaluation of the antibacterial effect of calcium hydroxide in combination with three different vehicles: An in vitro study, Dental Research Journal, Mar 2012 , Vol 9, Issue 2.
- 3.- Seema Dixit, Ashutosh Dixit, and Pravin Kumar. Nonsurgical Treatment of Two Periapical Lesions with Calcium Hydroxide Using Two Different Vehicles, Hindawi Publishing Corporation Case Reports in Dentistry Volume 2014, Article ID 901497, 4 pages.
- 4.- Masoud SAATCHI, Ali SHOKRANEH, Hooman NAVAEI. Antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine on Enterococcus faecalis: asystematic review and meta-analysis, J Appl Oral Sci. 2014;22(5):356-65.
- 5.- Ferreira N S. DDS, et al. Microbiological Profile Resistant to Different Intracanal Medications in Primary Endodontic Infections, JOE Volume 41, Number 6, June 2015.
- 6.- Charu Grover, Neeta Shetty, Evaluation of calcium ion release and change in pH on combining calcium hydroxide with different vehicles, Contemporary Clinical Dentistry ,Oct-Dec 2014 ,Vol 5, Issue 4.

7.- Agrafioti A, Tzimpoulas NE. Influence of Dentin from the Root Canal Walls and the Pulp Chamber Floor on the pH of Intracanal Medicaments. JOE Volume 39, Number 5, May 2013

8.-Hungaro MA, Valan Nv,et al. Effect of Ultrasonic Activation on pH and Calcium Released by Calcium Hydroxide Pastes in Simulated External Root Resorption, JOE Volume 38, Number 6, June 2012.

9.- Heward S y cols. Effects of Intracanal Mineral Trioxide Aggregate and Calcium Hydroxide During Four Weeks on pH Changes in Simulated Root Surface Resorption Defects: An In Vitro Study Using Matched Pairs of Human Teeth, JOE — Volume 37, Number 1, January 2011.

10.-Madhubala MM, Srinivasan N, Ahamed S. Comparative Evaluation of Propolis and Triantibiotic Mixture as an Intracanal Medicament against Enterococcus faecalis. JOE. 2011 Sep; 37(9), 1287-1289.

11.- Cláudia Fernandes, Rodrigo Sanches, et al. Assessment of the Antibacterial Activity of Calcium Hydroxide Combined with Chlorhexidine Paste and Other Intracanal Medications against Bacterial Pathogens, European Journal of Dentistry, January 2011 - Vol.5.

12.- Delgado R, Gasparoto TH, Sipert CR et al. Antimicrobial Effects of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine on Enterococcus faecalis. JOE. 2010 Aug; 36(8), 1389-1393.

- 13.- M.L. de la Casa, M.Á. Bulacio y cols. Pastas de hidróxido de calcio preparadas con diferentes soluciones. Acción solvente, Endodoncia 2009; 27 (Nº 1):19-22.
- 14.- Leonardo MR. Endodoncia. Tratamientos de conductos radiculares. Principios Técnicos Y Biológicos. Vol. 2. Editorial Artes Médicas. Brasil 2005.
- 15.- Cohen S, Burns RC, Vías de la pulpa. 8va ed. Editorial Mosby. Madrid. 2004.
- 16.- Torabinejad M, Walton RE. Endodoncia Principios y Práctica. 2da ed. Editorial McGrawHill Interamericana. México. 1997.
- 17.- Fava LR, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. International Endodontic Journal, 32, 257-282, 1999.
- 18.-Lasala A. Endodoncia. 4ta ed. Editorial Salvat. México. 1992
- 19.- Cruz A, Vera J, Lara A. Endodoncia. Fundamentos científicos para la práctica clínica. Editorial Amate. México. 2012
- 20.- Genné R.G. y cols El hidróxido de calcio: su uso clínico en la endodoncia actual, Archivo Médico de Camagüey, vol. 9, núm. 3, 2005.Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas de Camagüey,Camagüey, Cuba.
- 21.- Ramon R., Jorge A., Difusion de iones hidroxilo y calcio de la pasta hidróxido de calcio químicamente puro con el gel de Aloe vera como medicamento intraconducto, Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima Perú. 2004.

22.- Yucel AC, Abdurrahman A, et al. The pH changes of calcium hydroxide mixed with six different vehicles. OOOOE Volume 103, Number 5, 2007.

### 13. Anexos

---

#### Anexo 1

#### Grupo A

| Data source: Data 1 in Notebook1                             |    |         |        |       |      |  |
|--------------------------------------------------------------|----|---------|--------|-------|------|--|
| Group                                                        | N  | Missing | Median | 25%   | 75%  |  |
| 0 hrs                                                        | 12 | 0       | 6.41   | 6.23  | 6.74 |  |
| 24 hrs                                                       | 12 | 0       | 7.695  | 7.54  | 7.82 |  |
| 7 dias                                                       | 12 | 0       | 7.38   | 7.31  | 7.7  |  |
| 12 dias                                                      | 12 | 0       | 7.69   | 7.555 | 8.1  |  |
|                                                              |    |         |        |       |      |  |
| <b>H = 30.655 with 3 degrees of freedom. (P = &lt;0.001)</b> |    |         |        |       |      |  |

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ( $P = <0.001$ ). To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

| All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test): |               |       |             |  |
|-----------------------------------------------------------|---------------|-------|-------------|--|
| Comparison                                                | Diff of Ranks | q     | P<0.05      |  |
| 12 dias vs 0 hrs                                          | 332.5         | 6.856 | Yes         |  |
| 12 dias vs 7 dias                                         | 125.5         | 2.588 | No          |  |
| 12 dias vs 24 hrs                                         | 8             | 0.165 | Do Not Test |  |
| 24 hrs vs 0 hrs                                           | 324.5         | 6.691 | Yes         |  |
| 24 hrs vs 7 dias                                          | 117.5         | 2.423 | Do Not Test |  |
| 7 dias vs 0 hrs                                           | 207           | 4.268 | Yes         |  |

## Anexo 2

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

A result of "Do Not Test" occurs for a comparison when no significant difference is found between the two rank sums that enclose that comparison. For example, if you had four rank sums sorted in order, and found no significant difference between rank sums 4 vs. 2, then you would not test 4 vs. 3 and 3 vs. 2, but still test 4 vs. 1 and 3 vs. 1 (4 vs. 3 and 3 vs. 2 are enclosed by 4 vs. 2: 4 3 2 1). Note that not testing the enclosed rank sums is a procedural rule, and a result of Do Not Test should be treated as if there is no significant difference between the rank sums, even though one may appear to exist.

## Anexo 3

### Grupo B

|                                                      |                                       |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks | jueves, marzo 10, 2016, 10:35:41 p.m. |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------|

|                                                    |    |         |        |       |       |
|----------------------------------------------------|----|---------|--------|-------|-------|
| Data source: grupo B in Notebook2                  |    |         |        |       |       |
|                                                    | N  | Missing | Median | 25%   | 75%   |
| 0 hrs B                                            | 12 | 0       | 6.695  | 6.54  | 6.725 |
| 24 hrs B                                           | 12 | 0       | 7.375  | 7.185 | 7.555 |
| 7 dias B                                           | 12 | 0       | 7.38   | 7.03  | 7.515 |
| 12 dias B                                          | 12 | 0       | 7.835  | 7.6   | 7.955 |
|                                                    |    |         |        |       |       |
| H = 33.131 with 3 degrees of freedom. (P = <0.001) |    |         |        |       |       |

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001).

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

# Anexo 4

| All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):                      |               |       |        |  |  |  |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|--------|--|--|--|
| Comparison                                                                     | Diff of Ranks | q     | P<0.05 |  |  |  |
| 12 días B vs 0 hrs B                                                           | 392.5         | 8.093 | Yes    |  |  |  |
| 12 días B vs 7 días B                                                          | 198.5         | 4.093 | Yes    |  |  |  |
| 12 días B vs 24 hrs B                                                          | 163           | 3.361 | No     |  |  |  |
| 24 hrs B vs 0 hrs B                                                            | 229.5         | 4.732 | Yes    |  |  |  |
| 24 hrs B vs 7 días B                                                           | 35.5          | 0.732 | No     |  |  |  |
| 7 días B vs 0 hrs B                                                            | 194           | 4     | Yes    |  |  |  |
|                                                                                |               |       |        |  |  |  |
|                                                                                |               |       |        |  |  |  |
| Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties. |               |       |        |  |  |  |

## Anexo 5

### Grupo C

|                                                      |    |                                       |        |       |       |  |  |
|------------------------------------------------------|----|---------------------------------------|--------|-------|-------|--|--|
| Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks |    | jueves, marzo 10, 2016, 10:42:34 p.m. |        |       |       |  |  |
|                                                      |    |                                       |        |       |       |  |  |
| Data source: grupo C in Notebook3                    |    |                                       |        |       |       |  |  |
|                                                      |    |                                       |        |       |       |  |  |
| Group                                                | N  | Missing                               | Median | 25%   | 75%   |  |  |
| 0 hrs C                                              | 12 | 0                                     | 6.39   | 6.295 | 6.55  |  |  |
| 24 hrs C                                             | 12 | 0                                     | 7.29   | 7.11  | 7.35  |  |  |
| 7 días C                                             | 12 | 0                                     | 7.565  | 7.365 | 7.805 |  |  |
| 12 días C                                            | 12 | 0                                     | 7.615  | 7.445 | 8.015 |  |  |
|                                                      |    |                                       |        |       |       |  |  |
| H = 36.392 with 3 degrees of freedom. (P = <0.001)   |    |                                       |        |       |       |  |  |

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001).

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

## Anexo 6

| All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test): |               |       |        |  |
|-----------------------------------------------------------|---------------|-------|--------|--|
| Comparison                                                | Diff of Ranks | q     | P<0.05 |  |
| 12 dias C vs 0 hrs C                                      | 371.5         | 7.66  | Yes    |  |
| 12 dias C vs 24 hrs C                                     | 205.5         | 4.237 | Yes    |  |
| 12 dias C vs 7 dias C                                     | 45            | 0.928 | No     |  |
| 7 dias C vs 0 hrs C                                       | 326.5         | 6.732 | Yes    |  |
| 7 dias C vs 24 hrs C                                      | 160.5         | 3.309 | No     |  |
| 24 hrs C vs 0 hrs C                                       | 166           | 3.423 | No     |  |

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

## Anexo 7

### One Way Analysis of Variance

jueves, marzo 10, 2016, 11:19:57 p.m.

**Data source:** Data 1 in Notebook1

**Normality Test:** Failed ( $P < 0.050$ )

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

### Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

jueves, marzo 10, 2016, 11:19:57 p.m.

**Data source:** Data 1 in Notebook1

| Group   | N | Missing | Median | 25%   | 75%   |
|---------|---|---------|--------|-------|-------|
| grupo A | 4 | 0       | 7.535  | 6.895 | 7.693 |
| grupo B | 4 | 0       | 7.377  | 7.035 | 7.607 |
| grupo C | 4 | 0       | 7.428  | 6.840 | 7.590 |

$H = 0.550$  with 2 degrees of freedom.  $P(\text{est.}) = 0.760$   $P(\text{exact}) = 0.770$

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ( $P = 0.770$ )