



ARTÍCULO CIENTÍFICO

Efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica versus la terapia láser sobre la
Porphyromona gingivalis: Estudio in vitro

Antimicrobial effect of photodynamic therapy versus laser therapy on
Porphyromone gingivalis: In vitro study

Efeito antimicrobiano da terapia laser versão daterapia photodinâmica na
Porphyromonas gingivalis: Estudo in vitro

Daniela Carolina Gordillo Caizaluisa¹, David Montero López²

RECIBIDO: 21/nov/2017 ACEPTADO: 10/may/2018 PUBLICADO: 31/jul/2018

1. Odontóloga General , Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador.
2. PhD en formación, MSc en Rehabilitación oral e Implantología, Especialista en Implantología, Rehabilitación Oral, Docente Investigador Facultad de Odontología Universidad Central del Ecuador.

CORRESPONDENCIA

David Montero López
Universidad Central del Ecuador
Facultad de Odontología
Av. America y Av. Universitaria
gmontero@uce.edu.ec



RESUMEN

En la actualidad existen diferentes aplicaciones del láser en Odontología; esta Terapia se basa en la emisión de energía luminosa con diferente longitud de onda dependiendo del procedimiento que se realice generan efectos físicos y químicos que producen repuestas biológicas y terapéuticas como cicatrización de heridas, efectos analgésicos y antiinflamatorios además de inhibir la progresión de gingivitis y periodontitis. **Objetivo:** Evaluar el efecto antimicrobiano de la Terapia Fotodinámica (TFD) y de la Terapia Láser sobre colonias de *Porphyromona Gingivalis* (Pg). **Materiales y Métodos:** Estudio experimental, in vitro. La muestra estuvo constituida por 48 disoluciones de (Pg) que aprox. contiene 1000 colonias, se dividieron en 6 grupos de 8 muestras cada uno siendo: G1: 0.05% Azul de Metileno AM + luz led, G2: 0.1%AM + luz led, G3: 0.05% AM + Laser, G4: 0.1%AM + Laser, G5 Terapia Láser (30") y G6: Terapia Láser (60"). Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de Kruskal Wallis y U Mann Whitney con un nivel de significancia de 5%. **Resultados:** Los valores medios de ufc fueron de 190,1, 187,8, 23,6, 13,1, 2,1 y 0,0 para G1, G2, G3, G4, G5 y G6 respectivamente. Obteniéndose una significancia ($p < 0,001$) que permitió inferir que la capacidad antimicrobiana fue distinta para los diferentes protocolos empleados. **Conclusión:** La TFD con láser y el uso del Láser fueron más efectivas que la TFD con luz led en la reducción de colonias bacterianas (Pg).

Palabras Claves: Azul de metileno, Periodoncia, Periodontitis Crónica, Bacterias, agentes fotosensibles.

ABSTRACT

At present there are different applications of the laser in Dentistry; This Therapy is based on the emission of luminous energy with different wavelengths. Depending on the procedure performed, they generate physical and chemical effects that produce biological and therapeutic responses such as wound healing, analgesic and anti-inflammatory effects, as well as inhibiting the progression of gingivitis and periodontitis. **Objective:** To evaluate the antimicrobial effect of Photodynamic Therapy (PDT) and Laser Therapy on colonies of *Porphyromona Gingivalis* (Pg). **Materials and Methods:** Experimental study, in vitro. The sample consisted of 48 solutions of (Pg) that approx. contains 1000 colonies, were divided into 6 groups of 8 samples each being: G1: 0.05% Methylene blue AM + led light, G2: 0.1% AM + led light, G3: 0.05% AM + Laser, G4: 0.1% AM + Laser, G5 Laser Therapy (30 ") and G6: Laser Therapy (60"). The data obtained were statistically analyzed by the Mann Whitney U test with a level of significance of 5%. **Results:** The mean cfu values were 190.1, 187.8, 23.6, 13.1, 2.1 and 0.0 for G1, G2, G3, G4, G5 and G6 respectively. obtained a Significance ($p < 0.001$) that allowed us to infer that the antimicrobial capacity was different for the different protocols used. **Conclusion:** The PDT with laser and the use of the laser were more effective than the PDT with led light in the reduction of bacterial colonies (Pg).

Key words: Methylene blue, Periodontics, Chronic Periodontitis, Bacteria, photosensitive agents.

RESUMO

Atualmente existem diferentes aplicações do laser na Odontologia; esta terapia baseia-se na emissão de energia luminosa com comprimentos de onda diferentes, dependendo do procedimento realizado geram efeitos físicos e químicos que produzem respostas biológicas e terapêuticas como cicatrização de feridas, efeitos analgésicos e anti-inflamatórios além de inibir a progressão da gengivite e periodontite. **Objetivo:** Avaliar o efeito antimicrobiano da Terapia Fotodinâmica (TFD) e Laser Therapy em colônias de *Porphyromona Gingivalis* (Pg). **Materiais e Métodos:** Estudo experimental, in vitro. A amostra foi composta por 48 soluções de (Pg) que aprox. contém 1000 colônias, foram divididos em 6 grupos de 8 amostras sendo: G1: 0,05% azul de metileno AM + luz led, G2: 0,1% AM + luz led, G3: 0,05% AM + Laser, G4: 0,1% AM + Laser, Terapia Laser G5 (30 ") e G6: Terapia Laser (60"). Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelos testes de Kruskal Wallis e U Mann Whitney, com nível de significância de 5%. **Resultados:** Os valores médios de ufc foram 190,1, 187,8, 23,6, 13,1, 2,1 e 0,0 para G1, G2, G3, G4, G5 e G6, respectivamente. Obteve-se significância ($p < 0,001$) que permitiu inferir que a capacidade antimicrobiana foi diferente para os diferentes protocolos utilizados. **Conclusão:** A TFD com laser e o uso de laser foram mais efetivos que TFD com luz LED na redução de colônias bacterianas (Pg).

Palavras-chave: Azul de metileno, Periodontia, Periodontite crônica, Bactérias, agentes fotossensíveis.



INTRODUCCIÓN

La Periodontitis Crónica (PC) es una enfermedad inflamatoria en respuesta a la presencia, acumulación e infección de bacterias principalmente del “complejo rojo”¹⁻², que produce una destrucción progresiva de ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar; siendo este signo de pérdida ósea lo más predominante en esta enfermedad³⁻⁴. Para que esta se desarrolle es necesaria también la presencia de un hospedador susceptible que no es capaz de enfrentar las infecciones⁵.

La respuesta inicial a la infección bacteriana se da gracias a los mecanismos de protección dada por el constante flujo del líquido crevicular que ayuda a la remoción de bacterias que colonizan el surco y otros componentes: mientras que la liberación de una serie de mediadores inflamatorios (IgG, IgA) y polimorfonucleares neutrófilos (PMN)⁶ son los responsables de iniciar la respuesta inflamatoria y producir la destrucción tisular y, si esta respuesta se amplifica por la presencia de prostaglandinas se producirá la pérdida de inserción y reabsorción ósea⁷⁻⁸.

La Terapia Periodontal está destinada a la solución de todos los signos clínicos que caracterizan la enfermedad, mediante el Raspado y Alisado Radicular (RAR) que es un tratamiento mecánico encaminado a la eliminación y remoción del biofilm adherida a las superficies dentales, produciendo una mejoría significativa en la mayoría de los casos, pero si la enfermedad periodontal es activa, es necesario la aplicación de una terapia antibiótica local o sistémica, tomando en cuenta una serie de factores adversos que presenta el uso de antibióticos⁹.

La Terapia Fotodinámica (TFD) es un procedimiento médico que radica en la utilización de tres componentes principales que son: un agente fotosensibilizador, fuente de luz de longitud de onda específica y la presencia de oxígeno¹⁰⁻¹¹.

Los reactivos tóxicos de la TFD van a actuar sobre componentes celulares bacterianos como las

INTRODUCTION

Chronic Periodontitis (CP) is an inflammatory disease in response to the presence, accumulation and infection of bacteria mainly of the “red complex”¹⁻², which produces a progressive destruction of periodontal ligament, cement and alveolar bone; being this sign of bone loss the most predominant in this disease³⁻⁴. In order for this to develop, the interaction of a susceptible host who is not capable of facing infections⁵.

The initial response to bacterial infection is given by the mechanisms of protection of the crevicular fluid and its constant flow that helps the removal of bacteria that colonize the sulcus and other components, however, the release of a series of inflammatory mediators (IgG, IgA) and polymorph nuclear neutrophils (PMN)⁶ that are responsible for initiating the inflammatory response and producing tissue destruction in addition to the presence of prostaglandins that amplify the response, there will be loss of insertion and bone resorption⁷⁻⁸.

Periodontal Therapy is aimed at the solution of all the clinical signs that characterize the disease, by means of the Raspado and Radicular Smoothing (RRS), mechanical treatment aimed at the elimination and removal of the biofilm adhered to the dental surfaces, producing a significant improvement in the Most of the cases, but if the periodontal disease is active, it is necessary to implement a local or systemic antibiotic therapy, taking into consideration the adverse effects that could trigger the use of antibiotics⁹.

Photodynamic Therapy (PDT) is a medical procedure that relies on the use of three main components: a photosensitizing agent, light source of specific wavelength and the presence of oxygen¹⁰⁻¹¹.

The toxic reagents of PDT will act on bacterial cellular components such as proteins,



proteínas, los lípidos, ácidos nucleicos y principalmente dañando a la membrana citoplasmática llevando a la muerte y reduciendo la población bacteriana tanto periodontal como cariogénica como son *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.* (*L. spp.*), *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*)¹²⁻¹³.

El azul de metileno y el azul de toluidina son los fotosensibilizadores más eficaces en la inactivación de bacterias¹⁴⁻¹⁵, se caracterizan por una carga positiva además de un bajo peso molecular que ayuda a unirse y pasar a través de los canales protéicos de la membrana bacteriana externa por lo que puede ser utilizada directamente sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas¹⁶⁻¹⁷.

La Terapia Láser se basa en la emisión de energía luminosa con diferente longitud de onda, la radiación producida por el láser es absorbida por los tejidos diana en los que produce diferentes efectos físicos y químicos que generan un respuesta biológica y en ocasiones terapéutica, esto va depender de las propiedades ópticas del tejido y la longitud de onda utilizada¹⁸.

Los láseres de uso médico y odontológico se clasifican en dos grandes grupos tomando en cuenta su potencia y capacidad de interacción con los tejidos siendo de alta potencia y baja potencia.

Los láseres de alta potencia (CO₂, Argón, Nd-YAG, Ho-YAG, Er: YAG y Diodo) son utilizados principalmente en el campo quirúrgico, estos van a producir efectos físicos y térmicos visibles sobre el tejido irradiado, se los emplea como sustitutos del bisturí frío o instrumental rotatorio convencional¹⁹.

Los láseres de baja potencia laser de Diodo semiconductor ArGa, He-Ne y AsAl son aquellos que van a ser utilizados sobre tejidos blandos, no producen aumento de temperatura; presentan efectos especiales como la bioestimulación que mejora la cicatrización, efectos analgésicos y efectos antiinflamatorios que permiten un uso de forma aislada o como coadyuvante en tratamientos convencionales¹⁹.

lipids, nucleic acids and mainly damaging their cytoplasmic membrane to bring bacteria to death, reducing their bacterial population both periodontal and cariogenic, especially *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.* (*L. spp.*), *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*)¹²⁻¹³.

Methylene blue and toluidine blue are the most effective photosensitizers in the inactivation of bacteria¹⁴⁻¹⁵, they are characterized by a positive charge in addition to a low molecular weight that helps to bind and pass through the protein channels of the external bacterial membrane, so it can be used directly on Gram positive and Gram negative bacteria¹⁶⁻¹⁷.

Laser Therapy is based on the emission of light energy with different wavelength, the radiation produced by the laser is absorbed by the target tissues in which it produces different physical and chemical effects that generate a biological response and sometimes therapeutic, this goes to depend on the optical properties of the tissue and the wavelength used¹⁸.

Lasers for medical and dental use are classified into two large groups taking into account their power and ability to interact with tissues, being high power and low power.

The high power lasers (CO₂, Argon, ND-YAG, Ho-YAG, ER: YAG and Diode) are used mainly in the surgical field, these will produce visible physical and thermal effects on the irradiated tissue, they are used as substitutes for cold scalpel or conventional rotary instruments¹⁹.

Low power lasers such as the semiconductor diode laser ArGa, He-Ne and AsAl are those that are going to be used on soft tissues, they do not produce temperature increase; they have effects such as bio stimulation that improves healing, analgesic effects and anti-inflammatory effects that allow their use in isolation or as adjuvant in conventional treatments¹⁹.



El láser de diodo es un láser en estado sólido que combina al Aluminio, Galio y Arsénico para transformar la energía eléctrica en energía lumínica es un semiconductor que presenta una longitud de onda para uso odontológico entre los 800nm y 980nm que le da características terapéuticas como no producir aumento de temperatura, cicatrización de heridas, efectos analgésicos y antiinflamatorios y la reducción de prostaglandinas E2 que pueden inhibir la progresión de gingivitis y periodontitis²⁰.

En los últimos tiempos se ha conseguido la activación del láser de Diodo para la Terapia Fotodinámica ya que son de bajo costo y además son portátiles al compararlos con otros tipos de láser como de argón, dióxido de galio-aluminio-arseniuro y los láseres de helio-neón. En estudios clínicos han demostrado que la TFD afecta exclusivamente a los microorganismos en el sitio de deposición del agente fotosensible por no interferir con las estructuras subyacentes por lo que le hace más efectiva a esta terapia y también como complemento al RAR¹². Recientemente el uso de la TFD se muestra efectivo en este tipo de tratamientos dejando abierta la posibilidad de nuevas investigaciones. Por lo que, el objetivo del presente estudio fue evaluar in vitro el efecto antimicrobiano que tiene la TFD al utilizar luz led y un láser de Diodo comparándola con la Terapia Láser sobre cepas de Porphyromona Gingivalis (Pg) principal bacteria precursora de la periodontitis²¹⁻²².

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio experimental in vitro, fue aprobado por el comité de ética e investigación de la Universidad Central del Ecuador. El estudio fue realizado en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador (FCQ.UCE).

Cepas y condiciones de cultivo bacteriano

Las cepas puras de Porphyromona Gingivalis ATCC33277 se cultivaron en Tryptic Soy Broth TSB (CALDO DE CULTIVO) y se incubaron a

The diode laser is a solid state laser that combines aluminum, gallium and arsenic to transform electrical energy into light energy, is a semiconductor that has a wavelength for dental use between 800nm and 980nm that gives therapeutic characteristics without producing an increase in temperature, being useful for the healing of wounds due to its analgesic and anti-inflammatory effects, as well as the reduction of prostaglandins E2 that can inhibit the progression of gingivitis and periodontitis²⁰.

In recent times the activation of the Diode laser for Photodynamic Therapy has been achieved since they are inexpensive and are also portable when compared to other types of lasers such as argon, gallium-aluminum-arsenide dioxide and helium lasers -neon. In clinical studies have shown that PDT affects only microorganisms in the site of deposition of the photosensitive agent by not interfering with the underlying structures, which makes it more effective to this therapy and also as a complement to RAR¹². Recently, the use of PDT is effective in this type of treatment, leaving open the possibility of new research. Therefore, the objective of the present study was to evaluate in vitro the antimicrobial effect of PDT when using LED light and a Diode laser, comparing it with Laser Therapy on Porphyromona Gingivalis (Pg) strains, the main precursor bacteria of periodontitis²¹⁻²².

MATERIALS AND METHODS

This in vitro experimental study was approved by the ethics and research committee of the Central University of Ecuador. The study was carried out in the Clinical Laboratory of the Faculty of Chemical Sciences of the Central University of Ecuador (FCHS.CUE).

Strains and bacterial culture conditions

The pure strains of Porphyromona Gingivalis ATCC33277 were cultivated in Tryptic Soy Broth (TSB) and were incubated at 37 degrees for 7

37 grados por 7 días en condiciones de anaerobiosis²⁰. A su vez se preparó de acuerdo con las recomendaciones del fabricante en caldo de cultivo Agar Sangre para el crecimiento bacteriano.

A los cultivos de *Porphyromona* se realizó varias diluciones de la bacteria en agua de peptona universal hasta obtener una concentración de Pg que nos permita visualizar el número aproximado de 1000 colonias (UFC inicial); se realizó un cultivo comprobatorio dando como resultado 1000 colonias aproximadamente.

Fotosensibilizador y la fuente de luz

La solución fotosensibilizadora fue el azul de metileno (AM) diluida apropiadamente en agua destilada para obtener la concentración de 0.05% y 0.10% y se almacenó a temperatura ambiente en la oscuridad.

La fuente de luz utilizada en este estudio fue una lámpara de luz led de 480nm y 8W de poder, además del Láser de Diodo con una potencia de 10W y longitud de onda de 940nm.

Terapia Fotodinámica y Láser

Se utilizaron 48 muestras de la dilución líquida y se dividió en 6 grupos de 8 muestras cada terapia divididas para la Terapia Fotodinámica + luz led G1 y G2 se añadió 1ml de azul de metileno al 0.05% y 0.1% respectivamente, se dejó actuar por 5min y se irradió con la lámpara led de 480nm por 60 segundos. (Figura 1. A)

Para la Terapia Fotodinámica con Láser Diodo G3 y G4 se agregó 1ml de AM 0.05% y 0.1% respectivamente, se dejó actuar por 5min y se irradió con el láser por 30 segundos.

La Terapia Láser G5 y G6 se irradió durante 30s y durante 60s respectivamente. (FIGURA 1. B)

days under anaerobic conditions²⁰. In turn, they were prepared according to the manufacturer's recommendations in broth. Blood agar culture for bacterial growth.

Several dilutions were made to *Porphyromona* cultures to *Porphyromona* cultures in universal peptone water until obtaining a Pg concentration that allows us to visualize the approximate number of 1000 colonies (initial CFU); a confirmatory culture was performed resulting in approximately 1000 colonies.

Photosensitizer and light source

The photosensitizing solution was methylene blue (MB) properly diluted in distilled water to obtain the concentration of 0.05% and 0.10% and stored at room temperature in the dark.

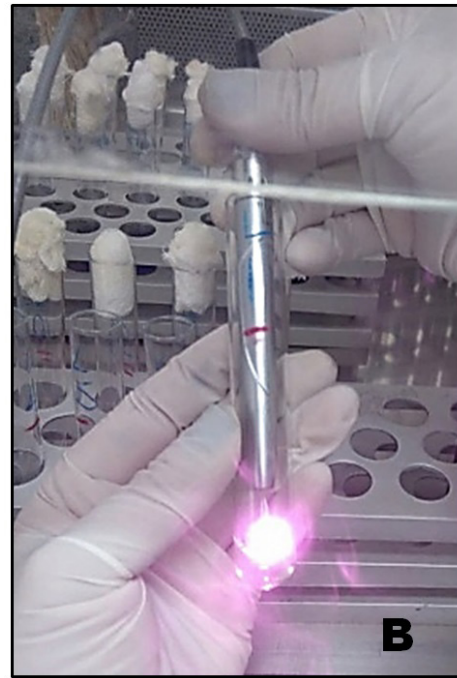
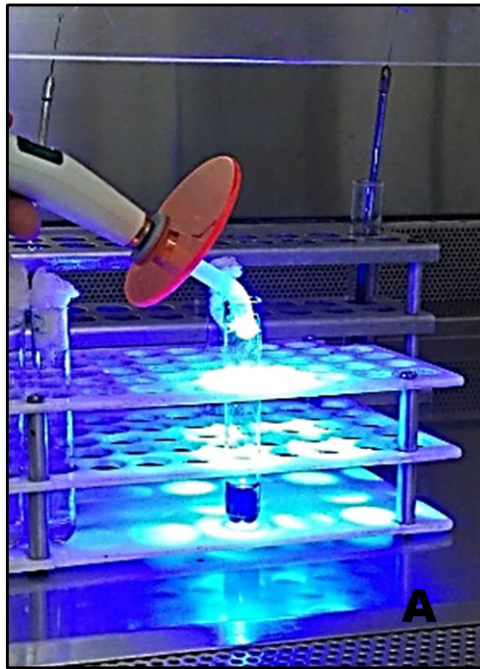
The light source used in this study was a 480nm led light and 8W power lamp, in addition to the Diode Laser with a power of 10W and a wavelength of 940nm.

Photodynamic and Laser Therapy

48 samples of the liquid dilution were used and divided into 6 groups of 8 samples each divided therapy. For Photodynamic Therapy + led light G1 and G2, 1ml of methylene blue 0.05% and 0.1% respectively was added, allowed to act for 5min and irradiated with the led lamp of 480nm for 60 seconds. (Figure 1. A)

For Photodynamic Therapy with Laser Diode G3 and G4, 1ml of AM 0.05% and 0.1% respectively was added, it was left to act for 5min and it was irradiated with the laser for 30 seconds.

Laser Therapy G5 and G6 was irradiated during 30s and during 60s respectively. (FIGURE 1. B)



**Figura N°1.- A) Terapia Fotodinámica + Luz Led, irradiación con Lámpara Led 48nm sobre Pg.
B) Terapia Láser Diodo 940nm sobre Pg.**

**Figure N° 1.- A) Photodynamic Therapy + Led Light, irradiation with Led Lamp 48nm on Pg.
B) 940nm Diode Laser Therapy on Pg.**

Una vez realizados los procedimientos indicados en las muestras de dilución líquida se planta el contenido de cada tubo en las cajas de medios de cultivo (agar sangre) para poder observar el número de colonias que sobrevivieron a los distintos tratamientos.

Análisis Estadístico

Los datos experimentales fueron recogidos, codificados y archivados en el programa SPSS23. El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó mediante prueba no paramétrica: U Mann Whitney con un nivel de significancia del 5%.

Once the procedures indicated in the liquid dilution samples have been carried out, the contents of each tube are planted in the boxes of culture media (blood agar) in order to observe the number of colonies that survived the different treatments.

Statistical analysis

The experimental data were collected, coded and archived in the SPSS23 program. Statistical analysis of the experimental data was carried out using a nonparametric Mann Whitney U test with a significance level of 5%.



RESULTADOS

Grupos	Media ± Desviación Estándar
G1: 0,05 %AM + luz led	190,1 +_ 138,3
G2: 0.1%AM + luz led	187,8 +_ 94,3
G3: 0.05% AM + Laser	23,6 +_ 26,7
G4: 0.1%AM + Laser	13,1 +_ 16,0
G5: Terapia Láser (30'')	2,1 +_ 4,6
G6: Terapia Láser (60'')	0,0 +_ 0,0

Cuadro N° 1.- Valores de la diferencia de medias y desviación estándar de los tratamientos aplicados

RESULTS

Groups	Mean ± Estándar Deviation
G1: 0,05 %AM + luz led	190,1 +_ 138,3
G2: 0.1%AM + luz led	187,8 +_ 94,3
G3: 0.05% AM + Laser	23,6 +_ 26,7
G4: 0.1%AM + Laser	13,1 +_ 16,0
G5: Laser Teraphy (30'')	2,1 +_ 4,6
G6:Laser Teraphy (60'')	0,0 +_ 0,0

Chart N° 1.- Comparison of mean values and standard deviation on the amount of CFU that survived post therapy used

Tabla N° 1.- Resultados de la prueba U Mann Whitney

Grupos		Diferencia de medias (I-J)	Significancia
I	J		P
T. Fotodinámica (0,05 %) + luz led	T. Fotodinámica (0,1 %) + luz led	2,38	1,00
	T. Fotodinámica (0,05 %) + Láser	166,50	<0,001
	T. Fotodinámica (0,1 %) + Láser	177,00	<0,001
	T. Láser (30'')	188,00	<0,001
	T. Láser (60'')	190,13	<0,001
T. Fotodinámica (0,1 %) + luz led	T. Fotodinámica (0,05 %) + Láser	164,13	<0,001
	T. Fotodinámica (0,1 %) + Láser	174,63	<0,001
	T. Láser (30'')	185,63	<0,001
	T. Láser (60'')	187,75	<0,001
T. Fotodinámica (0,05 %) + Láser	T. Fotodinámica (0,1 %) + Láser	10,50	1,00
	T. Láser (30'')	21,50	1,00
	T. Láser (60'')	23,63	0,99
T. Fotodinámica (0,1 %) + Láser	T. Láser (30'')	11,00	1,00
	T. Láser (60'')	13,13	1,00
T. Láser (30'')	T. Láser (60'')	2,13	1,00

Tabla N° 1.- Resultados de la prueba U Mann Whitney

Groups		Difference of Means (I-J)	Significance
I	J		P
T. Photodynamics (0,05 %) +led light	T. Photodynamic (0,1 %) +led light	2,38	1,00
	T. Photodynamic (0,05 %) + Laser	166,50	<0,001
	T. Photodynamic (0,1 %) + Laser	177,00	<0,001
	T. Laser (30")	188,00	<0,001
	T. Laser (60")	190,13	<0,001
T. Photodynamic (0,1 %) +led light	T. Photodynamic (0,05 %) + Láser	164,13	<0,001
	T. Photodynamic (0,1 %) + Láser	174,63	<0,001
	T. Laser (30")	185,63	<0,001
	T. Laser (60")	187,75	<0,001
T. Photodynamic (0,05 %) + Laser	T. Photodynamic (0,1 %) + Láser	10,50	1,00
	T. Laser (30")	21,50	1,00
	T. Laser (60")	23,63	0,99
T. Photodynamics (0,1 %) + Laser	T. Laser (30")	11,00	1,00
	T. Laser (60")	13,13	1,00
T. Laser (30")	T. Laser (60")	2,13	1,00

DISCUSIÓN

Los primeros estudios in vitro del láser dentro de la práctica odontológica inician desde la época de los 70s, en los 80s comienza la utilización del láser de rubí en odontología, pero este no fue muy favorable ya que se detectó la destrucción de tejidos duros produciendo necrosis hemorrágica y daño pulpar¹⁸. Con el avance del tiempo se dió a conocer las aplicaciones clínicas de los tipos de láser y en 1990 se autoriza el desarrollo del láser por la Federación Dental Americana (FDA) que determina el uso y manejo de los diferentes tipos de láser.

Feuerstein et al 2005²³. En su estudio utilizó tres fuentes de luz visible entre 400 a 500 nm que irradiaron a cepas de P. Gingivalis y Fusobacterium

DISCUSSION

The first in vitro studies of the laser within the dental practice started since the 70s, in the 80s the use of the ruby laser began in dentistry, but this was not very favorable since the destruction of hard tissues was detected producing necrosis hemorrhagic and pulpal damage¹⁸. With the advance of time, the clinical applications of laser types were announced and in 1990 the development of the laser was authorized by the American Dental Federation (FDA)¹⁹.

Feuerstein et al., 2005²³. In his study used three visible light sources between 400 and 500 nm that irradiated strains of P. Gingivalis and Fu-



nucleatum en condiciones anaerobias y aerobias; en las que en condiciones anaerobias no hubo una reducción bacteriana mientras que en condiciones aerobias se observó una reducción bacteriana; lo que comprueba que el efecto fototóxico que tiene la exposición con luz led sobre bacterias depende del oxígeno el cual debe estar presente para que exista una reducción de colonias.

Chan & Lai, 2003²⁴ comparó dos tipos de láser (He-Ne y Diodo Láser) con diferentes tiempos de irradiación para erradicar 5 tipos de bacterias y concluyó que el láser de Diodo de baja potencia con un tiempo de exposición de 60s es la más eficaz en la reducción de bacterias con un 95-99%; datos que coinciden con los resultados obtenidos en esta investigación en el que el láser de Diodo 940nm es el más indicado en la reducción de colonias de *Porphyromona Gingivalis*. La Pg es una especie microbiana pigmentada de color negro en la que se encuentra de forma endógena fotosensibilizadores (hemoglobina) por los que 60s es el tiempo indicado de exposición que permite la activación del agente fotosensibilizador exógeno (AM) y endógeno logrando obtener la ventaja de lograr su efecto bactericida sin causar daño a los tejidos expuestos²³.

Ishikawa et al, 2009²⁴ determina que uno de los riesgos del uso de láser es la termogénesis que se produce en la interacción del láser con los tejidos, por lo que se realizó una prueba electrotérmica para medir el aumento de temperatura de la dilución bacteriana luego de la irradiación con el Láser de Diodo que mostró que la temperatura fue de 42°C que nos permite concluir que el Láser de Diodo realizó la desinfección bacteriana sin causar perjuicios además que no causas la carbonización tisular de los tejidos adyacentes.

El presente estudio ha demostrado que el uso del láser es efectivo sobre Pg; es una limitación del estudio evaluar sobre una cepa pura ATCC33277 ya que la cepa pura de Pg probablemente no represente el comportamiento del biofilm en pacientes comprometidos periodontalmente sin embargo, estos resultado concuerda con los hallazgos obte-

sobacterium nucleatum under anaerobic and aerobic conditions, showing that under anaerobic conditions there was no bacterial reduction while under aerobic conditions a bacterial reduction was observed; suggesting that the phototoxic effect of the exposure of led light on bacteria depends on oxygen, which must be present for a reduction of colonies.

Chan & Lai, 2003²⁴ compared two types of laser (He-Ne and Laser Diode) with different irradiation times to eradicate 5 types of bacteria and concluded that the low power Diode laser, with an exposure time of 60s is the most effective in the reduction of bacteria with an efficacy of 95-99%; data that coincide with the results obtained in this investigation in which the 940nm Diode laser was shown as the most indicated for the reduction of *Porphyromona Gingivalis* colonies. Pg is a black pigmented microbial species in which photosensitizers are found endogenously (hemoglobin). In this way, 60s is the exposure time that allows the activation of exogenous (AM) and endogenous photosensitizing agents, achieving a bactericide al effect without causing damage to the exposed tissues²³.

Ishikawa et al., 2009²⁴ determines that one of the risks of the use of lasers is the thermogenesis that occurs in the interaction of the laser with the tissues, so an electro thermal test was performed to measure the temperature increase of the bacterial dilution. of the irradiation with the Diode Laser, showing a temperature of 42°C capable of allowing a bactericidal effect without causing the tissue carbonization of the adjacent tissues or other damages.

The present study suggests that the use of the laser is effective on Pg. Within the methodological limitations, the use of a pure ATCC33277 strain of Pg probably does not represent the bacterial behavior as patients committed periodontally, however, these results agree with the findings obtained with high power lasers



nidos con láseres de alta potencia sobre microorganismos de bolsas periodontales con diagnóstico de periodontitis crónica severa, periodontitis agresivas, sanos y con gingivitis.

El láser de Diodo de 940nm fue utilizado ya que posee la ventaja de trabajar como un láser híbrido es decir nos permite realizar procedimientos como Fotobiomodulación y blanqueamiento como si fuera un Diodo Low-Level Laser Therapy (LLLT) y tratamientos en tejidos blandos como un High Intensity Laser Therapy (HILT) brindando al clínico la ventaja de tener en un solo equipo una variedad de procedimientos que puede estar al alcance de una consulta promedio dejando abierta la posibilidad de trabajar con la última tecnología del láser de alta potencia como podría ser el caso del láser (Er Cr YSGG) que nos permite manejar la densidad de potencia además de la variedad de procedimientos lo que podría resultar efectos prometedores en periodoncia e implantología.

CONCLUSIONES

La Terapia Láser de Diodo demostró la mejor eficacia seguida por la Terapia fotodinámica con láser de Diodo en la reducción de colonias bacterianas (Pg) cultivadas in vitro; siendo un enfoque alternativo válido a la terapia antimicrobiana de periodontitis y una alternativa terapéutica coadyuvante al RAR.

BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHY

1. Chitsaz M, Shirmohammad A, Shirmohammadli M, Kashefimehr A, Ghasemi V. Efficacy of Photodynamic Therapy as an Adjunct to Full-mouth Root Planing in the Treatment of Periodontitis Assessed by Real-time PCR: A Microbiological and Clinical Study. *Periodontology y Implant Dentistry*. 2015 Diciembre; 7(1): 26-32
2. Carranza F, Newman M. *Periodontología clínica*. 9na ed. Mexico: McGraw-Hill Interamericana; 2004.

on periodontal pocket microorganisms diagnosed with severe chronic periodontitis, aggressive periodontitis, healthy and with gingivitis²⁶.

The 940nm diode laser was used since it has the advantage of working like a hybrid laser, that is, it allows us to perform procedures such as photobiomodulation and whitening as if it were a low power laser and soft tissue treatments such as high power lasers, the advantage of having a variety of procedures in a single device is clinical. This study leaves open the possibility for new research with the latest technology of high power laser, is the case of the laser (Er Cr YSGG) that allows us to manage the density of the power in addition to the variety of procedures which could result promising effects in periodontics and implantology.

CONCLUSIONS

Diode Laser Therapy was shown to be the most effective, followed by Photodynamic Therapy with Diode Laser in the reduction of bacterial colonies (Pg) cultured in vitro, suggesting the use of these media as an adjuvant to RAR.

3. Socransky S, Haffajee A. Biofilm dentales: objetivos terapeuticos dificiles. *Periodontology* 2000. 2003; 3(1): 12-55.
4. Holts S, Ebersole J. Porphyromonas gingivalis, treponema denticola, Tannerella forsythia: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005; 38(1):72-122
5. Carvalho VF, Andrade PV, Rodrigues MF, Hirata MH, Hirata RD, Pannuti CM, De Micheli G, Conde MC. Antimicrobial photodynamic effect to treat residual pockets in periodontal patients: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2015 May;42(5):440-7.



6. Botero J. Respuesta inmune en las enfermedades del periodonto. *Rev Fac Odontol Univ Antioq.* 2009; 21(1):122-28
7. Bascones A, Noronha S, Gomez M, Gonzalez M, Villaroel M. Tissue destruction in periodontitis: bacteria or cytokines fault?. *Quintessence International.* 2006; 36(4): 299-306.
8. Noguera DP. Terapia fotodinámica aplicada como complemento del tratamiento periodontal no-quirúrgico en periodontitis crónica: aspectos clínicos e inflamatorios. Trabajo de Investigación Máster Ciencias Odontológicas. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial; 2012.
9. Lindhe J, Karting T, Lang N. *Periodoncia Clínica e Implantología.* 4ta ed. Gotemburgo: Editorial Panamericana; 2005.
10. Birag RR, Shahaboui M, Kiani S, Naghsh N. Effect of Nonsurgical Periodontal Treatment Combined With Diode Laser or Photodynamic Therapy on Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Split-Mouth Clinical Trial. *Journal of Lasers in Medical Sciences.* 2015; 6(3): 112-19.
11. Robledo H. Guía de estudio de la ciencia fundamental del láser/ interacción tisular, seguridad láser y procedimientos cosméticos exámenes escritos. Trumbull: The American Board of Laser Surgery Inc; 2014.
12. Bernal R , Abe G, Eduardo CP , Aranha A , Freitas P. Terapia fotodinamica antimicrobiana como complemento en el tratamiento restaurador directo. *Revista "ODONTOLOGÍA".* 2016 Dic; 19(2): 53-60.
13. Nastri L, Donnarumma G, Mazza C, Serpico R. Effects of toluidine blue-mediated photodynamic therapy on periopathogens and periodontal biofilm: in vitro evaluation. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010 Oct-Dec; 23(4):1125-32.
14. Soukos N, Goodson JM. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontology 2000.* 2011; 55(1):143-66.
15. Sahm N, Schwarz F, Aoki A, Becker J. Uso de la terapia Fotodinamica Antimicrobiana en el tratamiento periodontal y perrimplantario. *Revista de la Universidad de Heinrich-Heine de Düsseldorf.* 2011; 21(2):105-15.
16. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic Therapy in Dentistry. *J Dent Res.* 2007 Jun; 86(8): 694-707.
17. Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. Effect of Dosimetric and Physiological Factors on the Lethal Photosensitization of *Porphyromonas gingivaris* in vitro. *Photochemistry and Photobiology.* 1997 Jun; 6(65): 1026-31.
18. Passanezi E, Damante CA, Rubo ML, Aguiar Gregghi SL. Lasers in periodontal therapy. *Periodontology 2000.* 2015; 67(1):268-291.
19. López G. Estudio de las aplicaciones clínicas del láser de diodo InGaAsP (980nm) en Periodoncia e Implantología. Tesis Doctoral. Santiago de Compostela: Universidad Santiago de Compostela, Departamento de Estomatología; 2006.
20. Gómez C, Domínguez A, García A, García J. Aplicación complementaria de terapia fotodinámica y de la radiación láser de Er:YAG al tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica: estudio comparativo de sus efectos clínicos, antiinflamatorios y antimicrobianos. *Av. Odontoestomatol.* 2011 enero; 23(3): 147-160
21. España A, Arnabat J, Berini L, Gay C. Aplicaciones del láser en Odontología. *RCOE.* 2004 octubre; 9(5):497-511.
22. Liebana J. *Microbiología Oral.* segunda ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 2002.
23. Feuerstein O, Ginsburg I, Dayan E, Veler D, Weiss EI. Mechanism of Visible Light Phototoxicity on *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. *Photochem Photobiol.* 2005 Sep-Oct; 81(5):1186-9.
24. Chan Y, Lai CH. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. *Lasers Med Sci;* 2003;18(1):51-5.



25. Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA, Mizutani K, Sasaki KM, Izumi Y. Application of lasers in periodontics: true innovation or myth? *Periodontology* 2000. 2009;50:90-126.

CITA SUGERIDA

Gordillo D; Montero-López D. Efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica versus la terapia láser sobre la *Porphyromona gingivalis*: Estudio in vitro. *Odontología*. 2018; 20(1): 20-32.