

Efecto bactericida del láser Nd:YAP. Estudio in vitro

Caccianiga G*, Urso E**, Monguzzi R*, Gallo K**, Rey G***

RESUMEN

La utilización del láser en el ambiente odontológico está teniendo cada vez más difusión gracias al hecho que éste puede conciliar un elevado standard de confort para el paciente con la eficacia terapéutica.

El presente estudio ha evaluado la eficacia bactericida de la radiación láser asociada al empleo del agua oxigenada respecto a cinco cepas bacterianas comúnmente presentes en las bolsas periodontales activas y resistentes al empleo separado del láser y del agua oxigenada.

Las cinco bacterias estudiadas son: *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Micromonas micron* y *Fusobacterium nucleatum*.

La metodología de laboratorio utilizada preveía el siguiente protocolo: 30 ml de cada suspensión bacterianas, expuestas o no al agua oxigenada a distintas concentraciones del 0,5% o del 3%, han sido irradiadas separadamente con el láser por 5 o 10 segundos, utilizando tubos estériles "Eppendorf" de 1,5 ml. Por lo tanto ha sido comparada la actividad bactericida de solo agua oxigenada a concentraciones del 0,5% y del 3%, de solo irradiación láser y de los dos tratamientos asociados.

En todos los cultivos bacterianos en examen, el empleo del agua oxigenada en concentración del 3% asociada a la exposición de la irradiación láser por 10 segundos ha llevado a la ausencia o a una marcada disminución del número de colonias bacterianas, mientras que la disminución ha sido menos evidente, o ausente, en el caso de los tratamientos utilizados separadamente.

Los resultados confirman la mayor eficacia bactericida de la acción combinada de agua oxigenada y láser.

Palabras clave: Láser Nd:YA, bacterias, peróxido de hidrógeno.

SUMMARY

The use of laser in the odontological field is every day more spread thanks to the fact that it manages to reach a high standard of comfort for the patient in the therapeutic efficiency.

The goal of this study is to test the efficiency of a protocol that foresees the associated use of laser irradiation and hydrogen peroxide to reduce the bacterial charge of stocks commonly present in active periodontal pockets. The five bacterial stocks studied are: *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Micromonas micron*, *Fusobacterium nucleatum*.

The laboratory method used foresees the following protocol: 30ml of each bacterial suspension has been exposed to hydrogen peroxide at diverse concentrations at 0.5% or at 3% and it has been irradiated separately with laser for 5 seconds or 10 seconds, using sterile 1.5 ml Eppendorf tubes. It has been compared thus the bacterial activity of the hydrogen peroxide alone at the concentrations of 0.5% and 3%, the bacterial activity of the laser irradiation alone and of the two associated treatments.

In every bacterial cultivation examined the use of hydrogen peroxide at 3% concentration associated with the 10 second laser irradiation exposure led to the absence or a marked decrease of the number of bacterial colonies, while the decrease has been less evident or absent in the case of the two treatments used separately.

The results confirm the higher bactericide effectiveness of the combined action of hydrogen peroxide and laser.

Key words: Nd:YAP laser, bacteria, hydrogen peroxide.

Fecha de recepción: Febrero 2007.

Aceptado para publicación: Marzo 2007.

- * Università degli Studi «Milano Bicocca», Clínica Odontológica, Director: Prof. Marco BALDONI
- ** Doctorado de Investigación en Periodontología Experimental. Università degli Studi «Milano Bicocca», Clínica Odontológica.
- *** Fundador del I.M.L.A. (International Medical Láser Academy).

Caccianiga G, Urso E, Monguzzi R, Gallo K, Rey G. Efecto bactericida del láser Nd:YAP. Estudio in vitro. *Av. Odontoestomatol* 2007; 23 (3): 127-133.

INTRODUCCIÓN

La utilización del láser en el ambiente odontológico está teniendo cada vez más difusión gracias al hecho que éste puede conciliar un elevado standard de confort para el paciente con la eficacia terapéutica.

La palabra láser deriva del Ingles Light Amplification by Stimulated of Radiation, que significa amplificación de la luz por emisión estimulada de radiación. Comúnmente indica un dispositivo capaz de emitir un rayo láser, una particular radiación caracterizada de alta monocromaticidad, muy baja divergencia y elevada coherencia.

El empleo del láser en el tratamiento de la patología periodontal ha sido particularmente estudiado en los últimos años y numerosos trabajos científicos han demostrado la eficacia bactericida de la terapia láser asistida.

OBJETIVO DEL TRABAJO

El presente estudio ha evaluado la eficacia bactericida de la radiación láser asociada al empleo del agua oxigenada respecto a cinco cepas bacterianas comúnmente presentes en las bolsas periodontales activas y resistentes al empleo separado del láser y del agua oxigenada.

Las cinco bacterias estudiadas son:

- *Haemophilus actinomycetemcomitans* CIP 52.103T.
- *Bacteroides forsythus* CIP 105219T.
- *Porphyromonas gingivalis* CIP 103683T.
- *Micromonas micros* CIP 105294T.

— *Fusobacterium nucleatum* CIP 101130T.

Proveedor: Instituto Pasteur París.

Conservación: suspensión en DMSO al 10% conservado a -20°C .

MATERIALES Y MÉTODO

Las colonias de las cinco cepas bacterianas tomadas en estudio han sido realizadas en tampones a pH 7 y el recuento de cada una de las suspensiones ha sido realizada en terreno agar tipo “gelose Schaedler” + 5% de sangre de carnero en filtrado con membrana. Los reactivos utilizados para realizar el estudio fueron peróxido de hidrógeno al 3% y al 0,5% y “gelose Schaedler” + 5% de sangre de carnero.

Han sido testadas distintas condiciones, por lo tanto se realizaron diferentes test con exposición a la radiación láser por tiempos variados y contacto con distintas concentraciones de agua oxigenada. Además por cada cepa bacteriana ha sido incubada una suspensión (test de estudio) con el fin de testar la esterilidad del sistema reactivo y ha sido realizada una prueba sobre los diferentes cultivos bacterianos sin ningún tratamiento (test de control).

Para cada cepa bacteriana, 30 μl de suspensión han sido filtrados sobre “gelose schaedler” + 5% de sangre de carnero. Las suspensiones han sido expuestas al agua oxigenada al 0,5% y al 3% y sucesivamente incubadas en condiciones de anaerobiosis por 2 días a la temperatura de 37°C .

Cada una de las suspensiones bacterianas, expuestas o no al agua oxigenada, han sido irradiadas se-

Concentración de H ₂ O ₂	Sin irradiación láser	Irradiación láser por 5 seg.	Irradiación láser por 10 seg.
Sin contacto	15 minutos de contacto	15 minutos de contacto	15 minutos de contacto
0,5%	40 µl H ₂ O ₂ 15 minutos de contacto	40 µl H ₂ O ₂ 15 minutos de contacto	40 µl H ₂ O ₂ 15 minutos de contacto
3%	30 µl H ₂ O ₂ 15 minutos de contacto	30 µl H ₂ O ₂ 15 minutos de contacto	30 µl H ₂ O ₂ 15 minutos de contacto

paradamente con el láser, utilizando tubos estériles “Eppendorf” de 1,5 ml. Las distintas suspensiones han sido irradiadas por 5 o por 10 segundos.

Cada prueba ha sido realizada por duplicado.

Los resultados de los diferentes test han sido representados en las tablas de 1 a 5.

Los valores corresponden a la media de los resultados de las 2 pruebas independientes.

TABLA 1.- HAEMOPHILUS ACTINOMYCETEMCOMITANS						
Título de la suspensión utilizada: 1,54×10 ⁸ UFC/ml por 46,2×10 ⁶ UFC/30 µl						
Test realizado en un tubo conteniendo 50 µl de suspensión						
Haemophilus actinomycetemcomitans	Sin irradiación láser		Irradiación láser por 5 seg		Irradiación láser por 10 seg	
	UFC/30 µl	Reducción en log	UFC/30 µl	Reducción en log	UFC/30 µl	Reducción en log
Sin H ₂ O ₂	ND	/	0	8,19	0	8,19
H ₂ O ₂ 0,5%	7,5	5,79	0	8,19	0	8,19
H ₂ O ₂ 3%	0	8,19	0	8,19	0	8,19

ND= No demostrable; / = Sin de reducción logarítmica del número de bacterias.

TABLA 2.- BACTEROIDES FORSYTHUS						
Título de la suspensión utilizada: 7,2×10 ⁶ UFC/ml por 2,16×10 ⁵ UFC/30 µl						
Test realizado en un tubo conteniendo 50 µl de suspensión						
Bacteriodes forsythus	Sin irradiación láser		Irradiación láser por 5 seg		Irradiación láser por 10 seg	
	UFC/30 µl	Reducción en log	UFC/30 µl	Reducción en log	UFC/30 µl	Reducción en log
Sin H ₂ O ₂	ND	/	ND	/	ND	/
H ₂ O ₂ 0,5%	ND	/	ND	/	ND	/
H ₂ O ₂ 3%	ND	/	ND	2,63	24	3,95

ND = No demostrable; / = Sin de reducción logarítmica del número de bacterias.

TABLA 3.- PORPHIROMONAS GINGIVALIS						
Título de la suspensión utilizada: $4,02 \times 10^6$ UFC/ml por $1,21 \times 10^5$ UFC/30 μ l						
Test realizado en un tubo conteniendo 50 μ l de suspensión						
Porphiromonas gingivalis	Sin irradiación láser		Irradiación láser por 5 seg		Irradiación láser por 10 seg	
	UFC/30 μ l	Reducción en log	UFC/30 μ l	Reducción en log	UFC/30 μ l	Reducción en log
Sin H ₂ O ₂	ND	/	328	2,57	52	3,37
H ₂ O ₂ 0,5%	ND	/	229	2,72	2	4,78
H ₂ O ₂ 3%	104	3,06	250	2,68	0	6,60

TABLA 4.- MICROMONAS MICRON						
Título de la suspensión utilizada: $7,05 \times 10^7$ UFC/ml por $2,25 \times 10^6$ UFC/30 μ l						
Test realizado en un tubo conteniendo 50 μ l de suspensión						
Micromonas micron	Sin irradiación láser		Irradiación láser por 5 seg		Irradiación láser por 10 seg	
	UFC/30 μ l	Reducción en log	UFC/30 μ l	Reducción en log	UFC/30 μ l	Reducción en log
Sin H ₂ O ₂	ND	/	ND	/	ND	/
H ₂ O ₂ 0,5%	ND	/	ND	/	ND	/
H ₂ O ₂ 3%	ND	/	368	3,79	95	4,37

TABLA 5.- MICROMONAS MICRON						
Título de la suspensión utilizada: $4,4 \times 10^6$ UFC/ml por $1,32 \times 10^5$ UFC/30 μ l						
Test realizado en un tubo conteniendo 50 μ l de suspensión						
Micromonas micron	Sin irradiación láser		Irradiación láser por 5 seg		Irradiación láser por 10 seg	
	UFC/30 μ l	Reducción en log	UFC/30 μ l	Reducción en log	UFC/30 μ l	Reducción en log
Sin H ₂ O ₂	ND	/	ND	/	ND	/
H ₂ O ₂ 0,5%	ND	/	ND	/	750	2,25
H ₂ O ₂ 3%	ND	/	244	2,73	42	3,5

ND = No demostrable; / = Sin de reducción logarítmica del número de bacterias.

RESULTADOS

Haemophilus actinomycetemcomitans

El empleo exclusivo de agua oxigenada al 0,5% dio como resultado una reducción logarítmica de 5,79, mientras que el empleo de agua oxigenada al 3%, la exposición a la irradiación láser por 5 y por 10 segundos y el uso de los dos tratamientos asociados han llevado a una reducción logarítmica igual a 8,19 con un valor de UFC igual a 0.

Bacteroides forsythus

El empleo de agua oxigenada al 0,5% o al 3% y la irradiación láser separadamente, no han sido eficaces. En cambio, la asociación de los dos tratamientos ha potenciado su eficacia; en particular se ha observado una reducción logarítmica igual a 2,63 asociando el uso del agua oxigenada al 3% y la irradiación láser por 5 segundos, mientras se ha obtenido una reducción logarítmica igual a 3,95 con el uso del agua oxigenada e irradiación por 10 segundos con un número de UFC/30 μ l de 500 y 24 respectivamente.

Porphyromonas gingivalis

El agua oxigenada ha sido más eficaz a la concentración del 3% con una reducción logarítmica de 3,06 y de UFC/ 30 μ l igual a 104; la irradiación láser ha dado resultados mejores al ser utilizada por 10 segundos, mientras que los dos tratamientos asociados han demostrado una buena eficacia con una reducción logarítmica igual a 6,60 y un número de UFC/ 30 μ l igual a 0.

Micromonas micron

El agua oxigenada, ya sea al 0,5% o al 3%, y el uso exclusivo del láser en forma separada no han sido eficaces.

Por otro lado, la asociación de los dos tratamientos ha potenciado su eficacia solo en el caso del empleo de H₂O₂ al 3%; en particular el uso de H₂O₂ al 3% mas 5 segundos de láser ha llevado a una reducción

logarítmica igual a 3,79 y un número de UFC/ 30 μ l de 368, mientras que la asociación con irradiación por 10 segundos ha evidenciado una reducción logarítmica igual a 4,37 con un valor de UFC/ 30 μ l de 95.

Fusobacterium nucleatum

Tanto el agua oxigenada al 0,5% que al 3% como el láser por 5 segundos separadamente no han sido eficaces. El empleo exclusivo de la irradiación láser por 10 segundos ha llevado a una reducción logarítmica de 2,25.

En cambio, la asociación de los dos tratamientos ha potenciado su eficacia; el empleo del agua oxigenada en concentración del 3% asociada a la irradiación láser por 5 segundos ha obtenido una reducción logarítmica igual a 2,73 con un UFC/ 30 μ l de 244, mientras que los resultados mejores han sido obtenidos utilizando la asociación del agua oxigenada en concentración del 3% con la irradiación láser por 10 segundos con una reducción logarítmica de 3,5 y un UFC/ 30 μ l de 42.

Los resultados principales están resumidos en la tabla 6.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El presente estudio ha comparado la actividad bactericida del agua oxigenada en concentración del 0,5% y del 3%, de la irradiación láser y de los dos tratamientos asociados respecto a cinco bacterias periodontopatógenas (*Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Micromonas micron*, *Fusobacterium nucleatum*).

En todos los cultivos bacterianos en examen, el empleo del agua oxigenada en concentración del 3% asociada a la exposición de la irradiación láser por 10 segundos ha llevado a la ausencia o a una marcada disminución del número de colonias bacterianas, mientras que la disminución ha sido menos evidente, o ausente, en el caso de los tratamientos utilizados separadamente.

TABLA 6

Bacterias testeadas	Sin tratamiento	H ₂ O ₂ al 3%	Irradiación láser por 10 segundos	H ₂ O ₂ al 3% mas irradiación láser por 10 segundos
<i>Haemophilus actinomycetemcomitans</i>	++++	—	—	—
<i>Bacteroides forsythus</i>	+++	++++	+++	+
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+++	++	++	—
<i>Micromonas micros</i>	++++	++++	++++	++
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	+++	+++	++++	++

— Ausencia de bacterias
+ 1×10² UFC/ml,
++ 10¹×10⁴ UFC/ml
+++ 10.001101×10⁶ UFC/ml
++++ 1.000.001 ×10⁸ UFC/ml

Únicamente en el caso del *Haemophilus actinomycetemcomitans* el empleo exclusivo del agua oxigenada o de la irradiación láser han llevado a una disminución de la actividad bacteriana comparable a la de los dos tratamientos asociados.

En el caso del *Bacteroides forsythus* el empleo exclusivo de la irradiación láser no ha llevado a una disminución de las colonias bacterianas mientras que en los test con empleo exclusivo del agua oxigenada se ha evidenciado un aumento del número de colonias bacterianas.

Por otra parte, en las suspensiones de *Fusobacterium nucleatum* tratadas exclusivamente con irradiación láser se ha evidenciado un aumento de las colonias bacterianas.

Los resultados confirman la mayor eficacia bactericida de la acción combinada del agua oxigenada y el láser.

AGRADECIMIENTOS

Un particular agradecimiento al Dr. Marcos José Maggiani por su importante contribución científica y de redacción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ando Y, Aoki A, Watanabe H, Ishikawa I. Bactericidal effect of erbium YAG láser on periodontopathic bacteria. *Lásers Surg Med* 1996;19(2):190-200.
2. Caccianiga GL, Cavenaghi G, Baldoni M. Applicazioni del láser Nd:YAP nella pratica clinica odontoiatrica. *Atti del III Convegno di Odontoiatria 28-29 gennaio 2000, Nembro (Bergamo), Centro Daina.*
3. Cobb CM, McCawley TK, Killooy WJ. A preliminary study on the effects of the Nd:YAG láser on root surfaces and subgingival microflora in vivo. *J Periodontol* 1992;63:701-7.
4. Gold SI. Application of the Nd:YAG láser in periodontics. *NY J Dent* 1991;170:343-6.
5. Liu CM, Hou LT, Wong MY, Lan WH. Comparison of Nd:YAG láser versus Scaling and Root Planing in periodontal therapy. *J Periodontol* 1999;70:1276-82.

6. Midda M, Renton-Harper P. Láser in dentistry. *Br Dent J* 1991;170:343-6.
7. Myers TD. Láser in dentistry: Their application in clinical practice. *J Am Dent Assoc* 1991;122:46-50.
8. Radvar M, MacFarlane TW, MacKenzie D, Whitters CJ, Payne AP, Kinane DF. An evaluation of the Nd:YAG láser in periodontal pocket therapy. *Br Dent J* 1996;180: 57-62.
9. Tseng P, Gilkeson CF, Pearlman B, Liew V. The effect of Nd:YAG láser treatment on subgingival calculus in vitro. *J Dent Res* 1991;70 (Spec. Issue):657(Abstr.62).
10. Tseng P, Gilkeson CF, Palmer J, Liew V. The bactericidal effect of a Nd:YAG láser in vitro. *J Dent Res* 1991;70(Spec. Issue):650(Abstr.7).
11. White JM, Goodis HE, Cohen JN. Bacterial reduction of contaminated dentin by Nd:YAG láser. *J Dent Res* 1991;70(Spec. Issue):412 (Abstr. 1170).

CORRESPONDENCIA

Dott. Gianluigi Caccianiga
Via Simoncini 20
24100 – Bergamo (BG)
Italy
E-mail: gianluigi.caccianiga@unimib.it