



Facultad de Odontología
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

La Validez de la Láserfluorescencia y la Dureza de la dentina como pruebas para el diagnóstico del límite cavitario: un estudio exvivo con marcadores de ADN

**TRABAJO DE INVESTIGACION FIN
DE GRADO DE ODONTOLOGIA**



Autora: Blanca del Rocío Ramírez Ruiz
Directores: Camilo M. Ábalos Labruzzo
Juan Martín Hernández
Fecha: 23-05-2018



Facultad de Odontología
UNIVERSIDAD DE SEVILLA



Departamento de Estomatología
Facultad de Odontología



Medalla y Encomienda
Orden Civil de Sanidad

D. Camilo Manuel Ábalos Labruzzo, Licenciado en Medicina y Cirugía, Doctor en Odontología por la Universidad de Sevilla y Profesor Contratado Doctor del Departamento de Estomatología,

D. Juan Martín Hernández, Licenciado en Medicina y Cirugía, Doctor en Odontología por la Universidad de Sevilla y Profesor Asociado del Departamento de Estomatología,

Como directores de esta investigación **HACEN CONSTAR:**

Que el trabajo titulado *“La Validez de la Láserfluorescencia y la Dureza de la dentina como pruebas para el diagnóstico del límite cavitario: un estudio exvivo con marcadores de ADN”*, ha sido desarrollado por **Dña. Blanca del Rocío Ramírez Ruiz**, como Trabajo Fin de Grado, durante el quinto año de Grado en Odontología de la Universidad de Sevilla; bajo nuestra dirección, supervisión y cumpliendo con los requisitos para ser presentado para su lectura, defensa y ser juzgado por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, firman el presente documento en Sevilla a 23 de Mayo de 2018.

Fdo. Camilo Manuel Ábalos Labruzzo

Fdo. Juan Martín Hernández

AGRADECIMIENTOS

A pesar de que es muy difícil manifestar con palabras lo agradecida que estoy con quienes han participado en este trabajo, me gustaría expresarlo de la mejor manera posible

En primer lugar, agradecer a D. Camilo Ábalos Labruzzi, tutor y director de este trabajo, su apoyo incondicional, tiempo, esfuerzo, generosidad, disponibilidad y paciencia, así como su dedicación para transmitirme sus conocimientos, no sólo durante la investigación, sino durante todos estos años atrás como alumna.

A Dña. Amparo Jiménez Planas, por todo su tiempo, esfuerzo y conocimiento empleado en la fase experimental de dicho trabajo y por haberme dado la oportunidad de haber sido su alumna interna.

A D. Juan Martín Hernández, por su cometido como co-tutor del presente trabajo, así como por su disposición y trato recibido durante estos años.

A Marco Rodríguez Vázquez por enseñarme el manejo de la aparatología de Láserfluorescencia, así como por su tiempo y dedicación a la parte de Epifluorescencia de este estudio.

En último lugar, y no por ello menos importante, me gustaría agradecer a mis padres, hermanas, abuelos y a Paco toda su ayuda, paciencia y apoyo incondicional, porque no sólo los aspectos científicos, también los emocionales, contribuyen a llevar a buen fin este tipo de proyectos.

Gracias de todo corazón.

“No puedes cambiar el viento, pero puedes ajustar las velas para alcanzar tu destino”

Paulo Coelho

ÍNDICE

1. RESUMEN/ABSTRACT.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
2.1. CARIES DENTAL.....	3
2.1.1. CONCEPTO	3
2.1.2. ETIOPATOGENIA DE LA LESIÓN CARIOSA	3
2.1.3. MICROBIOLOGÍA.....	4
2.2. CARIES DENTINARIA.....	4
2.2.1. HISTOPATOLOGÍA.....	5
2.2.2. EL LÍMITE CAVITARIO.....	5
2.3. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EMPLEADOS EN LA DETECCIÓN DEL LÍMITE CAVITARIO.....	6
2.3.1. INSPECCIÓN TÁCTIL CON SONDA DE CARIES.....	6
2.3.2. DETECTOR DE CARIES.....	7
2.3.3. LÁSERFLUORESCENCIA.....	7
2.4. APARATOS DE LÁSERFLUORESCENCIA.....	8
2.4.1. VISTAPROOF.....	9
2.4.2. SIROINSPECT.....	10
3. OBJETIVOS.....	11
3.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
3.2. OBJETIVOS.....	11
3.3. HIPÓTESIS NULA.....	12
4. MATERIAL Y MÉTODO.....	13
4.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	13
4.2. HISTOLOGÍA	14
4.3. MEDICIÓN DE LA MICRODUREZA	15
4.4. MEDICIÓN DE LA DUREZA CLÍNICA	17
4.5. MEDICIÓN DE LA LÁSERFLUORESCENCIA.....	18
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO,.....	18
5. RESULTADOS.....	19
6. DISCUSION.....	23
7. CONCLUSIONES.....	28
8. BIBLIOGRAFIA	29

1. RESUMEN

La dureza de la dentina es una prueba clínica aceptada universalmente para determinar el límite entre dentina cariada y sana, durante la preparación cavitaria. Sin embargo, este método depende del operador, del tipo de sonda y de la técnica. En contraposición la Láserfluorescencia es un método reproducible y objetivo.

Objetivos: los objetivos de este estudio son determinar los valores de microdureza dentinaria del límite cavitario real (LC), si existen; y posteriormente, determinar la capacidad clínica de los operadores para detectarla. También determinar la Validez y Seguridad de la Láserfluorescencia.

Material y método: 60 áreas de caries con todos los estratos de la caries dentinaria eran teñidos con marcadores de ADN y analizados mediante Microscopio de Epifluorescencia Olympus BX61, para localizar las capas de la dentina cariada. Posteriormente, se determinó la dureza de estas capas con el Microdurometro Struers Duramin. Se fabricaron muestras de composite con los intervalos de estos valores y 57 dentistas valoraron su capacidad de percepción de la dureza. Las áreas cariadas en superficie también se estudiaron mediante la Dureza Clínica y dos aparatos de Láserfluorescencia a 405 nm.

Resultados: Los valores medios y desviación Standard (SD) de microdureza, en Vickers (HV) para las distintas capas fueron los siguientes: 1) hipermineralizada=73,9 (SD-6,49); 2) Zona desmineralizada profunda = 54,3 HV (SD-7,16); 3) Zona desmineralizada superficial = 40,5 HV (SD-6,45); 4) Zona necrótica 16,9 HV (SD 8,1), existiendo diferencias significativas ($p \leq 0.05$). La agudeza perceptiva de la dureza clínica fue de 40HV. Los tres métodos fueron más específicos que sensibles, siendo su valor predictivo negativo superior al positivo.

Conclusiones: Las capas de la caries dentinaria presentan una dureza diferente que no puede ser detectada con seguridad por el clínico. Ninguno de los tres métodos, por sí solo, se mostró eficaz para determinar con seguridad el LC histológico, siendo recomendable el uso conjunto de estas pruebas diagnósticas.

1. ABSTRACT

Dentine hardness is the universally accepted clinical proof to determine the limit between carious and healthy dentine during cavitary preparation. However, this method depends on the operator, type of probe and technique. Conversely, Laserfluorescence is a reproducible and objective method.

Objectives: the objectives of this study are to determine the real cavitary limit (CL) dentine microhardness values, if they exist; and then, to determine the operators' clinical capacity to detect it. Also, to determine the Validity and Security of Lasefluorescence.

Materials and methods: 60 caries areas with all the strata of dentinary caries were dyed with DNA markers and analyzed with the Olympus BX61 Epifluorescence Microscope in order to locate the carious dentine layers. after that, the hardness of these layers was determined with the Struers Duramin Micordurometer. Composite samples were manufactured with the intervals of these values and were submitted to 57 dentists to calculate the perception capacity of the hardness. The surface carious areas were also studied at 405nm via Clinical Hardness and two Laserfluorescence apparatuses.

Results: microhardness median values and standard deviation (SD) in Vickers (HV) for the different layers were the following: 1) hypermineralized = 73,9 (SD - 6,49); 2) Deep demineralized zone = 54,3 HV (SD - 7,16); 3) superficial demineralized zone = 40,5 HV (SD - 6,45); 4) Necrotic zone 16,9 HV (SD 8,1), existing statistically significative differences ($p \leq 0.05$). The perceptual acuity of the clinical durity was 40HV. The three methods were more specific than sensitive, being their negative predictive value superior to their positive.

Conclussions: Dentinary caries layers present diferent hardness that cannot be detected with certainty by the clinician. None of the three methods, on its own, proved to be effective to determine with certainty the histologic cavitary limit, being advisable their compounded use.

* * *

2. INTRODUCCIÓN

2. 1. Caries dental

William Shakespeare en su conocida obra teatral del S-XVI donde habla de las etapas de la vida, escribió: “*comenzando sin dientes y terminando sin ellos*” lo que nos da una idea de cómo la caries dental se ha considerado durante mucho tiempo como una enfermedad incurable.

Actualmente, dependiendo de la fase en que es diagnosticada, se puede curar incluso sin intervención operatoria. En contraposición, los criterios clásicos enunciados por Dr. VG. Black indicaban como norma la extensión preventiva como si de un proceso maligno se tratara. Por tanto, los criterios y el concepto de la Caries Dental han cambiado radicalmente a lo largo del tiempo.

2.1.1. Concepto

La caries ha sido definida a finales del siglo XIX por Willoughy D. Miller (1) como una enfermedad multifactorial que condiciona la desmineralización de los tejidos duros del diente. Sin embargo, debemos considerar al esmalte como una estructura activa en la boca y con un proceso constante de desmineralización y remineralización condicionado por la población microbiológica productora de ácidos orgánicos y que conforman el biofilm dental. En la comprensión actual de esta enfermedad crónica es importante contemplar la hipótesis de placa ecológica (2), donde la causa es una alteración de biofilm de origen ecológico, demostrándose que el tejido mineral del diente, si se encuentra en un ambiente en el que no hay ataque ácido y existiendo una sobresaturación de calcio en la saliva, las lesiones cariosas pueden cicatrizar. (3)

2. 1.2. Etiopatogenia de la lesión cariosa

A lo largo de la historia han sido múltiples las teorías propuestas sobre la etiología de la caries dental. Desde la teoría vermicular del gusano de la caries en el año 5000 a.C, pasando por la teoría tetrafactorial propuesta por Newbrun en 1978, hasta la teoría actual de la etiología de la caries dental basada en la existencia de factores cariogénicos primarios, entre los que cabe destacar a los microorganismos que conforman la placa dental, siendo las principales bacterias: *Streptococos mutans*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, y *Actinomyces* (4).

2.1.3. Microbiología

Los microorganismos que constituyen la placa dental establecen una serie de relaciones entre sí que condicionan el ambiente del biofilm, sobreviviendo y proliferando solo aquellos que se adaptan a dicho ambiente, siendo éstos los más virulentos (5, 6).

En **lesiones avanzadas** de caries se ha demostrado la presencia de **Bifidobacterium**; Lactobacillus (contaje muy bajo) Streptococcus: *S. mutans*, y en menor proporción *S. salivarius*, *S. constellatus* y *S. parasanguinis*; Actinomyces *naeslundii*; Prevotella: *P. buccae*, *P. intermedia* y *P. denticola* (4).

A pesar de la fuerte asociación de *S. mutans* a las lesiones de caries avanzadas, y en menor proporción, a las lesiones de caries iniciales, se ha demostrado que la lesión de caries puede darse en ausencia de dicha bacteria, así como en presencia de altas cantidades de la misma puede no desarrollarse dicha lesión. Por tanto, *S. mutans* no es fundamental ni patognomónico para el inicio ni progresión de la lesión de caries. (4)

Los Actinomyces son anaerobios facultativos grampositivos, acidógenos, con la capacidad de sintetizar polisacáridos extracelulares que poseen fimbrias que les proporciona capacidad de adhesión, agregación y congregación, así como producen enzimas proteolíticas, destacando la neuraminidasa, trascendente en caries avanzadas.

Bifidobacterium son anaerobios grampositivos y son el género de mayor prevalencia presente en lesiones avanzadas de caries (7). Los lactobacilos son anaerobios facultativos grampositivos, acidógenos, acidofilos, acidúricos. Son oportunistas secundarios y se adhieren a la superficie dental de forma física y mediante coagregación con otras especies bacterianas. Las especies de Lactobacillus aisladas con mayor prevalencia en lesiones de caries dentinaria *L. gasseri* y *L. ultunensis*. (8).

Los microorganismos Prevotella son anaerobios estrictos gramnegativos no esporulados, Recientemente ha sido demostrada la participación de esta especie en lesiones avanzadas de caries dental (4).

2.2. Caries dentinaria

El desarrollo de la caries en la dentina es diferente que en el esmalte, pues son tejidos estructuralmente distintos. En la dentina, a diferencia del esmalte donde los gérmenes acceden una vez el tejido es disuelto, los gérmenes penetran y desintegran el tejido. (1)

2.2.1. Histopatología

La lesión de caries dentinaria activa se divide, desde el exterior al interior, en cuatro zonas:

Zona necrótica: clínicamente blanda, completamente invadida por microorganismos, causantes de la ausencia de estructura tubular en la misma y presencia de material granuloso correspondiente a restos necróticos tisulares y bacterias.

Zona de desmineralización superficial: también están presentes microorganismo y, aunque suele mantener íntegra la matriz orgánica, la estructura tubular está deformada. En esta zona están presentes los focos de licuefacción, agrupaciones de túbulos dentinarios repletos de bacterias.

Zona de desmineralización profunda: carece de microorganismos y de componentes inorgánicos, siendo ésta última su única desigualdad con la dentina sana.

Zona hipermineralizada: es la más profunda de todas. En ésta, la luz de los túbulos dentinarios están completa o parcialmente obliterados por cristales de hidroxapatita y whitlockita (1).

La zona necrótica y la zona de desmineralización superficial forman la dentina no recuperable, caracterizada por su alto contenido de microorganismos; y la zona de desmineralización profunda junto a la zona hipermineralizada constituye la dentina afectada y de dentina recuperable.

2.2.2. El límite cavitario

La exploración de la lesión de caries con la sonda exploradora, permite al odontólogo obtener información táctil sobre la dureza de la dentina y, su grado de afectación cariosa, pudiendo establecerse cuatro estados diferentes de la dentina (9,10).

-Dentina blanda: se deforma cuando se presiona con un instrumento duro sobre ella y puede ser excavada fácilmente. Histopatológicamente es dentina necrótica contaminada con biofilm.

-Dentina correosa: se denomina así por recordar al tacto del cuero cuando se la explora con la sonda; no se deforma a la presión, pero puede ser excavada fácilmente sin precisar mucha fuerza. Desde el punto de vista histopatológico es dentina desmineralizada.

-Dentina firme: no se deforma a la presión, es físicamente resistente a la excavación manual, y para levantarla se precisa realizar una gran fuerza y presión con un instrumento. Se corresponde con la dentina esclerótica.

-Dentina dura: solo puede ser eliminada usando fresas o instrumentos de corte bien afilados. Al arrastrar la punta de la sonda exploradora sobre la dentina dura se oye un sonido estridente, denominado “chirrido o grito dentinario”. Es la dentina sana normal.

Eliminar la dentina infectada es uno de los objetivos en la realización de una cavidad de un diente cariado. En la práctica clínica, en la preparación de la cavidad en la unión esmalte-dentina, se acepta la eliminación de todo el tejido blando; sin embargo, cuando se trata de una cavidad en la superficie de la pulpa se elimina tan solo el tejido blando y se deja tejido correoso, ya sea teñido o no, para evitar la exposición pulpar.

Algunos autores (11) se centra en el nivel de infección que muestra el tejido teñido duro y no teñido duro y se demuestra que, tanto la dentina teñida dura como la dentina no teñida dura, están mínimamente infectadas por lo que en la preparación de cavidades a nivel de la unión esmalte-dentina, al igual que en las superficies pulpares, se puede/debe eliminar tan solo dentina blanda, siendo el límite cavitario la dentina dura ya sea teñida o no, de manera que conservamos mayor cantidad de tejido dentinario (conservador).

2.3. Métodos diagnósticos empleados en la detección del límite cavitario

Los métodos diagnósticos clínicos convencionales empleados para la detección del límite cavitario son; la inspección táctil (sonda de caries) y el detector de caries, los cuales han sido descritos ampliamente en la literatura y siguen siendo utilizados actualmente. Hoy día, existen otros métodos al alcance del clínico; uno de ellos la Láser-fluorescencia, aunque su uso es menos común.

2.3.1. Inspección táctil con sonda de caries

Es difícil relacionar los signos clínicos con el estado histopatológico de las lesiones de caries de dentina, siendo el método clínico más aceptado para determinar el límite cavitario la medición de la dureza clínica de la dentina, debido a que la caries provoca la desmineralización de la dentina con la consecuente pérdida de dureza (9), según lo expuesto anteriormente.

Este método utilizado en la detección del límite cavitario es subjetivo, pues depende del operador, del tipo de sonda utilizada y no nos permite realizar una exploración de toda la superficie de la cavidad, consecuentemente, constituye un método con escasa reproductibilidad intraoperador e interoperador.

2.3.2. Detector de caries

Fusayama (12) informó de que una técnica de tinción usando una solución de colorante era útil para ayudar en la diferenciación de las dos capas de caries infectadas/afectada. La solución de tinte original, Caries Detector (Kuraray Noritake Dental) se compone de rojo ácido 1 % en propileno glicol. La dentina infectada por caries se tiñe de color rojo, la afectada de color rosa claro y la dentina sana no se mancha. Sin embargo, tomar una decisión sobre los límites de la dentina afectada por caries por el color de teñido es muy subjetivo. Además, el detector de caries no es capaz de detectar la proteína específica de la matriz orgánica dañada para establecer correctamente este límite.

Las fibras de colágeno forman la estructura de la dentina. Con el ataque ácido se produce una desmineralización de la hidroxiapatita, en este momento la dentina es recuperable. Sin embargo, cuando la fibra se rompe y el colágeno queda expuesto ya es irreversible. El detector de caries se fija a las proteínas de las fibras de colágeno y detecta esta irreversibilidad. Sin embargo, el detector no es específico de esta unión, como ya hemos comentado, y puede dar falsos positivos. Por este motivo, no es considerado como una prueba específica, aunque tiene su utilidad (12).

2.3.3. Láserfluorescencia

Las bacterias implicadas en la caries dental generan productos metabólicos que presentan color y propiedades fluorescentes. Estos pigmentos pueden ser detectados por la fluorescencia inducida por láser. Se ha demostrado que la laser-fluorescencia es capaz de detectar los fluoróforos rojo-anaranjados (porfirinas del metabolismo bacteriano) en pequeñas concentraciones. Consecuentemente la laser fluorescencia es capaz de diferenciar entre tejido sano y enfermo. (11).

La LF se basa en la excitación del tejido dental con una luz roja visible a distintas longitudes de onda entre 680 y 405 nm ($\lambda = 405$ y 450 nm) producida por un láser semiconductor. Al incidir la luz sobre la superficie del diente penetra unos milímetros en el tejido y genera una reflexión de la luz hacia la punta del dispositivo que medirá la

fluorescencia por un sistema electrónico diferenciado. En presencia de fluoróforos bacterianos (protoporfirina IX), la respuesta de los tejidos afectados es mayor, y el sistema LF detecta radiación fluorescente. Este es el principio operativo de los sistemas de laser-fluorescencia cualitativos (λ 405-450nm). Estos sistemas generan una imagen con diferentes colores, que están asociados a tejido sano (verde) o tejido enfermo (naranja-rojo).

Debemos tener en cuenta ciertas limitaciones de la LF: los dientes blancos presentan menor fluorescencia que los oscuros; los restos de placa o de contenido orgánico, las manchas, el grado de deshidratación en el diente, obturaciones de composite o restos de pasta de pulido pueden aumentar las lecturas de LF, por ser fuentes de fluorescencia y por tanto causar falsos positivos (13,14). También el modo de colocar y rotar la punta de la sonda sobre la superficie oclusal y el calibrado tiene que ser cuidadoso, pues afecta a las mediciones (15,16). Además, en los estudios in vitro variables como el modo de conservación de los dientes o las alteraciones en el contenido orgánico tras la extracción de los dientes son factores importantes en la alteración de la fluorescencia del tejido dental por lo que presentan resultados no extrapolables a las condiciones in vivo. Consecuentemente es necesario calibrar el sistema de LF antes de la medición.

En el tratamiento de la caries existe controversia sobre la utilidad de la LF como método diagnóstico para la detección del límite Cavitario real, zona entre la dentina superficial desmineralizada (enferma) y dentina desmineralizada profunda (sana). Por otra parte, sabemos que la proximidad del tejido pulpar puede dar a lugar a fluorescencia no cariogena (17,18) y de esta forma conducir al error en las medidas de la LF cuando la técnica es usada para establecer el límite cavitario real de la preparación.

2.4. Aparatos de láserfluorescencia

Como aparatología de LF cualitativa disponemos de la cámara Soprolife, el Vistaproof, y el Siroinspect, como aparatología cuantitativa disponemos del sistema KavoDiagnodent. En nuestro estudio vamos a investigar el Vistaproof y el Siroinspect.

2.4.1. Vistaproof

VistaProof es un programa de gestión de imágenes en el que se analizan las imágenes obtenidas a través de una cámara intra-oral que emite y recibe haces de luz de diferentes longitudes de onda (Dürr Dental GmbH & Co. KG, Höpfigheimer Strasse 17, 74321, Bietigheim-Bissingen, Germany). Este haz de luz, corresponde con un haz de luz de una longitud de onda de 405 nm producida por seis LEDs que estimula a las porfirinas, metabolitos específicos de las bacterias cariogénicas, que, a su vez, emiten luz roja, la cual contiene menos energía. En el caso del esmalte sano, la luz que emite se correspondería con el color verde. Estas señales luminosas son recogidas a través de un sensor CCD de 1/4" y analizadas por el software.

En la pantalla, la imagen fluorescente de las porfirinas aparece en un color rojo brillante que se puede detectar fácilmente. Cuanto más densa es la colonia de bacteria cariogénica más intenso será el tono de color rojo. La ventaja con respecto a la inspección visual y táctil es que con esta técnica podemos ver diferentes estadios de la caries. El software diferencia hasta los distintos estadios de la caries dándole un valor numérico que va desde 0 a 5. En la siguiente figura 1 se puede observar las diferentes tonalidades que se obtienen de la lesión cariosa.

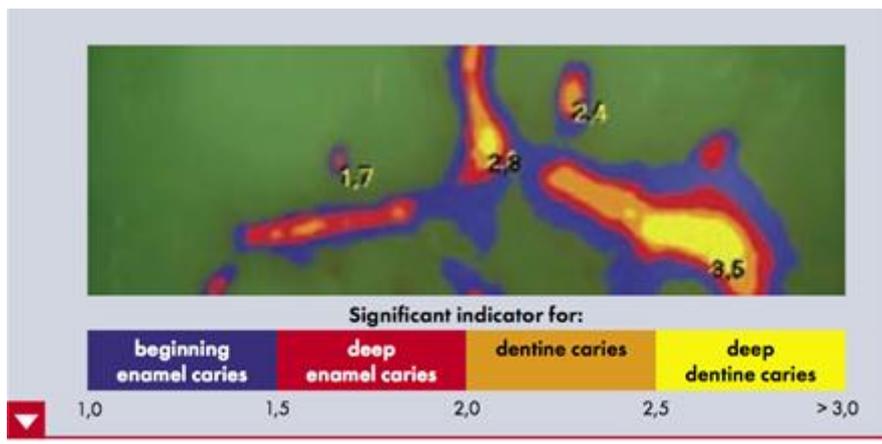


Figura 1. Caries detectada por láserfluorescencia cualitativa (VistaProof)

Las estructuras dentarias exhiben poca o ninguna fluorescencia, que da como resultado una medición baja del aparato. Sin embargo, la estructura cariada del diente emite fluorescencia que por consiguiente marcará una cifra elevada en la pantalla.

2.4.2. Siroinspect

El sistema de LF SIROINSPECT (Sirona Dental Systems Fabrikstrasse 31. 64625 Bensheim. Alemania), emite y recibe haces de luz de diferentes longitudes de onda. Éste haz de luz, corresponde con un haz de luz de una longitud de onda de 405 nm producida por LEDs y que estimula a las porfirinas, metabolitos específicos de las bacterias cariogénicas, que a su vez, emiten luz roja, la cual contiene menos energía. En el caso de tejido sano, la luz que emite se correspondería con el color verde. Estas señales luminosas son recogidas directamente por el observador mediante unas gafas diseñadas para ver las diferencias cromáticas.

* * *

3. OBJETIVOS

3.1. Planteamiento del problema

La *dureza* de la dentina está relacionada con su grado de mineralización, sin tener relación directa con el número de bacterias, si bien los ácidos del metabolismo bacteriano producen desmineralización. Es aceptado universalmente que durante la eliminación del tejido cariado la dureza de la dentina es el signo clínico para determinar el estado de dentina recuperable/no recuperable (Límite Cavitario). Sin embargo, existen varios inconvenientes, relacionados con *el operador, el instrumento y la forma de explorar*, que se deben tener en cuenta:

- La percepción subjetiva entre los diferentes grados de dureza de la dentina puede variar entre clínicos.

- Una sonda afilada puede dar una percepción diferente, al explorar la dureza, que una sonda roma. No existiendo homogenización del instrumento para la exploración.

- Cuando se explora con la sonda de caries una cavidad se hace en una zona pequeña respecto a la totalidad de la superficie, no es un scanner, por lo que quedan zonas sin explorar.

Por otra parte, la **Láserfluorescencia** (LF) puede diagnosticar la presencia de bacterias en el tejido dentinario (porfirinas) y aunque ha sido estudiada la LF cuantitativa en la eliminación del tejido cariado, existen lagunas importantes para la LF-cualitativa.

3.2 Objetivos:

Por ello, el objetivo de este estudio es:

1º: Medir objetivamente la *microdureza de las cuatro capas de la caries dentinaria* de los dientes de la muestra y conocer si estas diferentes durezas se pueden determinar clínicamente. Para ello, determinaremos la *validez de la prueba y la agudeza perceptiva de la dureza*.

2º: Establecer la *validez dos LF-Cualitativas* (LF 1 y LF 2) para el diagnóstico del Límite Cavitario y su *comparación* con el Rendimiento diagnóstico de la *dureza clínica* (objetivo 1º).

3.3 Hipótesis Nulas:

1.- “La microdureza es igual en las cuatro capas histopatológicas de la caries dentinaria”.

2.- “La dureza medida clínicamente es igual en las cuatro capas histopatológicas de la caries dentinaria, siendo la agudeza perceptiva igual para cualquier intervalo de dureza.”

3.- “La LF1, LF2 y Dureza tienen la misma validez en la determinación del Límite Cavitario.

* * *

4. MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio, dentro de la Línea de investigación diagnóstico de caries, cuenta con la aprobación del Comité Ético de la Universidad de Sevilla. Se utilizaron para la selección de la muestra de 32 dientes ex-vivo, premolares y molares de diferentes pacientes, que presentaban en al menos una localización caries dentinaria sin invasión pulpar. Los dientes fueron conservados a 4°C en suero fisiológico para evitar la desecación de la dentina y estudiados antes de 7 días para evitar la pérdida de fluorescencia del tejido dental

4.1 Preparación de las muestras:

Se fue eliminando el tejido cariado con incrementos secuenciales de 1 mm hasta alcanzar distintos niveles y áreas de exploración (Fig. 2). El tejido cariado se eliminó con los medios habituales, cucharilla de caries y fresas de carburo de tungsteno. Se prepararon dos áreas por cada diente a distintos niveles de profundidad, con el fin de obtener límites cavitarios en las distintas capas de la dentina cariada, excepto para la capa necrótica. Se obtuvieron 62 áreas para el estudio. Entre las áreas de estudio se dejaba espacio suficiente para permitir el corte del diente en cada área individualmente (Fig. 2).

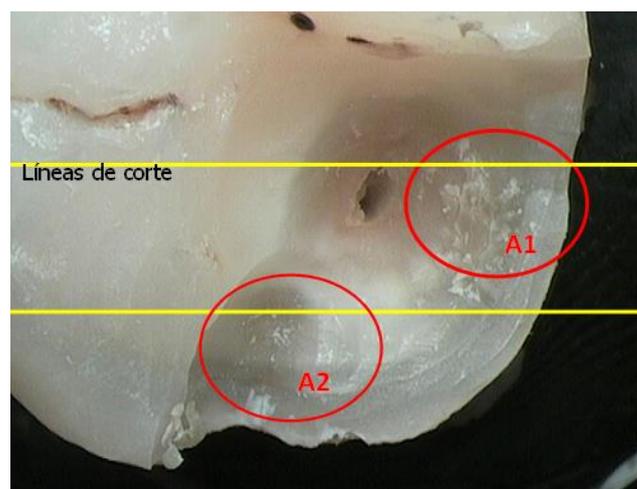


Figura 2. Áreas seleccionadas según dureza y planificación de líneas de corte para la validación histológica.

4.2. Histología:

Cada diente fue introducido en un bloque de resina y cortado por las líneas de corte seleccionadas en espesores de ≥ 3 mm usando la recortadora Struers Accutom-2 (Roper Technologies, Inc. Florida, USA), obteniendo 62 muestras dobles (mesial y distal del corte) de la que se eligió la más representativa del área explorada mediante la prueba de dureza, LF1 y LF2. Hubo que desechar dos muestras que se deterioraron por el corte (n=60). Las muestras se pulían usando discos de papel de silicona de carburo con tamaño de grano de 320, 600, 1200 (Struers Silicon Carbure). Posteriormente, fueron fijadas en alcohol (Alcohol etílico al 70%), enjuagadas repetidamente con solución salina de fosfato tamponada, pH 7,2 (PBS), y teñidas con un marcador de ADN- Ioduro de Propidio 10 mg/ml [1:500], lavadas con PBS, introducidas en solución de Timol 1% y mantenidas en oscuridad. Las muestras marcadas fueron analizadas usando un microscopio de epifluorescencia OLYMPUS BX61, x10 en aire. Con el software del microscopio se obtuvieron las imágenes con distinto grado de fluorescencia. (Fig. 3). Un observador experimentado seleccionó en cada muestra las áreas correspondientes a las cuatro capas de la caries bacteriana, según los siguientes criterios:

-Zona necrótica: área superficial de la caries desestructurada y sin fluorescencia.

-Zona desmineralizada superficial: área con alta intensidad de fluorescencia inmediatamente por debajo de la zona necrótica. Pudiendo presentar corpúsculos y fluorescencia dentro de túbulos con forma irregular.

-Zona desmineralizada profunda: área contigua a la capa anterior con una marcada pérdida de fluorescencia o sin ella. Ausencia de corpúsculos y patrón tubular visible.

-Zona hipermineralizada: zona contigua a la anterior, más profunda, con total ausencia de fluorescencia y de coloración oscura.

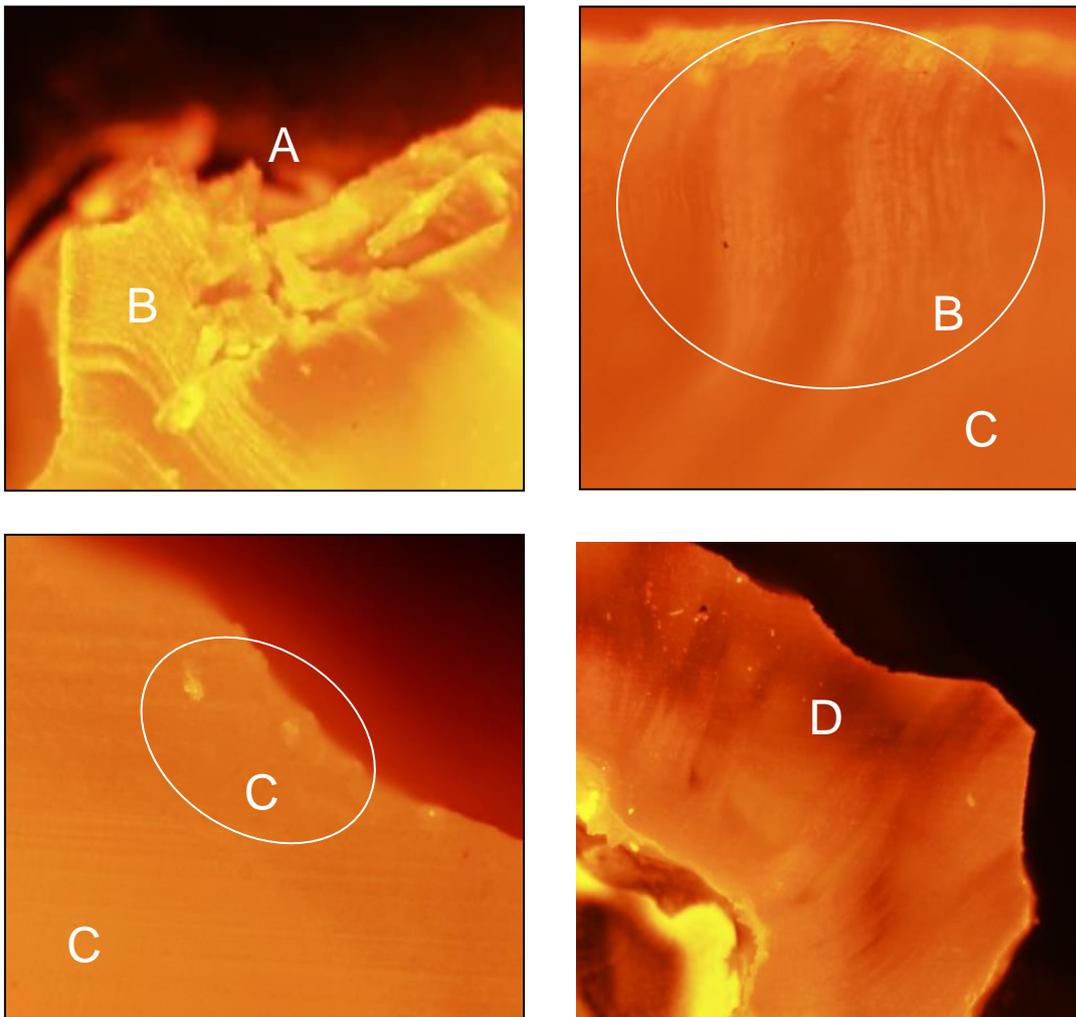


Figura 3. Imágenes de Epifluorescencia de las zonas de la caries dentinaria: Necrótica (A); Desmineralizada superficial con patrón tubular y corpúsculos superficiales (B); Desmineralizada profunda (C) y Hipermineralizada (D).

4.3 Medición de la Microdureza:

Las zonas de la caries dentinaria seleccionadas en las imágenes de Epifluorescencia y visualizadas en la pantalla del PC estaban en escala de 500 μ . Se hicieron marcas paralelas con un rotulador indeleble en las muestras (Fig. 4), para crear la zona de medición con el durómetro. El Microdurómetro mediante la visión con el objetivo x10 y con un desplazamiento por la muestra de 10 en 10 μ , podíamos medir en las zonas prefijadas mediante la Epifluorescencia, siempre que correlacionáramos un mismo punto inicial (Fig. 4).

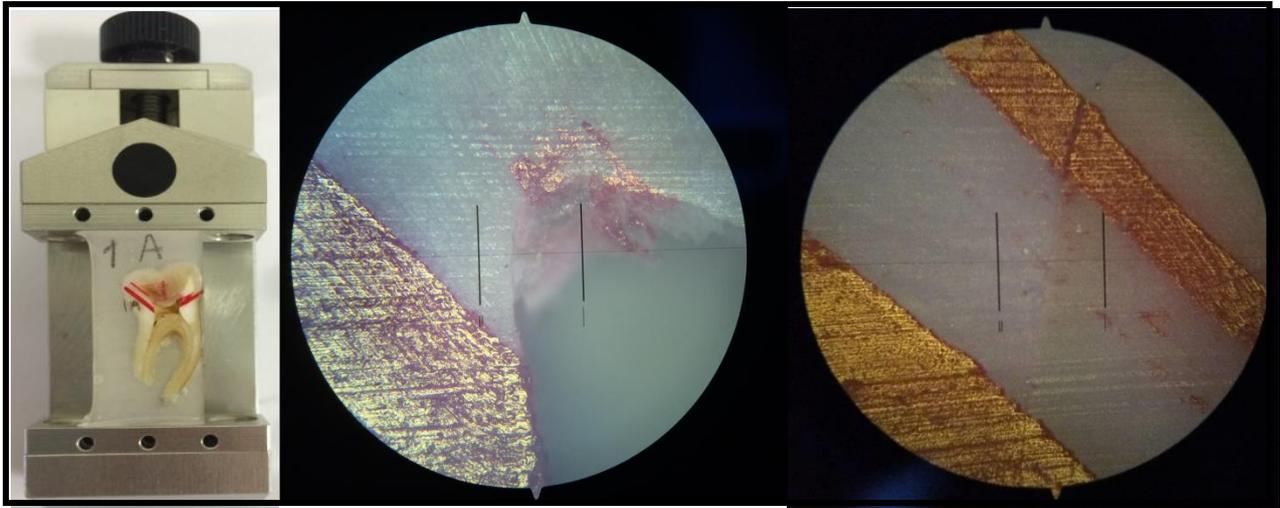


Figura 4: (Izda) Muestras marcadas con rotulador indeleble; (Centro) Zona inicial para correlación de imágenes de Epifluorescencia y Microdurómetro. (Dcha) zona dentinaria de desplazamiento entre marcas del rotulador para medir la dureza Vickers.

Las muestras se sometieron al test de microdureza de Vickers, mediante el durómetro Duramin Struers ((Roper Technologies, Inc. Florida, USA)), cada muestra se indentó con una punta piramidal y con una carga de 490,3 mN durante 15sg (Fig. 5). En cada área de medición se realizaban tres indentaciones para el cálculo de la dureza Vickers. Posteriormente y previa calibración del test de medida, se medían las diagonales vertical y horizontal.

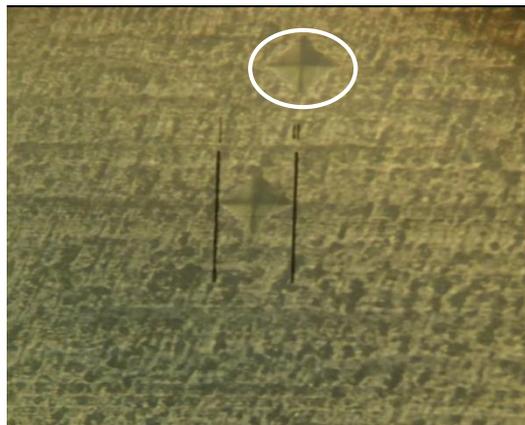


Figura 5. Identaciones piramidales tipo Vickers sobre dentina. Medida de la longitud de la línea horizontal en la indentación inferior.

Las zonas de medición fueron las correspondientes a las áreas del límite cavitario (LC) medidas con la prueba de dureza, LF1 y LF2 (n=60). Independientemente de estas zonas de medición (áreas del LC), con el fin de medir la capa necrótica, se realizaron 20 medidas en esta zona en diferentes dientes del estudio. Las mediciones eran realizadas por el operador (OP1) que previamente fue calibrado con un OP2 experimentado, con 20 áreas de diferentes durezas (entre 10HV y 90 HV) que no formaron parte del estudio. Se admitieron como valores correctos ± 3 HV de discrepancia entre OP1 y OP2. La concordancia según la aplicación del Test de Kappa (Fig. 6) fue del 0,89, acuerdo casi perfecto, según la escala de escala de Ladis y Koch (19).

$$\text{Kappa} = \frac{P - Pe}{1 - Pe}$$

(P) Proporción acuerdo observado; (Pe) Proporción acuerdos esperados por el azar

Figura 6: Fórmula de Análisis de concordancia de Kappa.

4.4 Medición de la Dureza Clínica:

Una vez determinados los valores de microdureza para las distintas capas de la caries dentinaria, se fabricaron muestras de composite con durezas comprendidas entre 25 y 75 HV. La fabricación de las muestras se realizó utilizando composites con distintos grados de carga y diferentes grados de fotopolimerización, la dureza se comprobó a los 7 días. Para cada Tipo de dureza (T1-T6) se seleccionaron muestras con una dureza igual ó ± 2 HV (Tabla 1). Lo que permitió crear muestras con intervalos de dureza de **15HV $\pm 1,8$** (T3-T4/T1-T3); **20HV $\pm 1,3$** (T2-T4/ T4-T6); **25HV $\pm 1,7$** (T3-T5); **30HV $\pm 1,9$** (T1-T4/T2-T5); **40HV $\pm 1,9$** (T1-T5/T2-T6).

Muestras Composite	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Microdureza Vickers (HV)	25 ± 2	35 ± 2	40 ± 2	55 ± 2	65 ± 2	75 ± 2

Tabla 1. Valores de dureza Vickers para las muestras de composite, Tipos T1 a T6.

A 57 dentistas se les pidió que midieran la dureza de las dos muestras de cada intervalo con una sonda doble Hu-Friedy extu 17/23 (Mfo.Co.ILL,USA) por su extremo #23, señalando la dura/blanda, lo cual conformaba una muestra de n=57 para cada uno de los cinco intervalos (15HV a 40HV)

4.5. Medición de la Láserfluorescencia

La fluorescencia se midió mediante el Sistema Siroinspect (Sirona Dental Systems, 64625 Bensheim. Alemania) a $\lambda= 405$ nm (LF1) (Fig. 3) y con el Sistema Vistaproof (Dür Dental SE, 74321, Bietigheim-Bissingen, Alemania) a $\lambda= 405$ nm. La valoración de las imágenes se realizó por dos operadores, que no habían intervenido en la preparación de las muestras, y que las analizaron independientemente en la pantalla de un PC (Toshiba, mod. Satellite Pro) y en una habitación con el mismo grado de iluminación.

4.6. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos fueron introducidos en el programa SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Se calcularon las medias y la desviación estándar de los valores de las microdurezas obtenidas para cada zona de caries dentinaria y para conocer si existían diferencias significativas entre las medias, que presentaban una distribución normal, se aplicó el test paramétrico de ANOVA corrección Bonferroni. Se estableció la significación en $\alpha \leq 0,05$.

Para conocer la seguridad y validez de la dureza clínica, LF1 y LF2, como medio diagnóstico del Límite Cavitario, se calculó la Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo positivo y Valor predictivo negativo, considerando la prueba segura cuando la suma de la Sensibilidad más la Especificidad fue $\geq 1,60$.

Para conocer la capacidad de discriminación clínica de la dureza se calculó el porcentaje de aciertos/errores para cada intervalo desde el 15HV al 40HV.

* * *

5. RESULTADOS

La validación de las muestras mediante el microscopio de Epifluorescencia dio como resultado 27 muestras para la capa de dentina hipermineralizada, 17 muestras para la capa de dentina profunda desmineralizada y 16 muestras para la capa de dentina superficial desmineralizada.

En el análisis de la microdureza para las distintas capas de caries de dentina se obtuvieron medias con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), tanto para las capas que diferencian el Límite Cavitario Histológico, como para cada una de las capas con el resto (Tabla 2).

Zona Caries	No recuperable (NR) Recuperable(R)	Media	SD*	ANOVA** ($p < 0,05$) con:
1. Necrótica (n=20)	NR	16,9	7,1	2, 3 y 4
2. Desmineralizada Superficial (n=16)	NR	40,5	6,57	1, 3 y 4
3. Desmineralizada Profunda (n=17)	R	54,3	6,62	1, 2 y 4
4. Hipermineralizada (n=27)	R	73,9	5,38	1, 2 y 3

* (SD)Desviación Standard / **Correccion Bonferroni.

Tabla 2. Estadístico ANOVA, medias y desviaciones standards de las medidas Vickers de las capas de la caries dentinaria

La agudeza perceptiva de la dureza clínica a los distintos intervalos: 15HV, 20HV, 25HV, 30HV y 40HV; presentó aciertos por encima del 80% sólo para el intervalo de 40HV, el resto de los aciertos/errores presentaban una cuasi correlación con el nivel del intervalo, a menor intervalo menor índice de aciertos y mayor de errores (Tabla 3).

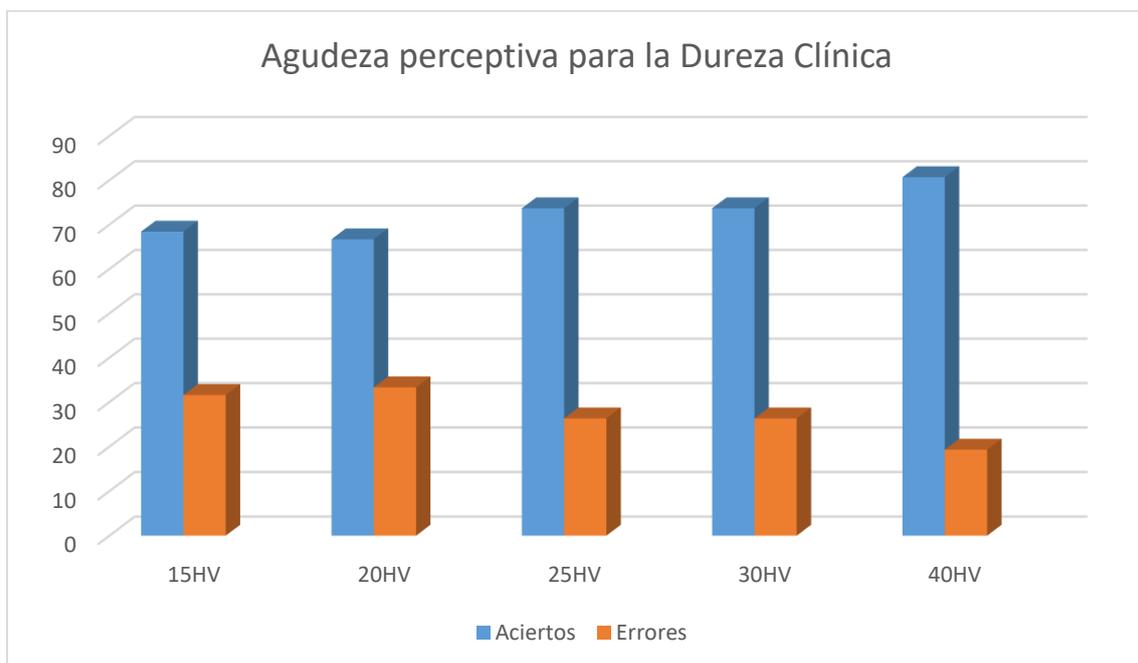


Tabla 3. Porcentaje de aciertos/errores en la discriminación de distintos intervalos de dureza.

La Sensibilidad (S) y Especificidad (Sp) de la Dureza Clínica, LF1 (Siroinspect) y LF2 (Vistaproof) para el límite cavitario, junto con el Valor Predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN), se presentan en la Tabla 4. En este análisis se considera sano: Capa Hipерминeralizada (H1) + Capa Desmineralizada profunda (H2); la capa enferma (H3) corresponde a la capa desmineralizada superficial. Las tres pruebas presentan mayor S que Sp, sin que la suma sea superior a 1,60, si bien LF1 y LF2 es >1,50.

Validez y Seguridad	S	Sp	S+Sp	VPP	VPN
DUREZA CLINICA	0,31	0,93	1,20	0,62	0,79
SIROINSPECT (LF1)	0,59	0,95	1,54	0,82	0,86
VISTAPROOF* (LF2)	0,59	0,93	1,52	0,75	0,86

Tabla 4. Sensibilidad (S), Especificidad (Sp), Valor Predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de la Dureza Clínica y dos aparatos de Laserfluorescencia (LF1 y LF2) a $\lambda = 405$ nm para el Limite Cavitario fijado entre Dentina Superficial Desmineralizada y Profunda Desmineralizada.

Si establecemos el límite entre zona con presencia de bacterias (H2+H3) y la zona sin bacterias (H1), los valores representados en la tabla 5, muestran valores $\geq 0,85$ para la Sp de las pruebas, siendo Sp $> 0,95$ para la LF. El VPP es $\geq 0,8$ para todas las pruebas y $> 0,85$ para la LF. El resto de los valores para las tres pruebas es $< 0,7$.

Validez y Seguridad	S	Sp	S+Sp	VPP	VPN
DUREZA CLINICA	0,48	0,85	1,41	0,80	0,575
SIROINSPECT (LF1)	0,35	0,96	1,31	0,86	0,70
VISTAPROOF* (LF2)	0,31	1	1,31	1	0,59

Tabla 5. Sensibilidad (S), Especificidad (Sp), Valor Predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de la Dureza Clínica y dos aparatos de Laserfluorescencia (LF1 y LF2) a $\lambda = 405$ nm para el Limite Cavitario fijado entre Dentina con bacterias y sin bacterias.

* * *

6. DISCUSIÓN

En el año 1996 E. Kidd (11) señaló como el signo clínico de mayor relevancia para establecer el límite cavitario sano en la dentina cariada era su dureza, una dentina dura es sinónimo de salud y una dentina enferma es blanda. En esta investigación (11), citada ampliamente en la literatura, el resto de signos clínicos analizados (color, humedad) no tuvieron correspondencia con esta dicotomía de dentina recuperable/no recuperable. Por esta razón, es aceptado universalmente que la dureza de la dentina es el medio para detectar en la consulta diaria el punto final de las preparaciones cavitarias.

Respecto a la dureza, los criterios clínicos están cambiando. Si antes se buscaba una dentina dura, grito dentinario de Frey, actualmente es admisible una dentina correosa sobre todo en zonas cercanas a la pulpa (9, 10, 20), ya que se ha comprobado posibilidad de recuperación de esta dentina. No obstante, entre dentina dura, correosa y blanda ¿cuánto le estamos exigiendo al Clínico?, lo que para unos es correoso para otros puede ser blando o viceversa. Esta falta de reproductibilidad y discrepancia entre operadores ha sido constatada por diversos autores (21). Una de las diferencias encontradas es entre Dentistas experimentados y no experimentados, obteniendo los primeros mejores resultados para identificar la dentina cariada (21). Por otra parte, ¿tenemos la suficiente capacidad perceptiva de la dureza para discriminar las capas dentinarias de la caries? que unido a que no exploramos toda la dentina de la cavidad y que no existe una homogenización para el empleo de la sonda de caries en el diámetro de su punta, estamos ante una prueba diagnóstica que en estudios de investigación puede ser certera, con operadores calibrados e instrumentos normalizados, pero que en la clínica diaria puede tener limitaciones.

Por ello, la primera cuestión que nos planteamos en este estudio era saber si había distintas durezas en las capas dentinarias de la caries, pues el proceso de desmineralización no va en los primeros estadios acompañado de bacterias, ya que, si no existía esta diferencia medida objetivamente con un durómetro, tampoco podría ser medida clínicamente. Los resultados de la microdureza de las capas de la caries dentinaria indicaban que sí existe una diferencia que es de 15 Vickers entre la Dentina desmineralizada superficial (DDS) y profunda (DDP) y de aproximadamente 20 Vickers entre la DDP y la hipermineralizada (HM). Por tanto, puede ser medida clínicamente si estamos en disposición de ese grado de percepción, al que hemos denominado “agudeza

perceptiva de la dureza” y que debe ser al menos de 15HV, pues es la diferencia entre DDS y DDP, que conforman el Límite Cavitario. Los resultados de nuestro estudio muestran que disponemos de esa capacidad perceptiva sólo en el 65% de los rangos entre 15-20HV y del 73% en los rangos de 25-30HV. Sólo superamos el 80% de aciertos en un rango de 40HV. Teniendo en cuenta que en ciencias de la Salud se considera el 80% de aciertos para determinar una prueba aceptable, consideramos que la percepción discriminativa de la dureza es insuficiente. Podemos establecer en este estudio inicial, a falta de estudios confirmatorios con muestras mayores, que no tenemos la capacidad discriminativa suficiente para determinar el límite cavitario entre DDS y DDP. En próximos estudios, debemos medir el intervalo 35HV, ya que es la diferencia entre HM y DDS. Los resultados para 40HV superan el 80%, pero para 30HV son del 73%, con lo que tenemos acotado el resultado, pero sería interesante saber si supera el 80% para 35 HV.

Si tenemos en cuenta que la mayoría de las obturaciones realizadas en la clínica diaria no se repiten, ni tienen que cambiarse a medio plazo porque el clínico haya dejado microorganismos viables debajo de la obturación, quiere decir que la dureza funciona. En la actualidad, bien por el empleo de la sonda de caries o por el uso de fresas que diferencian entre dentina dura y blanda, las preparaciones se dejan en dentina sana. Por lo tanto, aparentemente puede existir una contradicción entre los resultados encontrados y lo que ocurre realmente en la clínica. La explicación para esta controversia es que el Clínico, probablemente, deje sus preparaciones en la dentina hipermineralizada y de mayor dureza, de acuerdo con estudios precedentes (22). Es decir, la capa hipermineralizada es siempre interpretada como sana y ello es una garantía para delimitar el límite cavitario. Sin embargo, estas preparaciones están sobreextendidas y no reflejan el verdadero límite cavitario histológico, pues eliminan la capa de dentina desmineralizada profunda, más blanda, pero recuperable. En este sentido, podemos decir que la Dureza Clínica no es un buen método para determinar el verdadero límite cavitario y para hacer preparaciones mínimamente invasivas, aunque sí para que el tratamiento funcione siendo necesario sobreextender la preparación. La Dureza Clínica detecta difícilmente el límite cavitario real, lo que es comprensible porque está entre dos dentinas desmineralizadas y, por tanto, con diferencias en la dureza de difícil detección clínica.

Con la aparición de los sistemas de Láserfluorescencia que son: capaces de discriminar entre tejido sano y enfermo (23-25), reproducibles y que exploran toda la dentina cariada (11); pueden ser de gran ayuda en la determinación del límite cavitario sano. Los estudios realizados hasta ahora, se centran en la LF cuantitativa (Diagnodent), sin embargo, son pocos los estudios realizados en la determinación del límite cavitario con LF cualitativa. Por ello, el siguiente paso en este estudio fue determinar la Validez y Seguridad de la Láserfluorescencia cualitativa (LF1-LF2) frente a la Dureza Clínica, mediante el cálculo de la Sensibilidad, Especificidad y Valores predictivos.

Respecto a la Sensibilidad y Especificidad en el límite cavitario (tabla 4), observamos que es baja para las tres pruebas, pues la sensibilidad es inferior a 0,80 en todas: para la LF1 y LF2 es 0,59 y para la dureza es muy baja 0,31, por lo que son muchos los casos enfermos que no están en el grupo diagnosticado como tal. Por el contrario, la Especificidad es muy alta y $>0,9$ para las tres pruebas, por lo que la mayoría de los casos sanos estarían en el grupo de los diagnosticados como sanos. La suma de la S+Sp no llega a 1,60, aunque para la LF está cerca, no obstante, en las tres pruebas este valor depende en gran medida de la Sp. Tradicionalmente, en los estudios de diagnóstico de caries y otros, la LF se ha considerado como una prueba coadyuvante, según estos resultados y a falta de estudios confirmatorios podemos considerarla coadyuvante, pero con una validez similar a la Dureza.

Hemos estudiado la Sensibilidad y Especificidad de estas pruebas al límite cavitario DDS-DDP, entre dentina recuperable/no recuperable, y consideramos que es útil ampliarlo a DDP-HM por una doble razón. En primer lugar, porque el intervalo de dureza es mayor en este límite y porque la LF discrimina entre la presencia y no de bacterias, ya que detecta las porfirinas fruto del metabolismo bacteriano. Con ello sabremos la capacidad de estas pruebas para detectar dentina con bacterias y libre de bacterias, aunque este no sea el criterio mínimamente invasivo para establecer el límite cavitario. En este límite bacteriano, la Sensibilidad sigue siendo muy baja y la Especificidad alta, con lo que podemos hacer las mismas consideraciones para el límite anterior. Sin embargo, las consideraciones respecto a los valores predictivos van a ser diferentes y son las que trataremos a continuación.

Los conceptos de sensibilidad y especificidad permiten valorar la validez de una prueba diagnóstica. Sin embargo, carecen de utilidad en la práctica clínica. Tanto la sensibilidad como la especificidad proporcionan información acerca de la probabilidad de obtener un resultado concreto (positivo o negativo) en función de la verdadera condición del enfermo con respecto a la enfermedad. Sin embargo, cuando a un paciente o tejido se le realiza alguna prueba, el clínico carece de información a priori acerca de su verdadero diagnóstico, y más bien la pregunta se plantea en sentido contrario: ante un resultado positivo/negativo en la prueba, ¿cuál es la probabilidad de que el paciente esté realmente enfermo/sano? Así pues, resulta obvio que hasta el momento sólo hemos abordado el problema en una dirección. Por medio de los valores predictivos completaremos esta información.

El valor predictivo positivo es $>0,80$ en el límite bacteriano (HM-DDP), es decir, un tejido correoso o con LF positiva indica con mucha probabilidad la presencia de bacterias, sin embargo no nos ayuda en la decisión de seguir o no eliminando dentina pues no establece la diferencia entre dentina recuperable/no recuperable y solo en el caso de LF1 estaría justificado eliminar la dentina, pues su VPP es 0,82. En contraposición, una dentina dura o con LF negativa es un buen valor predictivo de dentina sana recuperable, pero no para la ausencia de bacterias, que por otra parte no es lo que vamos buscando. En términos de aplicación clínica ante una dentina dura e incluso dura-correosa estaremos casi con toda seguridad ante una dentina contaminada, pero recuperable. Por otra parte, cuando la dentina es correosa, aspecto difícil de diferenciar clínicamente de la dentina dura-correosa, sabemos que está contaminada, pero no podemos discriminar hasta qué punto es o no recuperable. Para la LF positiva podemos predecir la presencia de bacterias y con probabilidad la presencia de dentina no recuperable, sobre todo con la LF1.

Como resumen, durante la eliminación del tejido cariado, la dureza de la dentina es una prueba poco discriminativa para el diagnóstico del límite cavitario histológico con certeza, pero debemos tender a una dentina dura donde pueda existir cierta percepción de “dentina correosa”, sobre todo en casos de pulpa cercana, pues la predicción es de dentina recuperable. En el caso de la Láserfluorescencia cualitativa es una prueba que explora la totalidad de la cavidad, es reproducible y no depende del instrumento; es más precisa que la dureza en la detección del límite cavitario histológico, aunque no debe ser utilizada como única prueba. La combinación de la LF con la Dureza puede aumentar el

rendimiento diagnóstico y, en nuestra opinión, las dos pruebas deberían aplicarse conjuntamente durante la eliminación del tejido cariado.

En este estudio no se ha calculado la potencia de la muestra, pues tiene las características de estudio piloto, ya que forma parte de la línea de investigación de diagnóstico de la caries mediante Láserfluorescencia y se está determinando la totalidad de variables y el número total de casos, a los que este estudio ha contribuido. Por otra parte, no se han eliminado de la muestra las dentinas coloreadas o teñidas que presentan fluorescencia no cariogena y pueden ser fuente de falsos positivos en LF (14). Por último, necesitamos estudios confirmatorios y con muestras mayores para que las conclusiones de este estudio puedan ser recomendadas a la práctica clínica. Sin embargo, estos resultados sí pueden ser considerados como un acercamiento a por donde irá en el futuro la eliminación del tejido cariado de una forma mínimamente invasiva.

7. CONCLUSIONES

1ª.- Los estratos dentinarios de la caries tienen una dureza específica para cada capa y gradual desde superficie a profundidad.

2ª.- La dureza clínica es discriminativa para intervalos superiores a 40HV, por lo que no es útil para la diferenciación de las capas del límite cavitario, intervalo de 15HV entre capa.

3ª.- Para el límite cavitario histológico, la Dureza Clínica y la Láserfluorescencia Cualitativa a 405 nm es más Específica que Sensible, no alcanzando su suma el valor mínimo de 1,60 para considerarla válidas.

4ª.- Una dentina dura y con Láserfluorescencia negativa es un buen predictor de dentina sana recuperable. Sin embargo, una dentina blanda-correosa no lo es de dentina no recuperable.

5ª.- Una dentina con Láserfluorescencia negativa es un buen predictor de dentina recuperable y una Láserfluorescencia positiva lo puede ser en el caso de dentina no recuperable, sobre todo para el aparato Siroinspect.

* * *

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Nadal-Valldaura A. Patología dentaria. 1ª ed. Barcelona: Rondas; 1987.
2. Fejerskov O, Kidd EAM. Dental caries : the disease and its clinical management. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008.
3. Costerton JW. Overview of microbial biofilms. *J Ind Microbiol.* 1995; 15:137-140.
4. Figueroa-Gordon M, Acevedo AM, Alonso G. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de Caries dental. *Acta Odonto Venez.* 2009; 47:1-13.
5. Costerton JW. Overview of microbial biofilms. *J Ind Microbiol.* 1995; 15:137-140.
6. Scheie AA, Petersen FC. The biofilm concept: consequences for future prophylaxis of oral diseases? *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15:4-12.
7. Becker MR, Paster BJ, Leys EL, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:1001-1009.
8. Byun R, Nadkarni MA, Chhour K-L, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Quantitative Analysis of Diverse Lactobacillus Species Present in Advanced Dental Caries. *J Clin Microbiol.* 2004, 7:3128-3136.
9. Herrera M, Bonilla Represa V, Segura Egea JJ. Caries enfermedad versus caries lesión: implicaciones diagnósticas y terapéuticas según el International Caries Consensus Collaboration Group. *Endodoncia.* 2016; 34:204-219.
10. Innes NPT, Frencken JE, Bjørndal L, Maltz M, Manton DJ, Ricketts D, et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology. *Adv Dent Res.* 2016; 28:49–57.
11. Kidd EA, Ricketts DN, Beighton D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. *Br Dent J.* 1996; 180:287-291.
12. Fusayama T. Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. *Oper Dent.* 1979; 4:63-70.
13. Anttonen V, Seppä L, Hausen H. A follow-up study of the use of DIAGNOdent for monitoring fissure caries in children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2004; 32:312-8.
14. Lussi A, Hibst R, Paulus R. DIAGNOdent: an optical method for caries detection. *J Dent Res.* 2004; 83:80-83.
15. Reis A, Mendes FM, Angnes V, Angnes G, Grande RHM, Loguercio AD. Performance of methods of occlusal caries detection in permanent teeth under clinical and laboratory conditions. *J Dent.* 2006; 34:89–96.

16. Braun A, Krause F, Jepsen S. The influence of the calibration mode of a laser fluorescence device on caries detection. *Caries Res.* 2005; 39:144-9.
17. Kidd EA, Ricketts DN, Pitts NB. Occlusal caries diagnosis: a changing challenge for clinicians and epidemiologists. *J Dent.* 1993; 21:323-331.
18. Kidd EAM. How “clean” must a cavity be before restoration? *Caries Res.* 2004; 38:305–313.
19. Landis JR, Koch G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977; 33:159–174.
20. Schwendicke F, Frencken JE, Bjørnald L, Maltz M, Manton DJ, Ricketts D, Van Landuyt K, Banerjee A, Campus G, Doméjean S, Fontana M, Leal S, Lo E, Machiulskiene V, Schulte A, Splieth C, Zandona AF, Innes NPT. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology. *Adv Dent Res.* 2016; 28:58-67.
21. De Souza AL, Leal SC, Bronkhorst EM, Frencken, JE. Assessing caries status according to the CAST instrument and WHO criterion in epidemiological studies. *BMC Oral Health.* 2014; 14: 119-125.
22. Krause F, Braun A, Eberhard J, Jepsen S. Laser fluorescence measurements compared to electrical resistance of residual dentine in excavated cavities in vivo. *Caries Res.* 2007; 41:135-140.
23. Ábalos C, Herrera M, Jiménez-Planas A, Llamas R. Performance of Laser Fluorescence for Detection of Occlusal Dentinal Caries Lesions in Permanent Molars: An in vivo Study with Total Validation of the Sample. *Caries Res.* 2009; 43:137-141.
24. Ábalos C, Mendoza A, Jiménez-Planas A, Guerrero E, Chaparro A, Garcia-Godoy F. Performance of laser fluorescence for the detection of enamel caries in non-cavitated occlusal surfaces: Clinical study with total validation of the sample. *Am J Dent.* 2012; 25:45-48.
25. Ábalos C, Herrera M, Bonilla V, San Martín L, Mendoza A. Laser-induced fluorescence in the diagnosis of pulp exposure and the influence of residual dentin thickness: An in vivo study. *Am J Dent.* 2015; 28:76-80.

* * *