

## La laserfluorescencia cualitativa en el diagnóstico del límite cavitario

### Qualitative laserfluorescence in the diagnosis of the cavity limit

### Laserfluorescência qualitativa no diagnóstico do limite da cavidade

Diego Mauricio Laverde-Albarracín<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Universidad Regional Autónoma de Los Andes, Ambato. Ecuador.

Para la correspondencia: [ua.diegolaverde@uniandes.edu.ec](mailto:ua.diegolaverde@uniandes.edu.ec)

Recibido: 14-09-2023 Aprobado: 28-10-2023 Publicado: 15-11-2023

## RESUMEN

**Introducción:** la fluorescencia inducida por láser es capaz de discernir entre tejido sano o enfermo y ha sido aplicada a distintos ámbitos dentro de la Odontología. Sin embargo, la laserfluorescencia cualitativa ha sido poco estudiada para determinar el límite cavitario.

**Objetivo:** evaluar la efectividad y seguridad del uso de la laser-fluorescencia, a  $\lambda=450$  nm y 405 nm, en la detección del límite cavitario.

**Método:** se seleccionaron 45 dientes ex-vivo, que presentaban al menos una localización de caries dentinaria. Se determinaron 83 áreas para el estudio en las que se midió la fluorescencia mediante tres sistemas con diferentes longitudes de onda (405-450 nm). Se calculó la seguridad de la prueba con las categorías de color recomendadas por el fabricante y una escala resultado de la recodificación de las variables. Mediante el software Pixelmator MAC se convirtieron las variables RGB del color en valores cuantitativos de la escala CIE. Los datos fueron introducidos en el programa estadístico SPSS 19.0. Se

aplicaron pruebas de significación ( $\alpha \leq 0,05$ ).

**Resultados:** las categorías de color recomendadas por el fabricante no coinciden con las escalas que muestran la mejor sensibilidad y especificidad. La laserfluorescencia (405 nm-450 nm) es más específica que sensible. Las variables  $L^*a^*b$  son capaces de diferenciar entre dentina recuperable y no recuperable y la LIF-405 nm discrimina entre las capas que delimitan el límite cavitario. **Conclusiones:** la fluorescencia inducida por láser es un método útil para el diagnóstico del límite cavitario, si bien las recomendaciones del fabricante deben ser modificadas. El sistema  $L^*a^*b$  puede contribuir a eliminar la subjetividad del operador.

**Palabras clave:** laserfluorescencia; diagnóstico; límite cavitario

**ABSTRACT**

**Introduction:** laser-induced fluorescence is capable of discerning between healthy and diseased tissue and has been applied to different areas within Dentistry. However, qualitative laserfluorescence has been little studied to determine the cavity limit. **Objective:** to evaluate the effectiveness and safety of the use of laser fluorescence, at  $\lambda=450$  nm and 405 nm, in detecting the cavity limit. **Method:** 45 teeth were selected ex-vivo, which presented at least one location of dentin caries. 83 areas were determined for the study in which fluorescence was measured using three systems with different wavelengths (405-450 nm). The safety of the test was calculated with the color categories recommended by the manufacturer and a scale resulting from the recoding of the variables. Using the Pixelmator MAC software, the RGB color variables were converted into quantitative values of the CIE scale. The data were entered into the SPSS 19.0 statistical program. Significance tests were applied ( $\alpha \leq 0.05$ ). **Results:** the color categories recommended by the manufacturer do not match the scales that show the best sensitivity and specificity. Laserfluorescence (405 nm-450 nm) is more specific than sensitive. The L\*a\*b variables are capable of differentiating between recoverable and non-recoverable dentin and the LIF-405 nm discriminates between the layers that delimit the cavity boundary. **Conclusions:** laser-induced fluorescence is a useful method for diagnosing the cavity limit, although the manufacturer's recommendations must be modified. The L\*a\*b system can help eliminate operator subjectivity.

**Keywords:** laserfluorescence; diagnosis; cavity limit

**RESUMO**

**Introdução:** a fluorescência induzida por laser é capaz de discernir entre tecido saudável e doente e tem sido aplicada em diversas áreas da Odontologia. Entretanto, a laserfluorescência qualitativa tem sido pouco estudada para determinar o limite da cavidade. **Objetivo:** avaliar a eficácia e segurança do uso da fluorescência do laser, em  $\lambda=450$  nm e 405 nm, na detecção do limite da cavidade. **Método:** foram selecionados 45 dentes ex-vivo, que apresentavam pelo menos uma localização de cárie dentinária. Foram determinadas 83 áreas para o estudo nas quais a fluorescência foi medida usando três sistemas com diferentes comprimentos de onda (405-450 nm). A segurança do teste foi calculada com as categorias de cores recomendadas pelo fabricante e uma escala resultante da recodificação das variáveis. Utilizando o software Pixelmator MAC, as variáveis de cores RGB foram convertidas em valores quantitativos da escala CIE. Os dados foram digitados no programa estatístico SPSS 19.0. Foram aplicados testes de significância ( $\alpha \leq 0,05$ ). **Resultados:** as categorias de cores recomendadas pelo fabricante não correspondem às escalas que apresentam melhor sensibilidade e especificidade. A laserfluorescência (405 nm - 450 nm) é mais específica do que sensível. As variáveis L\*a\*b são capazes de diferenciar entre dentina recuperável e não recuperável e o LIF-405 nm discrimina entre as camadas que delimitam o limite da cavidade. **Conclusões:** a fluorescência induzida por laser é um método útil para diagnosticar o limite da cavidade, embora as recomendações do fabricante devam ser modificadas. O sistema L\*a\*b pode ajudar a eliminar a subjetividade do operador.

**Palavras-chave:** laserfluorescência; diagnóstico; limite de cavidade

**Cómo citar este artículo:**

Laverde-Albarracín DM. La laserfluorescencia cualitativa en el diagnóstico del límite cavitario. Rev Inf Cient [Internet]. 2023 [citado día mes año]; 102:4370. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10136113>



## INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad infecciosa de etiología multifactorial que se caracteriza por desintegración progresiva de sus tejidos calcificados, debido a la acción de microorganismos sobre los carbohidratos fermentables provenientes de la dieta.<sup>(1)</sup> Se considera un proceso dinámico de desmineralización y remineralización que ocurre en la superficie del diente como producto del metabolismo bacteriano, que con el tiempo puede resultar en una pérdida de minerales.<sup>(2)</sup>

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 adapten a dicho ambiente, siendo éstos los más virulentos.<sup>(3,4)</sup>

En lesiones avanzadas de caries se ha demostrado la presencia de las siguientes bacterias:<sup>(5)</sup>

El *Streptococcus mutans* no es fundamental ni patognomónico para el inicio ni progresión de la lesión de caries, ya que la lesión se puede desarrollar con o sin su presencia.<sup>(5)</sup>

Los Actinomyces son anaerobios facultativos grampositivos, acidógenos, sintetizan 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.<sup>(6)</sup>

*Bifidobacterium* son anaerobios grampositivos, género de mayor prevalencia presente en lesiones avanzadas de caries.<sup>(7)</sup> Los lactobacilos son anaerobios facultativos, acidógenos, acidófilos, acidúricos. Las especies de Lactobacillus aisladas con mayor prevalencia en lesiones de caries dentinaria *L. gasseri* y *L. ultunensis*.<sup>(8)</sup>

Los microorganismos Prevotella son anaerobios estrictos gramnegativos no esporulados. Recientemente ha sido demostrada la participación de esta especie en lesiones avanzadas de caries dental.<sup>(5)</sup>

La lesión del esmalte después de un tiempo se vuelve altamente porosa, esto permite que la caries una vez que se encuentra en el límite amelodentinario, dirija los ácidos hacia el interior de la dentina, provocando una reacción del complejo dentino pulpar.<sup>(9)</sup> Esta respuesta se basa en mecanismos como la esclerosis tubular, dentina esclerótica, entre otros.<sup>(6)</sup>

### El límite cavitario

Microscópicamente, la capa superficial externa está infectada por microorganismos. La dureza y el color de la dentina han sido los parámetros utilizados para diferenciar entre la dentina infectada y la no infectada por caries durante el proceso de excavación del tejido cariado.<sup>(10,11)</sup> Se demostró la existencia de correlación entre los criterios clínicos (dentina dura o blanda/ seca o mojada) y los hallazgos microbiológicos.<sup>(12)</sup> En este estudio indicaban que la dentina blanda presentaba una mayor cantidad de bacterias que la dentina dura, así mismo, obtuvieron una cantidad de lactobacilos significativamente mayor en la dentina blanda y húmeda, que en la blanda y seca. Sin embargo, no ocurría lo mismo con el

color de la dentina y la cantidad de microorganismos presentes en ella, quedando el criterio clínico del color dentinario para establecer el límite cavitario en desuso.

### **Métodos diagnósticos empleados en la detección del límite cavitario**

Los métodos diagnósticos clínicos convencionales empleados para la detección del límite cavitario son los siguientes:<sup>(13)</sup>

#### *Inspección táctil con sonda de caries*

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.<sup>(14,15)</sup>

- *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 sananormal.

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.

#### *Detector de caries*

La solución de tinte original, Caries Detector (Kurara y Noritake Dental) se compone de rojo ácido 1 % en propilenglicol. 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.<sup>(16)</sup>

#### *Laserfluorescencia (LIF)*

Los equipos utilizados para el diagnóstico de lesiones cariosas funcionan mediante un diodo de láser que genera un rayo de luz con una longitud de onda definida, la cual incide sobre el diente, adquiriendo un aspecto fluorescente que puede ser cuantificado, en presencia de fluoróforos bacterianos (protoporfirina IX). Este es el principio operativo de los sistemas de laserfluorescencia cualitativos ( $\lambda$

405-450 nm). Estos sistemas generan una imagen con diferentes colores, que están asociados a tejido sano (verde) o tejido enfermo (naranja-rojo).<sup>(17)</sup>

Existen discrepancias con la utilidad de la LF para diagnóstico debido a que en la zona del tejido pulpar la fluorescencia resultante es parecida a la no cariogénica, por lo que podría dar falsos positivos.<sup>(18)</sup>

### **Aparatos de laser fluorescencia**

#### **a) LIF $\lambda=405$ nm (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 tiene una longitud de onda de 405 nm producida por seis 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 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.

#### **b) LIF $\lambda=405$ nm (Siroinspect®)**

Este aparato emite y recibe haces de luz de diferentes longitudes de onda. Éste haz de luz tiene 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.

#### **c) LIF $\lambda=450$ nm (Soprolife®)**

El software Soprolmaging es la interfaz del usuario del sistema SopixPSPIX, SOPROLIFE y de las cámaras Sopro® que permite adquirir, procesar y archivar imágenes radiográficas tomadas con el sistema Sopix o PSPIX.

Dentro de sus múltiples funciones la que nos ofrece, la cámara intraoral Soprolife® utiliza dos grupos de LEDs que pueden iluminar las superficies del diente tanto con la función luz diurna (luz blanca) como la función luz azul (longitud de onda de 450 nm con un ancho de banda de 20 nm, centrada a  $\pm 10$  nm de la onda de excitación).

## Medición del color

### *Espacio del color L\*a\*b*

L\*a\*b es el nombre abreviado de dos espacios de color diferentes. El más conocido es CIELAB (estrictamente CIE 1976 L\*a\*b\*) y el otro es L\*a\*b es una abreviación informal, y puede confundirse con uno u otro espacio de color. Los espacios de color están relacionados en intención y propósito, pero son diferentes entre sí.<sup>(19)</sup>

El propósito de ambos espacios es producir un espacio de color que sea más "perceptivamente lineal" que otros espacios de color.<sup>(19)</sup>

Las siglas LAB se refieren al espacio de color tridimensional, en donde L o L\* es luminosidad de negro a blanco, A o a\* va de rojo a verde y B o b\* al azul.<sup>(20)</sup>

### *Modelo de color RGB*

RGB es un modelo de color basado en la síntesis aditiva, con el que es posible representar un color mediante la mezcla por adición de los tres colores de luz primarios. El modelo de color RGB no define por sí mismo lo que significa exactamente rojo, verde o azul, por lo que los mismos valores RGB pueden mostrar colores notablemente diferentes en distintos dispositivos que usen este modelo de color.

## Conversiones RGB y CMYK

Los valores RGB o CMYK deben ser transformados a un espacio de color absoluto específico, tal como sRGB o RGB de Adobe. Estos espacios serán dependientes del dispositivo permitiendo que estos datos sean transformados al espacio de color CIE 1931 y luego en L\*a\*b\*.

El objetivo de esta investigación es evaluar la efectividad y seguridad del uso de la laserfluorescencia a  $\lambda=450$  nm y 405 nm, en la detección del límite cavitario.

## 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 45 dientes ex-vivo, premolares y molares de diferentes pacientes, que presentaban 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 preparados antes de siete días para evitar la pérdida de fluorescencia del tejido dental.

## Preparación de las muestras

Se fue eliminando el tejido cariado con incrementos secuenciales de 1 mm hasta alcanzar distintos niveles y áreas de exploración (Figura 1). El tejido cariado se eliminó con los medios habituales, cucharilla de caries y fresas de carburo de tungsteno. Se prepararon, como máximo, dos áreas por cada diente y 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 90 áreas para el estudio. Entre cada área se dejaba espacio suficiente para permitir cortes independientes del diente sobre cada área (Figura 1).

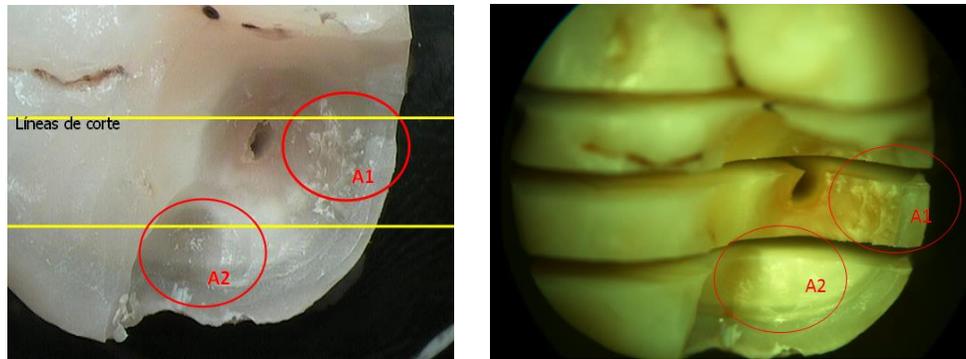


Fig. 1. Áreas de estudio seleccionadas y planificación de líneas de corte para la validación histológica.

## Medición de la laserfluorescencia cualitativa (LIF-CL)

En las áreas de estudio se midió la fluorescencia mediante tres sistemas de LIF-CL: Soprolife® (Acteon, La Ciotat, France) a  $\lambda=450$  nm. (Figura 2); el aparato Siroinspect® (Sirona Dental Systems Fabrikstrasse 31. 64625 Bensheim. Alemania) a  $\lambda=405$  nm (Figura 2) y con el Sistema Vistaproof® (Dür Dental SE, 74321, Bietigheim-Bissingen, Alemania) a  $\lambda=405$  nm.

La valoración de las imágenes producidas por su software fue realizada por dos operadores que no habían intervenido en la preparación de las muestras. Se analizaron independientemente en la pantalla de un PC (Toshiba, mod. Satellite Pro) y en una habitación con el mismo grado de iluminación. Solo hubo discrepancias entre los operadores en dos muestras que fueron eliminadas del estudio (n=88).

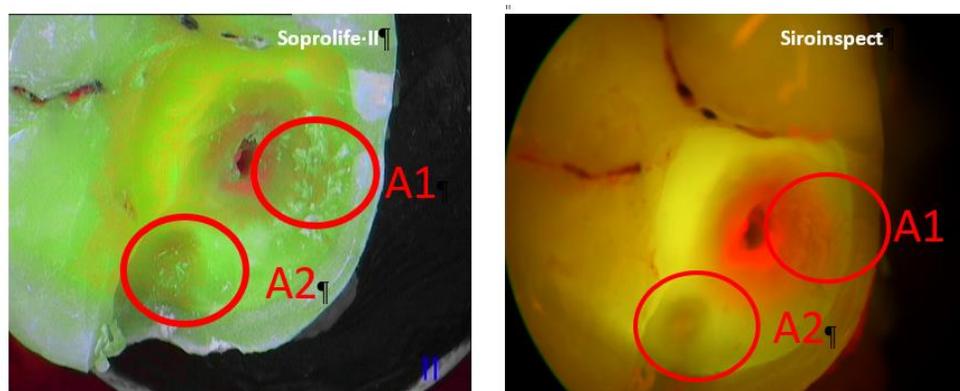


Fig. 2. Medición con fluorescencia cualitativa a  $\lambda=450$  nm y 405 nm en dos áreas de estudio.

Las categorías de colores correspondían a la escala: (blanco-gris-negro /verde-amarillo-naranja-rosa-rojo), a las que se añadieron rosa y “rojo vivo”, por presentarse fundamentalmente con los aparatos a  $\lambda=405$  nm. Estos colores se diferencian en la luminosidad de los que hemos denominado rosa y “rojo apagado” (Figura 3).

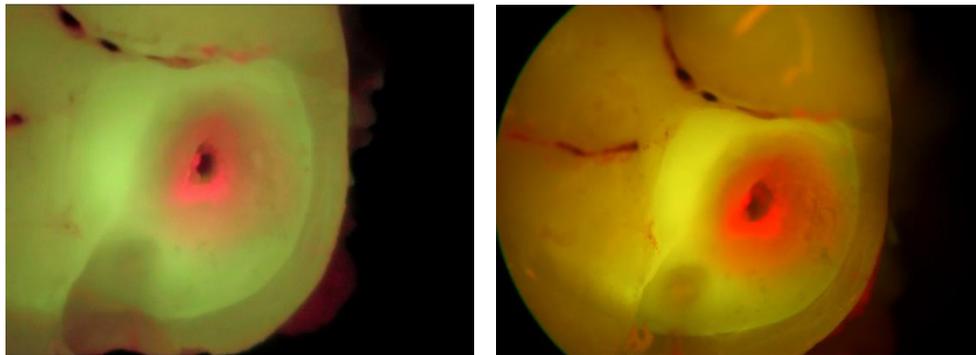


Fig. 3. Colores “rosa vivo” (Vistaproof®) y “rojo vivo” (Siroinspect®).

### Determinación de las variables del color en el sistema RGB y CIE L\*a\*b\*

En cada área de estudio de la muestra, mediante la selección de *pixeles* con la aplicación “Cuentagotas” del software Pixelmator MAC, se determinaron los valores de las variables RGB del color (Figura 4). Para cada color se tomaron tres mediciones y el valor promedio se tomó como resultado. Este procedimiento se aplicó para la LIF a  $\lambda=450$  nm y a la LIF a  $\lambda=405$  nm (Vitaproof®).

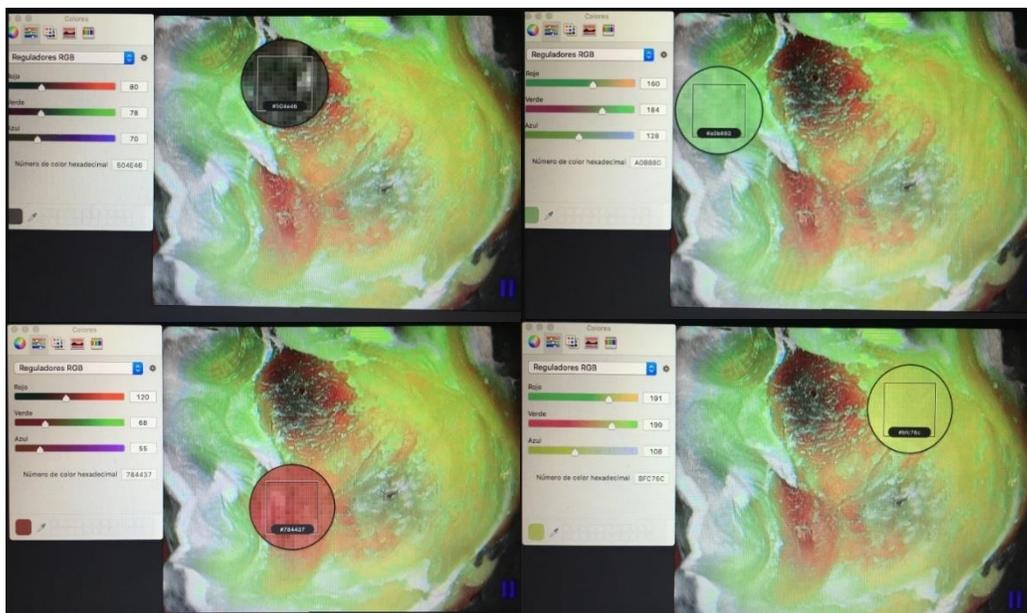


Fig. 4. Variables RGB del color de la fluorescencia en la caries dentinaria.

Para convertir los valores RGB a CIE L\*a\*b\* se utilizó el conversor “Colormine” que utiliza el código de conversión siguiente:

```
varrgb = new Rgb()
```

```
varlab = rgb.To<Lab>()
```

Estos valores fueron considerados como las variables numéricas que definían el color en una determinada área de estudio de la caries dentinaria. Posteriormente, mediante estudio con epifluorescencia de las bacterias marcadas, se determinó la capa dentinaria de la caries.

### Validación con marcadores de ADN

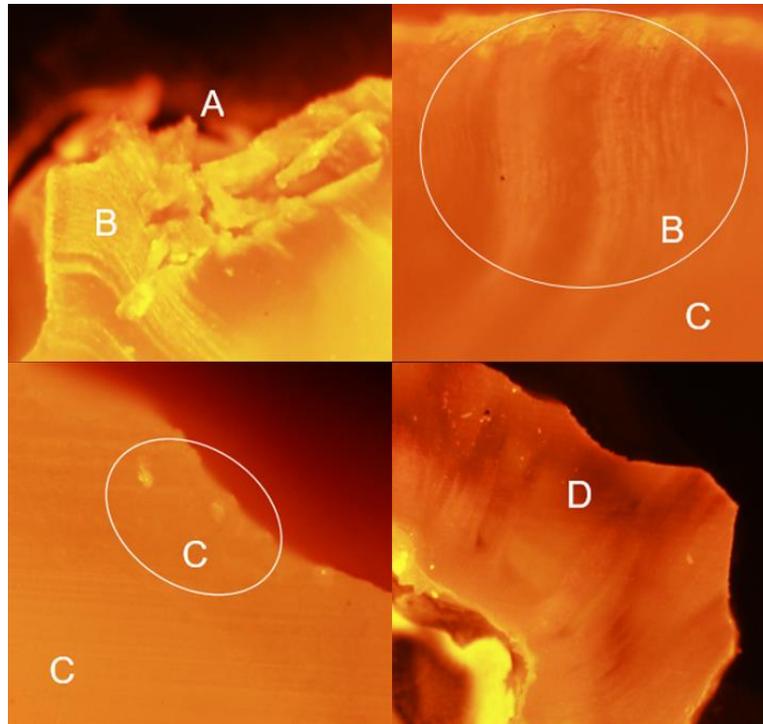
Cada diente fue cortado por las líneas de corte seleccionadas en espesores de  $\geq 3$  mm usando la recortadora Struers Accutom-2 (Roper Technologies, Inc. Florida, USA), obteniéndose 88 muestras dobles (mesial y distal del corte). De ellas, se eligió la más representativa del área explorada. Hubo que desechar 5 muestras que se deterioraron por el corte (n=83).

Las muestras se pulieron con el uso de discos de papel de silicona de carburo con tamaño de grano de 320, 600, 1 200. (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 (Figura 5).

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



**Fig. 5.** Imágenes de epifluorescencia de las zonas de la caries dentinaria: necrótica (A); desmineralizada superficial con patrón tubular y corpúsculos superficiales (B); desmineralizada profunda (C) e hipermineralizada (D).

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron introducidos en el programa SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Se calcularon las frecuencias y porcentajes de cada color LIF-CL respecto a cada capa dentinaria. Según estas frecuencias, se asociaron los colores representativos de la LIF de cada longitud de onda a las capas del estrato de la caries dentinaria, donde la frecuencia era mayor. Con la recodificación de las capas del estrato dentinario en dentina Recuperable (hipermineralizada + desmineralizada profunda) y No recuperable (desmineralizada superficial) se recodificaron nuevamente las categorías de color para cada longitud de onda.

Se tomó como base para la selección de estas categorías el impacto que tenían en la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de cada prueba. Aquellas categorías de color que no se distribuían con un porcentaje diferencial mayor al 40 %, entre Recuperable/No recuperable, se excluyeron como categoría diagnóstica.

Se calcularon las medias y la desviación estándar de cada valor  $L^*a^*b^*$  para las capas del estrato dentinario, una vez comprobada que su distribución era normal. Para conocer si existían diferencias significativas entre los valores  $L^*a^*b^*$  y las capas del límite cavitario se utilizó la prueba T de Student fijando su significación en  $\alpha \leq 0,05$ . Para los valores  $L^*a^*b^*$  en relación a la dentina Recuperable/No recuperable se procedió de igual forma.

## RESULTADOS

### Laserfluorescencia $\lambda=450$ nm

La distribución de los colores para las categorías verde-naranja-rojo/blanco-gris-negro entre las distintas capas de la caries dentinaria y entre la dentina Recuperable/No recuperable están representadas en la Tabla 1. Los colores blanco-gris-negro no se incluyeron en las categorías de variables de esta prueba y no se emplearon para discriminar entre las capas de la caries dentinaria.

**Tabla 1.** Distribución de las categorías verde-naranja-rojo de la laserfluorescencia  $\lambda=450$  nm entre las capas de la caries dentinaria

Soprolife® $\lambda=450$ nm	H1	H2	Dentina R=(H1+H2)	H3	Dentina NR= (H3)
Blanco	4	1	-	2	-
Verde claro	1	-	-	-	-
Verde medio	21	15	-	5	-
Verde oscuro	1	3	41	2	7
Amarillo	2	1	-	2	-
Naranja	4	2	9	-	2
Rojo claro	-	2	-	4	-
Rojo vivo				1	
Rojo oscuro	-	-	2	1	6
Gris	1	-	-	1	-
Negro	1	-	-	-	-

**Leyenda:** H1: Hipermineralizada; H2: Desmineralizada profunda; H3: Desmineralizada superficial; R: Dentina Recuperable; NR: Dentina No recuperable.

Las frecuencias y porcentajes para las categorías verde-naranja-rojo se expresan en la Tabla 2. Según la distribución observada entre la dentina recuperable y no recuperable, el verde y naranja presentan mayor frecuencia en la dentina Recuperable y la categoría rojo en la No recuperable.

**Tabla 2.** Escala de colores recodificados y su distribución entre dentina Recuperable y No recuperable de la laserfluorescencia  $\lambda=450$  nm

Variables modificadas Soprolife®	DR	DNR
Verde	41 (85,42 %)	7 (14,58 %)
Naranja	9 (81,82 %)	2 (18,18 %)
Rojo	2 (25 %)	6 (75 %)

**Leyenda:** DR: Dentina Recuperable; DNR: Dentina No recuperable.

Los valores de la prueba para la sensibilidad (S), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (VP+) y valor predictivo negativo (VP-) se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Validez de la laserfluorescencia  $\lambda=450$  nm con la escala de colores recodificada

Validez LIF $\lambda=450$ nm	Sano	Enfermo	
Verde/naranja	50	9	VPN=0,85
Rojo	2	6	VPP=0,75
	Sp=0,96	S=0,40	

**Leyenda:** Sp: Especificidad; S: Sensibilidad; VPN: Valor predictivo negativo; VPP: Valor predictivo positivo.

### Laserfluorescencia $\lambda=405$ nm (Siroinspect®)

La distribución de los colores para las categorías verde-naranja-rojo/gris entre las distintas capas de la caries dentinaria y entre la dentina Recuperable/No recuperable están representadas en la Tabla 4. El color gris no ha sido incluido en las categorías de variables de esta prueba y no será aplicado para discriminar entre las capas de la caries dentinaria.

**Tabla 4.** Distribución de colores de la laserfluorescencia  $\lambda=405$  nm (Siroinspect®) entre las capas de la caries dentinaria

Siroinspect® LIF $\lambda=405$ nm	H1	H2	Dentina R=(H1+H2)	H3	Dentina NR= (H3)
Verde claro	24	10	-	4	-
Verde oscuro	-	1	35	-	4
Amarillo	-	1	-	-	-
Naranja claro	1	-	-	-	-
Naranja medio	8	9	-	5	-
Rojo	2	1	22	-	5
Rojo vivo	1	2	3	13	13
Gris	1	-	-	-	-

**Leyenda:** H1: Hipermineralizada; H2: Desmineralizada profunda; H3: Desmineralizada superficial; R: Dentina Recuperable; NR: Dentina No recuperable.

Las frecuencias y porcentajes para las categorías verde-naranja-rojo-rojo vivo se observan en la Tabla 5. Según la distribución de las categorías de color entre la dentina recuperable y no recuperable, el verde-naranja-rojo presenta mayor frecuencia en la dentina Recuperable y la categoría rojo vivo en la No recuperable.

**Tabla 5.** Escala de colores recodificados y su distribución entre dentina Recuperable y No recuperable de la laserfluorescencia  $\lambda=405$  nm (Siroinspect®)

Variables modificadas Siroinspect®	DR	DNR
Verde	35 (89,74 %)	4 (10,26 %)
Naranja/Rojo	22 (81,48 %)	5 (18,52 %)
Rojo vivo	3 (18,75 %)	13 (81,25 %)

**Leyenda:** DR: Dentina Recuperable; DNR: Dentina No recuperable.

Los valores de la prueba para la sensibilidad (S), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (VP+) y valor predictivo negativo (VP-) se muestran en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Validez de la laserfluorescencia  $\lambda=405$  nm (Siroinspect®) con la escala de colores recodificada

Validez $\lambda= 405$ nm	Sano	Enfermo	
Verde/naranja/rojo	57	9	VPN=0,86
Rojo vivo	3	13	VPP=0,81
	Sp=0,95	S=0,59	

**Leyenda:** Sp: Especificidad; S: Sensibilidad; VPN: Valor predictivo negativo; VPP: Valor predictivo positivo.

### Laserfluorescencia $\lambda=405$ nm (Vistaproof®)

La distribución de los colores para las categorías “verde-naranja-rojo/gris”, entre las distintas capas de la caries dentinaria y entre la dentina recuperable/No recuperable, están representadas en la Tabla 7. El color Gris no ha sido incluido en las categorías de variables de esta prueba y no será empleado para discriminar entre las capas de la caries dentinaria.

**Tabla 7.** Distribución de colores de la Laser fluorescencia  $\lambda=405$  nm (Vistaproof®) entre las capas de la caries dentinaria

VistaProof LIF $\lambda= 405$ nm	H1	H2	Dentina R=(H1+H2)	H3	Dentina NR= (H3)
Verde claro	26	12	-	3	-
Naranja	4	5	47	1	4
Rosa	3	6	-	5	-
Rojo	3	-	12	4	9
Rosa vivo	-	-	-	2	-
Rojo vivo	-	1	1	7	9
Gris	1	-	-	-	-

**Leyenda:** H1: Hiperm mineralizada; H2: Desmineralizada profunda; H3: Desmineralizada superficial; R: Dentina Recuperable; NR: Dentina No recuperable.

Las frecuencias y porcentajes para las categorías Verde-Naranja-Rojo-Rojo vivo se observan en la Tabla 8. Según la distribución entre la dentina recuperable y no recuperable, el verde-naranja-rojo presenta mayor frecuencia en la dentina Recuperable y la categoría rojo vivo en la No recuperable. Los valores para la categoría rojo apagado muestran diferencias de aproximadamente del 15 % entre dentina recuperable/No Recuperable, por lo que no es considerada una categoría discriminativa.

**Tabla 8.** Escala de colores recodificados y su distribución entre dentina Recuperable y No recuperable de la laserfluorescencia  $\lambda=405$  nm (Vistaproof®)

VARIABLES MODIFICADAS VISTAPROOF®	DR	DNR
Verde/naranja	47 (91,49 %)	4 (8,51 %)
Rojo apagado	12 (57,14 %)	9 (42,86 %)
Rojo vivo	1 (10,00 %)	9 (90,00 %)

**Leyenda:** DR: Dentina Recuperable; DNR: Dentina No recuperable.

Los valores de la prueba para la sensibilidad (S), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (VP+) y valor predictivo negativo (VP-) se muestran en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Validez de la laserfluorescencia  $\lambda=405$  nm (Vistaproof®) con la escala de colores recodificada

Validez LIF $\lambda=405$ nm (VistaProof®)	Sano	Enfermo	
Verde/Naranja	47	4	VPN=0,92
Rojo vivo	1	9	VPP=0,9
	Sp=0,98	S=0,69	

**Leyenda:** Sp: Especificidad; S: Sensibilidad; VPN: Valor predictivo negativo; VPP: Valor predictivo positivo.

### Valores CIE L\*a\*b\* para la laserfluorescencia $\lambda=405$ nm

La media y la desviación de estándar de los valores cuantitativos CIE L\*a\*b\* están representados en la Tabla 10. Existió mayor diferencia de medias entre las capas del límite cavitario para los parámetros L\* y a\*.

**Tabla 10.** Distribución de los valores L\*a\*b\* de la Laser fluorescencia (LIF)  $\lambda=405$ nm en las capas de la caries dentinaria

LIF $\lambda=405$ nm (Vistaproof®)	Hipermineralizada		Desmineralizada Profunda		Desmineralizada Superficial	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
L	56,75	15,75	58,20	12,72	47,95	11,64
a	7,56	20,16	9,62	17,89	30,64	22,28
b	41,19	9,8	40,5	7,94	37,04	8,09
n=82	n=36		n=24		n=22	

(\*) Escala de color CIE 1976 L a b.

En la Tabla 11 se observan las diferencias estadísticamente significativas para L\* y a\*, tanto para dentina Recuperable/No recuperable como para las capas del límite cavitario.

**Tabla 11.** Estadísticos de contraste de los valores L\*a\*b\* de la laserfluorescencia (LIF)  $\lambda=405$  nm para los estratos de la caries dentinaria

Estratos comparados	T de Student ( $\alpha \leq 0,05$ )		
	L	a	B
H2 - H3	0,007	0,001	0,151
[H1+H2] - H3	0,008	0,001	0,082

(\*) Escala de color CIE 1976 L a b.

**Leyenda:** H1: Hipermineralizada; H2: Desmineralizada profunda; H3: Desmineralizada superficial.

## Valores CIE L\*a\*b\* para la laserfluorescencia $\lambda=450$ nm

La media y la desviación de estándar de los valores cuantitativos CIE L\*a\*b\* están representados en la Tabla 12. No existieron marcadas diferencias de medias entre las capas del límite cavitario para los parámetros L\*a\*b\*, se observó que el valor disminuyó en valores absolutos desde la capa hipermineralizada a la desmineralizada superficial. En la Tabla 13 se observan las diferencias estadísticamente significativas para L\* entre la dentina Recuperable/No recuperable.

**Tabla 12.** Distribución de los valores L\*a\*b\* de la laserfluorescencia (LIF)  $\lambda=450$  nm en las capas de la caries dentinaria

LIF $\lambda=450$ nm (Soprolife®)	Hipermineralizada		Desmineralizada Profunda		Desmineralizada Superficial	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
L	63,89	12,33	59,96	13,30	51,09	18,77
a	-14,5	17,05	-9,0	19,5	-6,41	16,0
b	31,47	20,55	25,58	18,35	17,27	14,27
n=82	n=36		n=24		n=22	

(\*) Escala de color CIE 1976 L a b.

**Tabla 13.** Estadísticos de contraste de los valores L\*a\*b\* de la laserfluorescencia (LIF)  $\lambda=450$  nm para los estratos de la caries dentinaria

Estratos comparados	U de Mann-Whitney ( $\alpha \leq 0,05$ )		
	L	a	b
H2 - H3	0,69	0,627	0,095
[H1+H2] - H3	0,003	0,183	0,012

(\*) Escala de color CIE 1976 L a b.

**Legenda:** H1: Hipermineralizada; H2: Desmineralizada profunda; H3: Desmineralizada superficial.

## DISCUSIÓN

La laserfluorescencia (LIF) es capaz de diferenciar el tejido dental sano del enfermo<sup>(21,22)</sup> incluso en la valoración del estado de la pulpa y ante una exposición pulpar.<sup>(22)</sup> En este sentido, la LIF Cuantitativa ha sido aplicada en la determinación del límite cavitario (LC). Sin embargo, la LIF cualitativa (LIF-CL) ha sido muy poco estudiada como método para determinar el LC, a pesar de ser un método objetivo, reproducible y que explora la totalidad de la dentina. Por ello se considera la pertinencia de este estudio.

Los resultados de la LIF-450 nm muestran escasa frecuencia para la categoría de colores blanco-gris-negro; para esta categoría, el fabricante no hace indicaciones sobre su aplicación.

En nuestro estudio, estos colores, se relacionan con las capas de la dentina recuperable, pero su baja frecuencia implica que estos resultados no sean concluyentes y sólo diremos que cuando aparezcan, serán otras pruebas las que nos guiarán en el diagnóstico. Respecto al resto de categorías de colores

concuerdan con el fabricante: verde/naranja/rojo. Sin embargo, en la interpretación del color amarillo-naranja no se relaciona con dentina No recuperable, como hace el fabricante, por el contrario, está asociado a dentina Recuperable y no debe ser eliminada. Los valores de especificidad (Sp), contemplando la categoría verde-naranja como sano son de 0,96 y el valor pronóstico negativo (VP-) de 0,85. Con estos datos se puede afirmar que ante una LIF-450 nm verde-naranja la dentina no debe ser eliminada, pues corresponde a dentina hipermineralizada o dentina profunda desmineralizada.

Ambas capas de dentina tienen pocas bacterias, por ello esta categoría se relaciona con la ausencia o con pequeña cantidad de bacterias. No obstante, esta prueba debe ser acompañada de la exploración de la dureza clínica ya que nos informa del grado de desmineralización de la dentina. Por ello, ante una dentina correosa, pero dentro de esta categoría de color con LIF-450 nm se puede tener más probabilidades de que se esté dejando dentina recuperable. No se puede decir lo mismo respecto a la categoría rojo, ya que la sensibilidad es muy baja (0,40). Sin embargo, el VP+ es de 0,75 que es alto, pero no aceptable. En Ciencias de la Salud que el valor debe ser  $\geq 0,8$  para ser aplicable. Por ello, ante un resultado en la categoría rojo podemos estar ante un tejido enfermo, pero en este aspecto esta prueba no es concluyente.

En relación a los conceptos de sensibilidad y especificidad, estos 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 no puede ser abordado el problema en sola dirección. Por medio de los VP+/- se completa la Validez de la prueba.

La LIF-405 nm muestra escala de colores diferentes que para la LIF-450 nm. La categoría verde-naranja debe ser interpretada como dentina recuperable, al igual que para la LIF-450 nm; sin embargo el color rojo no se alinea con la dentina no recuperable. En el caso del Siroinspect® (SI) el rojo puede ser dentina recuperable y en el caso del Vistaproof® (VF) no es una categoría de color discriminativa y estos resultados deben ser excluidos del diagnóstico, lo que representó en nuestro estudio un 25 % de los resultados, por lo que es un inconveniente para este aparato.

Para la LIF-405 nm el color rojo vivo es el que se corresponde con el tejido dentinario no recuperable, independientemente del sistema utilizado. Con estos antecedentes, se puede afirmar que las recomendaciones del fabricante para el uso de la LIF-CL no se corresponden con los resultados de este estudio, sobre todo para la dentina no recuperable.

Respecto a la sensibilidad la LIF-405 nm son más sensibles que la LIF-450, aunque no alcanzaron el 0,8. No obstante, el VP+ es de 0,81 para el SI® y de 0,9 para el VF®. Así ante un valor rojo vivo se puede estar muy probablemente ante dentina no recuperable. La especificidad es muy alta, tanto para el SI® (Sp=0,95) como para el VF® (Sp=0,98); con unos valores VP- de 0,86 y 0,92, respectivamente. Con lo que,

ante un resultado de esta categoría de color asociada a dentina recuperable, con toda probabilidad estaremos ante ella.

Así, la LIF-405 nm en asociación con la dureza clínica puede ser de gran ayuda en el diagnóstico del LC. Una dentina blanda debe ser eliminada siempre, aunque la LIF-405 nm no muestre color rojo vivo. Hay que tener en cuenta que la LIF detecta el metabolismo bacteriano y en una capa necrótica no se tiene esta actividad. Ante una dentina correosa, con las salvedades para los Rojos Apagados, puede ser conservada en el caso de verde-anaranjado y eliminada con la presencia de rojo vivo. La dentina dura debe ser conservada siempre. En el caso de dentinas teñidas la LIF-CL positiva no debe ser interpretada como enfermedad, ya que existe una fuente de dentina no cariogénica.

En esta investigación nos hemos planteado, a pesar de ser la LIF-CL una prueba bastante objetiva, eliminar la subjetividad interpretativa de los colores y para ello hemos analizado el color en el Sistema CIE  $L^*a^*b^*$ , pudiendo convertir esta prueba en cuantitativa. Para LIF-450 nm, la variable  $L^*$  tiene capacidad para discriminar entre dentina Recuperable/No recuperable; valores  $\geq 60$  de media estarían en dentina desmineralizada profunda o dentina hipermineralizada, sin poder diferenciar entre ellas; y valores  $\leq 51$  corresponderían a dentina desmineralizada superficial. Para la variable  $b^*$  se obtienen resultados similares, pero con valores  $\geq 25$  para dentina recuperable y para valores  $\leq 17$  para dentina no recuperable. Estos resultados coinciden con los obtenidos dentro de esta línea de investigación<sup>(23)</sup> en relación a la capacidad de esta LIF para el diagnóstico del LC.

Respecto a la LIF-405 nm, no solo discrimina entre dentina Recuperable/No recuperable, sino que lo hace entre las capas del límite cavitario con las variables  $L^*$  y  $a^*$ . Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en otro estudio<sup>(23)</sup> de esta línea de investigación, donde esta LIF-405 nm obtiene resultados similares en cuanto a la diferenciación entre capas con las variables cualitativas del color. En este caso, la variable  $L^*$  con valores  $\geq 58$  estaríamos en dentina profunda desmineralizada o hipermineralizada y con valores  $\leq 48$  estaríamos en dentina superficial desmineralizada. Para la variable  $a^*$ , valores  $\leq 10$  indicarían dentina Recuperable y valores  $\geq 30$  estarían asociados a dentina No recuperable.

Con las limitaciones que presentan los estudios *in vitro* para su extrapolación clínica y, a la falta de estudios confirmatorios, hay que ser cauteloso con estos resultados. Sin embargo, estamos convencidos que para la aplicación de los nuevos conceptos en cuanto a la dentina que hay que eliminar, la laserfluorescencia debe ocupar un papel relevante en el diagnóstico. A expensas de descartar las fuentes de fluorescencia no cariogénica es la única prueba que detecta la presencia de bacterias, explora toda la cavidad y es más objetiva que la dureza clínica. No obstante, debe ser aplicada como coadyuvante de esta.

## CONCLUSIONES

Los colores recomendados por el fabricante no coinciden con el mejor diagnóstico para la dentina del límite cavitario, por lo que es necesario una recodificación de la escala. La LIF a 450 nm es muy específica, ante una coloración verde-naranja de la dentina, esta no debe ser eliminada pues corresponde a dentina

hipermineralizada o dentina profunda desmineralizada. La coloración roja no es específica de la dentina no recuperable. La LIF a 405 nm con colores de la dentina verde-naranja, indica que esta debe ser conservada. Sin embargo, con color rojo vivo debe ser eliminada, ya que el valor predictivo de estas pruebas es muy alto, y los colores rosa-rojo poco luminosos no son discriminativos.

La LIF 450 nm y 405 nm con las variables de color CIE L\*ab discriminan entre dentina recuperable y no recuperable. La LIF a 405 nm, incluso puede diferenciar las capas que conforman el límite cavitario. Los nuevos conceptos relacionados con la dentina que hay que eliminar hacen que la laserfluorescencia ocupe un papel relevante en este diagnóstico, a expensas de descartar las fuentes de fluorescencia no cariogena.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Henostroza G. Caries Dental, principios y procedimientos para el diagnóstico. 1ed. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2007.
2. Harris Norman O. Odontología preventiva primaria México México: Manual moderno; 2001.
3. Costerton J. Overview of microbial biofilms. J Ind Microbiol. 1995; 15:137-140. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf01569816>
4. Scheie A, Petersen F. The biofilm concept: consequences for future prophylaxis of oral diseases. Crit Rev Oral Biol Med. 2004; 15: 4-12. DOI: <https://doi.org/10.1177/154411130401500102>
5. Figueroa-Gordon M, Acevedo A, Alonso G. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de Caries dental. Acta Odonto Venez. 2009; 47: 1-13. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0001-63652009000100026&script=sci\\_abstract](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0001-63652009000100026&script=sci_abstract)
6. Van Houte J, Jordan H V, Laraway R, Kent R, Soparkar PM, Paola PF. Association of the microbial flora of dental plaque and saliva with human root-surface caries. J Dent Res. 1990; 69(8): 1463-8. DOI: <https://doi.org/10.1177/00220345900690080301>
7. Becker M, Paster BJ, Leys EL, et al. Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. J Clin Microbiol. 2002; 40:1001-1009. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.40.3.1001-1009.2002>
8. Byun R, Nadkarni M, Chhour K, Martin F, Jacques N, Hunter N. Quantitative Analysis of Diverse Lactobacillus Species Present in Advanced Dental Caries. J Clin Microbiol. 2004; 7:3128-3136. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.42.7.3128-3136.2004>
9. Lanata E. Operatoria dental: estética y adhesión. 2ª ed. Buenos Aires: Grupo Guía; 2003.
10. Kidd EA, Joyston-Bechal S, Beighton D. The use of a caries detector dye during cavity preparation: a microbiological assessment. Br Dent J. 1993; 174(7): 245-8. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4808142>
11. Banerjee A, Watson TF, Kidd EA. Dentine caries excavation: a review of current clinical techniques. Br Dent J. 2000; 188(9): 476-82. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4800515>
12. Kidd E, Ricketts D, Beighton D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. Br Dent J. 1996; 180:287-291. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4809066>



13. Veitía L, Acevedo A, Rojas F. Métodos convencionales y no convencionales para la detección de lesión inicial de caries, revisión bibliográfica. *Acta Odontológica Venezolana*. 2011; 49(2): 1-10. Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/edicion/es/2011/2/art-22/>
14. 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. Disponible en: <https://personal.us.es/segurajj/documentos/CV-Art-Sin%20JCR/2016-Endodoncia%20-Caries-Herrera.pdf>
15. Innes N, 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. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034516639276>
16. Fusayama T. Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. *Oper Dent*. 1979; 4: 63-70. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/296808/>
17. Martínez R, Suárez C, Suárez F, Gonzales F. Técnicas de diagnóstico de la caries dental. *Boletín de la sociedad de Pediatría de Asturias*. 2006;(46): 23-31. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-044162?lang=es>
18. Kidd E. How “clean” must a cavity be before restoration? *Caries Res*. 2004; 38: 305–313. DOI: <https://doi.org/10.1159/000077770>
19. Margulis D. *Photoshop Lab Color: The Canyon Conundrum and Other Adventures in the Most Powerful Colorspace*. 1 ed. Peachpit Pr; 2006
20. Labs H. *Hunter Lab Color Scale. Insight on Color*; 1996.
21. Abalos 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(2):137–41. DOI: <https://doi.org/10.1159/000209347>
22. Abalos C, Mendoza A, Jimenez-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(1):44–8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22558692/>
23. Gil-Bermejo C. Validez y Seguridad de la Dureza Clínica vs Láserfluorescencia a  $\lambda=655\text{nm}$ ,  $450\text{nm}$  y  $405\text{nm}$  en el diagnóstico del Límite Cavitario: un estudio ex vivo con marcadores de ADN. [TFM] us. [Tesis de Maestría]. Sevilla: Universidad de Sevilla; 2018. Disponible en: <https://hdl.handle.net/11441/78530>

**Declaración de conflicto de intereses:**

El autor declara que no existen conflictos de intereses.

**Financiación:**

El autor no recibió financiación para el desarrollo de este artículo.

