

APLICACIÓN DEL HAZ IÓNICO FOCALIZADO PARA LA OBSERVACIÓN DE MUESTRAS ODONTOLÓGICAS CON MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

R.J Scougall-Vilchis¹, R. García-Contreras¹, U. Velázquez-Enríquez¹, C.M. Zamudio-Ortega¹, J.C. González-Pérez¹, M. Nagayama², Y. Hotta².

¹Facultad de Odontología, CIEAO, UAEM, Toluca, Edo.de Méx., C.P.50120, MÉXICO.

²Faculta de Odontología, Universidad de ASAHI, 501-0296, Gifu, JAPÓN.

E-mails: rogelio_scougall@hotmail.com
rscougally@uaem.mx

INTRODUCCIÓN

En odontología al igual que en diversas ramas de la medicina, el microscopio electrónico de barrido (MEB) es una herramienta muy útil para observar la morfología de las superficies y los efectos producidos en los diferentes tejidos ^[1,2]. Sin embargo, procedimientos adicionales son requeridos para observar las interfaces existentes tanto a nivel dental, como aquellas formadas entre el órgano dentario y los materiales dentales. En este contexto, los cortes transversales realizados mecánicamente con bandas o discos de diamante a muy baja velocidad y con irrigación de agua es el procedimiento más utilizado y también el más reportado en la literatura relevante. Desafortunadamente, el corte mecánico puede producir efectos indeseables y micro-fracturas a nivel de la interface que se desea observar (figura 1). Por otra parte, el sistema de haz iónico focalizado (HIF), además de ser comúnmente utilizado para realizar la técnica de seccionamiento transversal y analizar las fallas de los dispositivos semiconductores, también ha demostrado ser de utilidad en la preparación de las muestras biológicas ^[3-5]. La pulverización con el HIF es rutinariamente utilizada en aplicaciones de microscopía y se ha reportado que produce un corte preciso sin daño detectable en la muestra (menor a 10nm) ^[3]. La pulverización con el HIF ha mostrado muchas ventajas en la preparación de especímenes con tejidos mineralizados como la dentina y el esmalte, este procedimiento reduce significativamente el tiempo de preparación y permite posicionar las muestras para realizar los cortes con alta exactitud (figura 2). El uso del HIF elimina los daños artificiales producidos por cualquier tipo de seccionamiento mecánico ^[5,6]. En este trabajo se describe de manera clara y concisa las aplicaciones del HIF para la preparación de muestras biológicas de tipo dental previa a la observación con un MEB.

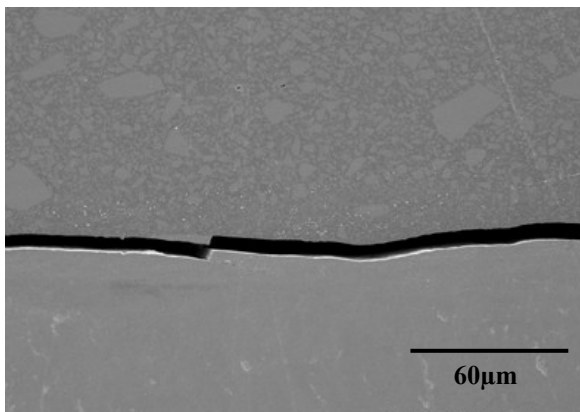


Figura 1. Imagen representativa de la interface esmalte-resina compuesta, posterior al corte transversal realizado con un disco de diamante a baja velocidad y vista con un MEB. Nótese la indeseable separación entre ambos materiales producido por el corte mecánico. Magnificación original X 500.



Figura 2. El sistema de HIF además de contar con un microscopio iónico de barrido, posee una pantalla accesoria para visualizar y posicionar las muestras.

METODOLOGÍA

Órganos dentarios de tipo premolar fueron recolectados y almacenados en una solución de timol al 0.2% (wt/vol). Dichos dientes estaban en excelentes condiciones porque fueron extraídos en pacientes jóvenes por razones ortodóncicas. Los dientes fueron pulidos con una copa de hule y pasta profiláctica libre de flúor, lavados y secados con aire comprimido libre de contaminación. El esmalte fue acondicionado con ácido fosfórico al 37% durante 15 segundos, lavado y secado. Brackets de acero inoxidable fueron adheridos con resina compuesta fotopolimerizable de prescripción ortodóncica. Acto seguido, las muestras fueron almacenadas en agua bidestilada a temperatura ambiente durante una semana. Los dientes fueron montados en porta-especímenes de aluminio, recubiertos con osmio por 10 segundos (HPC-1S, Vacuum Device Inc., Japón), cortados con el HIF (FB-2100, Hitachi Co. Ltd., Japón) y observados con dos MEB (S-4500 y S-4800, Hitachi Co.).

RESULTADOS

En la figura 3 se observa el mecanismo de acción del HIF para la preparación de las muestras tanto al momento de realizar el corte, así como también los residuos producidos. Desde otra perspectiva, la figura 4A ilustra un espécimen a baja magnificación inmediatamente después de que el órgano dentario fue tratado con el HIF. Finalmente, en la figura 4B se muestra la imagen correspondiente de la interface diente-adhesivo a gran magnificación, la cual brinda resultados altamente satisfactorios que no pueden ser comparados con aquellos obtenidos mediante los métodos convencionales de seccionamiento mecánico, similares a aquellos utilizados en el espécimen de la figura 1.

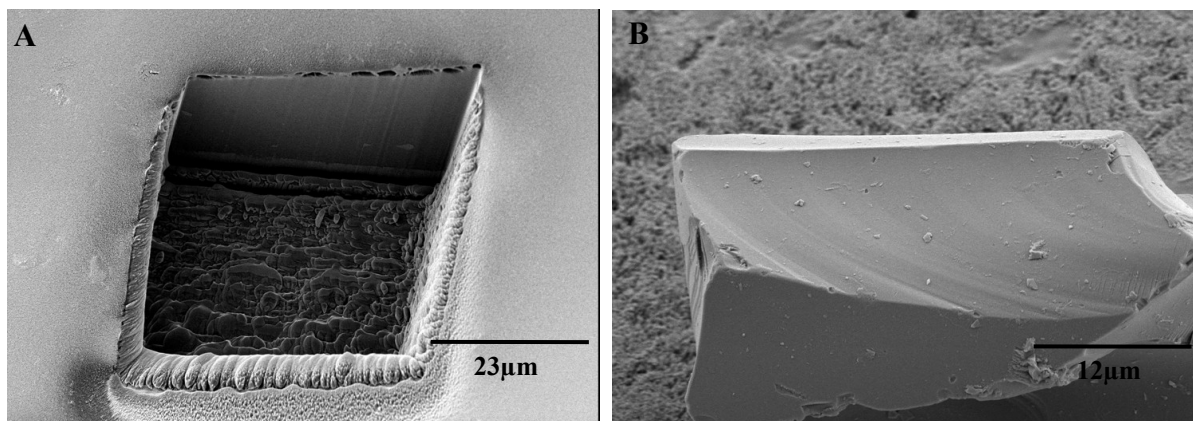


Figura 3. A) Micrografía electrónica de barrido del espécimen seccionado con el HIF. Magnificación original X 1300. B) El sistema de HIF después de realizar los cortes puede depositar los residuos en lugares indistintos del espécimen, por lo cual se recomienda a los investigadores identificar con cautela dichos remanentes. Magnificación original X 2500.

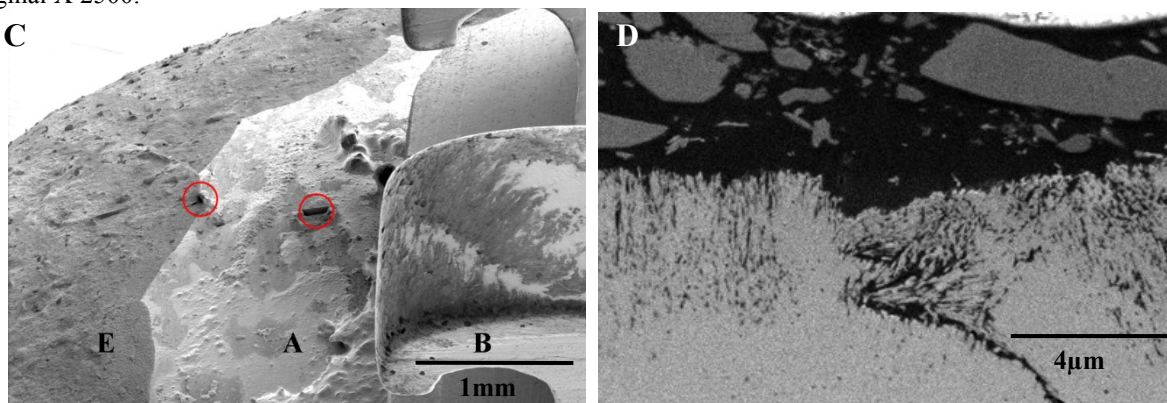
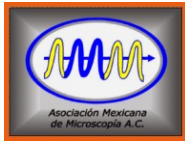


Figura 4. C) Imagen de un espécimen observado con un MEB en el cual se aprecian: los cortes realizados con el HIF (círculos de color rojo), el esmalte (E), el adhesivo (A) y el bracket (B). Magnificación original X 50. D) Vista de la interface esmalte-resina compuesta con el MEB. El corte con el HIF permite la observación clara de la unión



entre el diente y el adhesivo, además los efectos producidos por el ácido fosfórico en el esmalte son fácilmente identificados, compare la imagen con la figura 1. Magnificación original X 13000.

CONCLUSIONES

El haz iónico focalizado es una herramienta muy efectiva que no produce daños artificiales durante su aplicación para la preparación de muestras biológicas de tipo odontológico, lo cual ofrece la gran ventaja de realizar una mejor observación de las interfaces dentales con microscopía electrónica de barrido.

Agradecimientos

Los autores agradecen profundamente a los señores Kouichi Kurosawa, Akinari Morikawa, Toru Kumazawa y Yukari Dan de los laboratorios de alta tecnología de la compañía Hitachi, por su valiosa ayuda para la realización del presente estudio.

REFERENCIAS

- [1] Scougall-Vilchis RJ, Yamamoto S, Kitai N, Hotta M, Yamamoto K. Dent Mater J 26 (2007) 45-51.
- [2] Fjeld M, Øgaard B. Am J Orthod Dentofacial Orthop 130 (2006) 575-81.
- [3] Van Meerbeek B, Corn LJr, Duke ES, Schraub D, Ghafghaichi. Dent Mater 11 (1995) 87-92.
- [4] Drobne D, Milani M, Zrimec A, Leser V, Berden Zrimec M. J Microsc 219 (2005) 29-35.
- [5] Scougall-Vilchis RJ, Hotta Y, Yamamoto K. Am J Orthod Dentofacial Orthop 131 (2007) 646-650.
- [6] Nalla RK, Porter AE, Daraio C, Minor AM, Radmilovic V, Stach EA, Tomsia AP. Micron 36 (2005) 672-80.