

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

ESTUDIO MICROSCOPICO DE LA PLACA BACTERIANA CON DIFERENTES

SISTEMAS OPTICOS

T E S I S

QUE PRESENTA: MARIA MARICELA SEGURA GAMEZ

PARA OPTAR POR EL TITULO DE MEDICO CIRUJANO DENTISTA

1 9 8 9

*Vo. Bs.*  
*Miguel P...*

MEXICO, D.F., CIUDAD UNIVERSITARIA





## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

Prefacio	
Dedicatorias	
Agradecimientos	
Introducción	I
Justificación del Tema	5
Antecedentes históricos de la placa dental y su relación con las enfermedades parodontales.	9
Los diferentes Sistemas Opticos y la Ecología Oral	15
Material y Método	33
Resultados	39
Ilustraciones	48
Conclusiones	60
Discusión	63
Resumen	66
Bibliografía	68

## INTRODUCCION

La cavidad oral del hombre debe considerarse como un ecosistema, ya que de acuerdo con sus características constituye el medio ambiente adecuado para el desarrollo y proliferación de una flora y fauna propia; los gérmenes del entorno al hombre se introducen y albergan en la cavidad bucal, desarrollándose una flora bacteriana -- propia de cada persona, en cuanto a los microorganismos que se han encontrado en la boca del hombre como, Entamoeba gingivalis, este protozooario de carácter comensal habita en la boca de muchos pacientes, con carácter de relación biológica de comensal y de efecto inócua. Así encontramos que la cavidad oral humana tiene carácter de Sistema Ecológico al cual le denominaríamos ECOSISTEMA ORAL HUMANO.

La boca del hombre está en contacto con su medio ambiente, que es rico en gérmenes bacterianos de tipo saprófito, aún cuando - existan gérmenes nocivos, las primeras barreras, que se encuentran a esta invasión lo constituyen el anillo de Waldeller y la cadena ganglionar oral.

Sin embargo a pesar de que la boca que constituye parte del aparato digestivo tiene contacto continuo con el exterior, en donde se

encuentran gran cantidad de gérmenes y junto con condiciones que favorecen para la entrada y desarrollo de microorganismos.

Por otro lado la cavidad oral constituye la entrada de alimentos ricos en sustancias nutritivas que se depositan entre las piezas dentarias; en donde constituyen una fuente de energía rica en carbohidratos, que junto con la saliva se realiza la fermentación de estos hidratos de carbono, otros factores que hacen el medio adecuado para el desarrollo de microorganismos. La temperatura de la cavidad oral, el pH, la entrada y salida de gases, la humedad, la descamación epitelial del epitelio bucal, la dieta alimenticia de los pacientes, hábitos de limpieza bucal, tipo y tiempo de masticación durante las comidas, los tipos de focetas y fisuras de las piezas dentarias, la forma de la encía constituyen un magnífico reservorio de gérmenes bacterianos. Todos estos factores y otros más constituyen el medio nutritivo idóneo para el desarrollo de una ECOLOGIA ORAL.

La dentadura es parte del aparato digestivo que posee su propia flora bacteriana, considerando que estas piezas dentarias constituyen órganos que tienen una autonomía, independencia e individualidad capaz de dar una reacción, debido a su constitución histológica, las piezas dentarias constituyen una entidad orgánica que es susceptible de afectar de muchas formas, a pesar de que tiene capas de recubrimiento está constituido del material más duro que se encuentra en

la naturaleza del ser humano, los factores que antes citamos tienen un orden de importancia; analizando una pieza dentaria y de acuerdo con su naturaleza calcarea y sus cargas eléctricas comienza la adhesión de gérmenes que junto con las condiciones ecológicas se favorece la formación de placa dental.

Al realizar una muestra de placa dental de una persona al azar nos brinda la magnífica oportunidad de estudiar todos los componentes que constituyen la flora y fauna bacteriana de la Ecología Oral, al microscopio en estas muestras encontramos, una gran cantidad de gérmenes bacterianos de diferentes especies; pero también hay que considerar la participación del cuerpo humano, en estas muestras, aparecen células que proceden todo un proceso biológico oral, por citar algunas células procedentes de la descamación epitelial, leucocitos que salen a través de los vasos que nutren los tejidos orales, de estos leucocitos se les encuentran en diferentes fases de lesión dependiendo del estado de salud del paciente, de los hábitos de limpieza y otros factores más.

En esta muestra se observa en una cámara húmeda, para estudiar los componentes del Ecosistema Oral Humano.

Durante el estudio del comportamiento de la placa se han podido observar muchos mecanismos relacionados con su ecología en donde influyen sitios ambientales como son: fisuras, bordes gingiva-

les del diente, y sitios de estancamiento, es decir sitios de adaptación de los microorganismos en donde se establecen fenómenos de distribución, adherencia, colonización y selección de un nicho o un habitat.

El análisis que se puede hacer al microscopio utilizando los diferentes Sistemas Opticos seleccionando el más conveniente en el estudio de la materia viva, descubriendo imágenes diferentes a lo ya conocido son un magnífico modelo biológico para estudiar la placa bacteriana oral. Encontrando una belleza armónica de los diferentes componentes que lo constituyen.

## JUSTIFICACION DEL TEMA

Durante el tiempo que asistí a la Clínica Periférica de la UNAM, ubicada en la Delegación Política de Milpa Alta D.F., observé una serie de hechos que en ese momento me parecieron contradictorios, atendí a varios pacientes procedentes de las zonas aledañas a esta Clínica, éstos tenían como común denominador que predominaba la gente de escasos recursos económicos y un alto grado de ignorancia.

La mayoría de los pacientes padecían enfermedades parodontales algunas agudas y otras con carácter crónico.

En esta comunidad atendí a algunos pacientes de edad avanzada que conservaban la mayor parte de su dentadura sin caries, las escasas piezas dentarias que se les habían extraído fueron probables causas de tipo traumático. Al interrogar a estos pacientes sobre -- sus hábitos de limpieza bucal, en su gran mayoría eran escasos o nulos y de hábitos alimenticios muy diversos. Contrastando con hechos totalmente contradictorios, al atender a los pacientes de escasa edad en su mayoría niños con dentición mixta, su índice de caries era muy elevado, con una placa dental bien desarrollada, lo que originó la demanda de profilaxis, técnica de cepillado y control de placa en los pa

cientes que asistían a este Centro Odontológico.

Este hecho me pareció contradictorio y no encontré una explicación satisfactoria. Me plantié la posibilidad de avocarme a este problema dental y se me ocurrió, elegir a un paciente de sexo masculino, edad 17 años, índice de placa mínimo, tipo de articulación clase I, al paciente se le pidió que se abstuviera de usar cepillo e hilo dental por tres semanas, lo cual nos permitió realizar estudios y observaciones del comportamiento de su placa dental, que más adelante explicaremos con detalle.

Por otro lado, es bien sabido que, las enfermedades periodontales y la caries son menos frecuentes en los grupos humanos que consumen alimentos naturales de poco procesamiento culinario o -- prácticamente crudos, en donde se requiere de una masticación más enérgica. Los movimientos masticatorios y la textura fibrosa de los alimentos eliminan el factor de estancamiento, en cambio en pacientes que consumen una dieta blanda, rica en carbohidratos predispone a la caries y favorece la formación de la placa bacteriana dental.

Los microorganismos de la placa aumentan con el inicio de la gingivitis crónica y de la caries.

Todo lo que intensifique la acumulación bacteriana en el borde gingival, predispone a la periodontitis primero aguda y después crónica.

Los factores que intervienen son: la mala oclusión, restauraciones muy amplias con bordes deficientes, aparatos protésicos, ortodónticos, cambios hormonales, como los que se presentan en el embarazo, tratamiento de anticonceptivos, características hereditarias, diabetes mellitus, hábitos alimenticios, mala, escasa o nula - higiene bucal.

En el presente trabajo intentaremos visualizar las características de la ecología bucal aplicando los diferentes sistemas ópticos modernos tales como: Campo Oscuro, Luz Polarizada, el Contraste de Fases, Interferencia Policromática de la Luz, el Contraste Diferencial de Interferencias y la Fluorescencia.

Todos estos sistemas ópticos además de darnos una información complementaria por separado y de conjunto, nos muestran el amplio panorama del mundo microbiológico de la ecología oral, la -- información que se obtiene con esta microscopía contemporánea no solamente es descriptiva, sino que se puede hacer el análisis de las propiedades físicas de los diferentes componentes de la placa dental, tal es el caso de los cálculos dentarios, formación fundamental de - carbonato de calcio, el cual tiene actividad óptica al Campo de Luz - Polarizada, este Sistema Optico, nos informa el grado de antigüedad de estos precipitados, la actividad bacteriana, hábitos alimenticios del paciente, hábitos de higiene bucal, etc.

Todos los sistemas ópticos modernos nos dan la información más amplia comparada con la que estudia la microbiología clásica, - empleando las técnicas tradicionales y la observación al microscopio equipado en el sistema óptico de Campo Claro.

Con la aplicación de la microscopía actual se pueden hacer observaciones y registros fotográficos instantáneos y con el diagnóstico certero de material vivo, podría dar información más completa en el pronóstico y diagnóstico de la Parodontitis aguda y crónica, entre otros problemas odontológicos, tratando de prevenir y remediar todos estos males que aquejan a nuestros pacientes.

## Antecedentes históricos de la placa dental y su relación con las enfermedades parodontales

Los orígenes del estudio de la placa dental son muy inciertos no se sabe desde que época el hombre se interesó por estos problemas que aquejan su salud dental; sin embargo la primera nota que se tiene fue la observación que se hizo en el hombre de Chappelle-aux-Saints que vivió en la cultura paleolítica tardía del hombre de Neanderthal en el que se observó la resorción ósea característica de la parodontitis marginal.

Entre los antiguos egipcios hace más de 4000 años, parece ser que una de las enfermedades más comunes era la forma de parodontitis supurativa crónica. Los maxilares de las momias de este período presentan la pérdida de hueso relacionada con la parodontitis. (12).

El conocimiento de las enfermedades de los tejidos de revestimiento de los dientes no estaba limitado a las civilizaciones occidentales. La obra médica china más antigua conocida, elaborada por Hwang-Fi cerca de 2500 años A.C., clasificó a las enfermedades bucales en tres tipos; Fong ya, las condiciones inflamatorias, Ya Kon, las enfermedades de los tejidos blandos de revestimiento de los dien-

tes y Chong Ya, o caries dental.

Quizá la relación antigua más completa sobre las enfermedades del periodonto fue la que elaboró el médico árabe Rhazes (850-923) quien dedicó gran tiempo y cuidado al estudio de los dientes. Al-Fakkir, Rhazes incluye capítulos sobre las encías, supuración y sangrado de éstas.

Uno de sus contemporáneos Albucasis (963-1013) describe con realismo las enfermedades de las encías relacionadas con la acumulación de sarro. "Algunas veces sobre la superficie de los dientes tanto, por dentro como por fuera, así como bajo las encías se depositan escamas ásperas, de aspecto desagradable, y de color negro, verde o amarillo, así la corrupción se comunica con el tiempo denudado".

Aristóteles, desde tiempos remotos ya establecía una relación entre los depósitos blandos sobre los dientes y sus padecimientos e (1) Hipócrates describió enfermedades en las cuales "las encías eran despegadas de los dientes y oían mal".

Se conoce la existencia de los padecimientos bucales en la época prehispánica, gracias al testimonio de los cronistas, Fray Bernardino de Sahagún (1499-1590) Cruz Badiano (Códice 1552) Francisco Hernández (médico de cámara de Felipe II), quienes se refieren a las múltiples recetas y plantas medicinales empleadas para combatir la

"podredumbre de los dientes" (caries), y la halitosis, a la que se le daba especial importancia, ya que representaba un signo de cultura y refinamiento entre los antiguos mexicanos. (3).

Fray Bernardino de Sahagún informa que los indígenas empleaban la raíz de una planta llamada "Tlatlauhcapitli", que hacía las veces de cepillo dental, además de poseer propiedades astringentes, era utilizada para curar úlceras bucales, para blanquear sus dientes usaban el alumbre, el mal aliento lo combatían con enjuagues de flores perfumadas.

Por lo que se refiere al dolor de dientes e inflamación de la encía, este se calmaba "raspando bien las encías para limpiar la podredumbre" y aplicaban una mixtura de raíz de ortiga, completando el tratamiento con sal disuelta en agua, para hacer enjuagues bucales.

Para la inflamación de las encías "la hinchazón de las encías" se curaba con punzar la encía y aplicar encima un poco de sal frotando fuertemente con el dedo. (3).

En el siglo XVIII aparecieron varios autores.

El libro de Fauchard "La Chirurgien Dentiste" (El Cirujano - Dentista) escrito en 1723 y publicado en 1728, fue el primer compendio de conocimientos sobre diagnóstico y tratamiento de las enfermedades de los dientes y estructuras asociadas. Esta obra constituyó el libro de texto predominante por más de medio siglo.

Así para fines del siglo XVIII había evolucionado un sistema elemental de clasificación de las enfermedades de los tejidos de revestimiento.

Los efectos nocivos del sarro y su acumulación sobre los tejidos sanos de revestimiento se comprendieron mejor, lo que permitió a otros investigadores hacer mejores observaciones al respecto.

Al final del siglo XVIII y principio del siglo XIX Hunter observó que la acumulación de sarro conduce a la hinchazón, ulceración y sangrado de las encías así como la resorción del proceso alveolar con exfoliación de los dientes.

Al final del siglo XVIII Gottlieb y Fox contribuyeron a la nomenclatura y clasificación de las enfermedades periodontales, en el siglo XVIII Gottlieb, se consideró como el primer autor que hace la distinción clara entre las enfermedades que son el resultado principalmente de causas locales, tales como la acumulación de sarro y aquellas provocadas por factores sistémicos.

Siguiendo la trayectoria histórica de los depósitos dentales y su relación con las enfermedades periodontales en forma general, vemos que, científicos e investigadores en la materia continúan haciendo observaciones del comportamiento de los depósitos dentales; placa dental, ayudados por los avances de la tecnología actual, han desarrollado técnicas y métodos que les han permitido hacer estudios más -

profundos sobre diferentes aspectos de la placa dental.

Recientemente el estudio de la placa dental quedo en receso durante el principio de este siglo y es hasta la séptima década cuando surge el trabajo de E. Jacob y colaboradores, emplearon la técnica indirecta de anticuerpos fluorescentes, encontrando una respuesta positiva de la presencia de espiroquetas orales aneróbicas, en placa dental; la respuesta inmunológica fue específica, ya que con el empleo del microscopio equipado con el Sistema Optico de Campo Oscuro, observaron una gran cantidad de microorganismos propios de la placa dental, acompañando a las espiroquetas en la búsqueda de los espirilos se llevó a cabo explorando la placa dental subgingival.

Finalmente Loesche y Socransky, en 1962 emplearon la técnica de la membrana permeable, para aislar espiroquetas anaeróbicas orales, en placa subgingival obtenido de pacientes con periodontitis crónica, el crecimiento típico de espiroquetas cultivado en Agar y después observado en el microscopio equipado el Sistema Optico de Campo Oscuro. (5).

Posteriormente Newman y col. en 1979, estudiaron la presencia de inmunoglobulinas en la encía humana, fluido gingival y suero de placa dental, estos autores estudiaron la presencia y distribución de inmunofluorescencia en superficies proximales de dientes extraídos de niños con presencia de caries o por razones ortodónticas. (9).

Como podemos ver los estudios sobre la observación de placa dental son escasos y el empleo del microscopio cada día se hace más imprescindible, utilizando algunos Sistemas Opticos como el -- Campo Oscuro y la Fluorescencia.

## Los diferentes Sistemas Opticos y la Ecología Oral

La Microscopía, desde sus orígenes hasta la actualidad tiene muchas aplicaciones en las disciplinas biomédicas; tales como la Botánica, Zoología, Fitopatología, Patología Animal y Humana, Parasitología, Protozoología, Microbiología, Bacteriología, Citobiología, Histología, Biología del desarrollo, Hematología, Citogenética, Citoinmunología, Micropaleontología, Micología, Microecología y otras disciplinas más. En esta Tesis intentamos ampliar el panorama de las innovaciones que se han realizado en estudios de la Odontología -- Contemporánea; estudiando el aspecto microscópico de la ecología -- oral humana, utilizando los Sistemas Opticos que existen en la actualidad.

El Microscopio aparece en el panorama de la Ciencia como un instrumento artesanal, en un principio se combinan dos o más lentes para obtener una imagen ampliada, Ernesto Abbe en 1873 hombre de origen alemán, quien le dió característica de un instrumento científico de precisión construyendo el instrumento bajo lineamientos de cálculos físico-matemáticos, le dá las características científicas de precisión que tiene en la actualidad; posteriormente se le han agregado una serie de aditamentos especiales que en la época reciente, se

les denomina Sistemas Opticos Modernos. Los avances técnicos que se han logrado en este campo son numerosos y muy variables. Hoy - en día se ha sustituido la presencia del observador, por un sensor - electromagnético, como una cámara fotográfica, fotocinematográfica, videograbación y computadoras muy complejas. El microscopio debe considerarse como un instrumento óptico de precisión modulador de energía. El microscopio fotónico, maneja fotones como fuente de energía. A este microscopio fotónico se pueden agregar y combinar varios Sistemas Opticos, como el Campo Oscuro, la Luz Polarizada, el Contraste de Fases, la Interferencia Policromática de la Luz, según Jamín Lebedeff. El Contraste Diferencial de Interferencias según Normasky y la Fluorescencia Espectral a la Energía Ultravioleta y otros Sistemas más que aparecieron en las últimas décadas. Todos - estos Sistemas Opticos los empleamos en el presente trabajo para es tudiar las condiciones microecológicas de la cavidad oral.

#### Sistema Optico de Campo Oscuro

Después del Sistema Optico de Campo Claro apareció un ue vo y revolucionario aditamento, el condensador de Campo Oscuro al cual se le denominó "Ultramicroscopio" por sus propiedades de observar los espirilos del Treponema palidum agente causal de la sífilis, enfermedad vénerea que azotó a la humanidad al principio de este si-

glo, este germen es resistente a todas las tinciones y su presencia - fue difícil de observar en ese tiempo, se hicieron una cantidad de intentos por aclarar esta incógnita, utilizando colorante de contraste especiales como la nigrosina y la tinta china, pero con la que presentan estos agentes tintoreales, funcionan como medio de cultivo donde se desarrollaban otra especie de espiroquetas semejantes a los que causan la sífilis arrojando resultados falsos negativos y positivos, ya en porcentaje elevado en casos resultaron falsos positivos y no se po dfa confiar en el diagnóstico. En esa época apareció este Sistema -- Optico, al cual se le denominó Ultramicroscopio, ya que con pocos - aumentos se podía demostrar con gran facilidad la presencia o ausencia del agente causal de la sífilis. El principio físico de este Siste- ma Optico, se basa en la tindalización de la energía luminosa.

#### Sistema Optico de Luz Polarizada

La polarización de la luz, se basa en el bloqueo electromag- nético de la energía luminosa, cuando se cruzan dos polarizadores en un ángulo de 90 grados. Sin embargo cuando hay una substancia que es capaz de desviar este bloqueo electromagnético, se habla de una actividad óptica a la luz polarizada; en la naturaleza existen substan- cias que son activas a este fenómeno, tal como proteínas, carbohidra tos y lípidos y otros compuestos inorgánicos, en el caso del material

observado en este trabajo, lo constituyen los precipitados de calcio de la placa bacteriana que son activos al Campo de Luz Polarizada.

Cuando en sustancias como los depósitos que se encuentran en la superficie dentaria, "tártaro" tiene una marcada actividad óptica. En la naturaleza existen sustancias que son capaces de desviar la Luz Polarizada a la derecha o a la izquierda y se habla de una Dextrogoria y Levogiria.

El principio físico que se emplea para el Sistema Optico de Campo de Luz Polarizada, se realiza agregando dos filtros polarizadores, el primero colocado entre el objetivo y el ocular y el segundo polarizador o analizador entre la fuente de energía y el condensador.

#### La Interferencia Policromática de la Luz

Según Jamín-Lebedeff, el Sistema Optico de la Interferencia Policromática de la Luz, se basa en el principio físico de la descomposición cromática del espectro luminoso, formado por los 7 colores de la luz blanca, por medio de dos placas de feldespato, una se localiza en el condensador y otra en el objetivo, cuando la energía luminosa atraviesa la preparación con material biológico, los diferentes índices de refracción que tiene la materia viva absorben parte de la energía luminosa y otra parte la dejan pasar manifestándose así una

imagen policroma, que ninguna técnica tintoreal es capaz de colorear con tonos y colores muy variados. El manejo del haz luminoso se -- refuerza con la presencia de dos polarizadores y una placa de cuarzo que retarda  $\frac{1}{4}$  de longitud de onda. Este Sistema Optico junto con el Contraste de Fases, constituyen los mejores medios para estudiar la materia viva en toda su plenitud sin lesionarla, los cambios de densidad y el índice de refracción las registra con gran facilidad, proporcionando colores vivos y espectaculares de la materia viva, empleando la fórmula matemática se pueden hacer estudios analíticos de material biológico, tal como el de determinar, el peso de un núcleo, de un cromosoma y de un organelo, ya que nos informa de la densidad - de la materia viva y en forma indirecta se pueden realizar estas determinaciones.

#### Sistema Optico de Contraste de Fases

El Sistema Optico de Contraste de Fases se utiliza para estudiar la materia viva, tiene la propiedad de discriminar diferentes y diversos índices de refracción, densidades, se considera como el mejor refractómetro. El principio físico de éste consiste en el retardo y defasación de  $\frac{1}{4}$  de longitud de onda en la marcha de la energía luminosa. Este Sistema fue inventado por F. von Zernike en 1930 y más

tarde fue galardonado con el Premio Nobel. La primera imagen que se obtuvo con el Sistema Optico fue en 1932. Los aditamentos que son necesarios en el centrado y alineación del Sistema, lo constituyen los cambios en la marcha de la energía fotónica, en el condensador y objetivo existen un par de anillos de diferente índice de refracción que deben ser concéntricos y coincidir utilizando un condensador especial el cual se le denomina condensador variable para Contraste de Fases, existen dos tipos de condensadores especiales, el de Zernike, que es variable tiene la posibilidad de ser utilizado con varios objetivos 10X, 16X, 25X, 40X, 100X. En cambio hay otro condensador único concéntrico, al cual se le denomina de Heine, este aditamento tiene la posibilidad de ser utilizado con todos los objetivos; los condensadores y objetivos son especiales para Contraste de Fases y deben coincidir durante el manejo de este Sistema Optico, es necesario el empleo de un filtro monocromático verde dejando pasar una longitud de onda de 5460 Angstroms longitud, a la cual esta calculada esta óptica.

En la actualidad los estudios de Citobiología no se conciben sin contar con imágenes de la célula viva, analizada y fotografiada en este Sistema Optico existen; disciplinas especializadas con la Protozoología y Parasitología, la Biología Celular Dinámica y otras más, que su identificación, diagnóstico y estudio dependen de este Sistema

Optico. Ya que para estudiar y analizar los diferentes índices de refracción y densidades que se encuentran en la materia viva, este Sistema Optico permite estudiar la subestructura celular.

### Contraste Diferencial de Interferencias

El Sistema Optico de Contraste Diferencial de Interferencias según Nomarski, es uno de los Sistemas Opticos más recientes dentro de la Microscopía Fotónica, los resultados que se obtienen con esta técnica son extraordinarios, ya que la energía luminosa la maneja de tal forma que nos dá una sensación de volumen, rastreando y estudiando los relieves citológicos, informándonos de la topografía celular.

El principio físico consiste que el haz luminoso que sale del colimador pasa por el centro del microscopio se ve desviado por una cuña de Wollestone, la cual se encuentra colocada en la mitad del condensador y la otra mitad en el objetivo, separando el haz luminoso en dos partes iguales, al llegar a la preparación los rayos luminosos que inciden son tangenciales, separando la imagen que se manifiesta a la salida del ocular como una figura de relieve, proporcionando información del volumen de los objetos de la preparación.

En la actualidad el uso y empleo de este Sistema Optico reciente tiene un gran porvenir ya que su aplicación en el estudio de las

disciplinas morfológicas es esencial, su difusión es poco conocida y prácticamente se conocen pocas imágenes en el empleo de este Sistema Optico.

### La Fluorescencia como método biofísico

Entre las técnicas actuales para la investigación básica, encontramos la Fluorescencia Espectral, como método biofísico que nos pone de manifiesto la presencia de sustancias químicas de origen biológico, susceptibles de distinguirse y algunas veces identificarse por sus propiedades físico-químicas.

El principio físico de la Fluorescencia consiste en la reemisión espectral de la energía ultravioleta, que al incidir sobre un objeto fluorescente se modifican; parte de la energía es absorbida por el mismo objeto, el resto cambia a una longitud mayor que queda comprendida dentro del espectro visible de la luz visible y sigue la marcha del rayo en el microscopio. En tal reemisión energética se observan selectivamente los colores que van desde el azul hasta el rojo, pasando por el verde, amarillo y anaranjado.

En el Sistema Optico de Fluorescencia se emplea como fuente luminosa la lámpara de ionización que gasifica elementos metálicos o metaloides cuya emanación energética es rica en rayos ultravioleta.

Para purificar estos rayos, se emplean filtros de excitación, que seleccionan el paso de los rayos luminosos del espectro visible, como complemento del sistema óptico también se emplean filtros de selección que contrastan la Fluorescencia.

La Fluorescencia que se observa en células y tejidos, puede ser natural o inducida. La primera también llamada autofluorescencia, la cual existe en la naturaleza en algunas sustancias, como glucoproteínas, glucolípidos, catecolaminas, antibióticos, vitamina A, celulosa, pigmentos de origen vegetal como carotenos, xantófilas, clorofilas, etc. etc., que al observarse directamente con este Sistema Óptico se hacen visibles con facilidad por la reemisión espectral de la energía ultravioleta, produciendo colores específicos. La Fluorescencia inducida o secundaria se muestra, al utilizar colorantes fluorescentes o fluorocromos, que ejercen acción selectivamente sobre estructuras celulares que no poseen fluorescencia propia.

Entre los fluorocromos más comunmente usados se encuentran la auramina, el rojo y anaranjado de acridina, la floxina, la rodamina, la fluorosceína, la barberina, la parafenildiamina, etc. Estos fluorocromos diluidos pueden emplearse como colorantes supravitales.

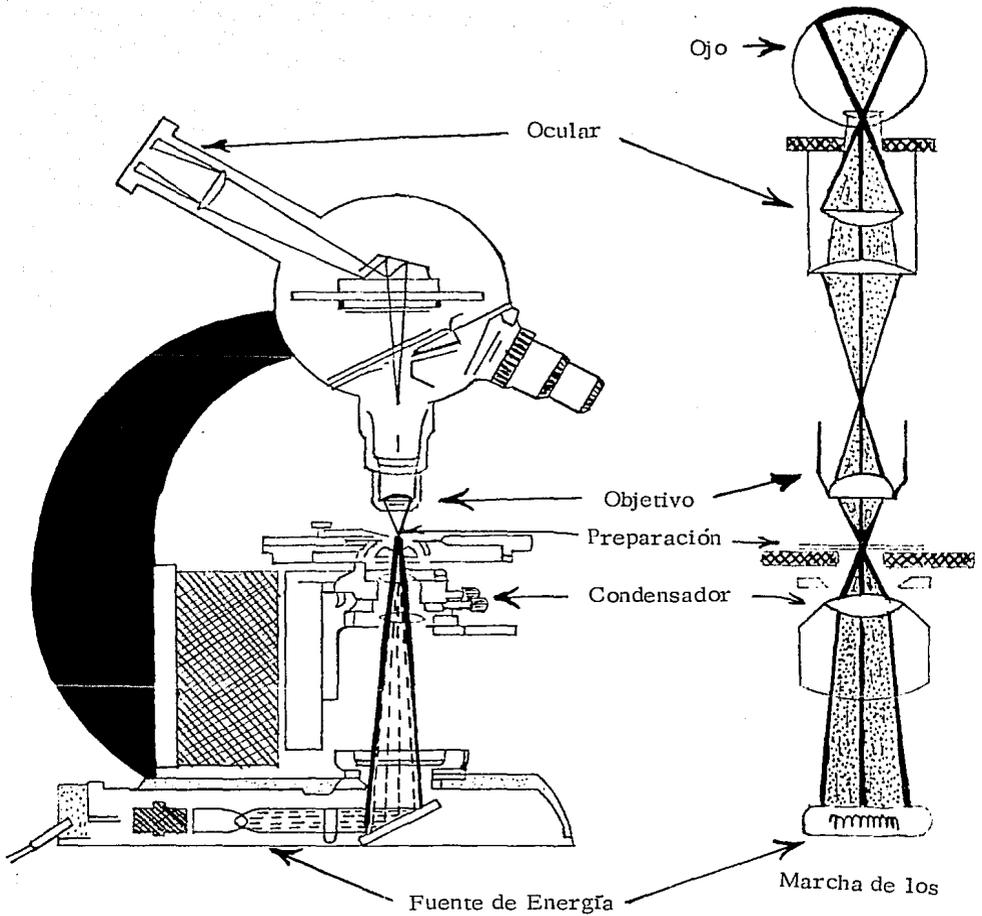
En este trabajo se empleó anaranjado de acridina para poner en evidencia los gérmenes de la placa en fluorescencia.

En los últimos años, la fluorescencia ha dado origen a la especialidad denominada Inmunofluorescencia. En este método se junta la elevada sensibilidad de identificación de la Fluorescencia y la especificidad serológica de los anticuerpos susceptibles de marcarse con -- fluorocromos. La unión del antígeno y el anticuerpo marcado se pueden reconocer morfológicamente en células y tejidos con el Sistema Optico de Fluorescencia.

Como hemos analizado la aplicación de todos estos Sistemas Opticos Modernos tienen múltiples aplicaciones, en el campo de la Biomedicina y los resultados que se obtienen del estudio de la materia viva son extraordinarios.

Para el estudio de la Ecología Oral resulta, que la placa bacteriana dental constituye un método biológico idóneo, para estudiar to dos los componentes en donde existen muchas incógnitas, ya que la mayor parte de los estudios que se han logrado con el Microscopio Forónico equipado con el Sistema Optico de Campo Claro, utilizando todo su acervo tintoreal tiene un inconveniente, las muestras tienen que ser procesadas con estos métodos especiales y esperar su resultado después de un minucioso estudio. En cambio el empleo de todos estos sistemas ópticos modernos nos dan resultados, seguros y prácticamente la interpretación es instantánea con el material vivo, como se encuentra en la cavidad oral. Además después de la observación

se pueden hacer registros microfotográficos, quedando así la imagen para su estudio e interpretación posterior. El presente trabajo es - una contribución al avance del conocimiento de la placa bacteriana bucal, aplicando todos estos sistemas ópticos contemporáneos. Así encontramos una serie de imágenes reales de una muestra de la maduración de la placa bacteriana oral humana.

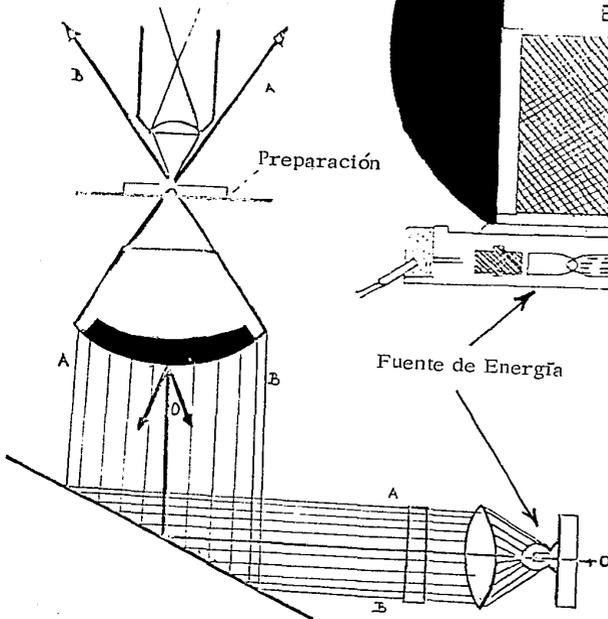


Sistema Optico de Campo Claro

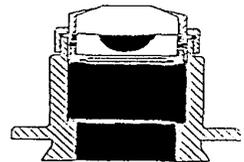
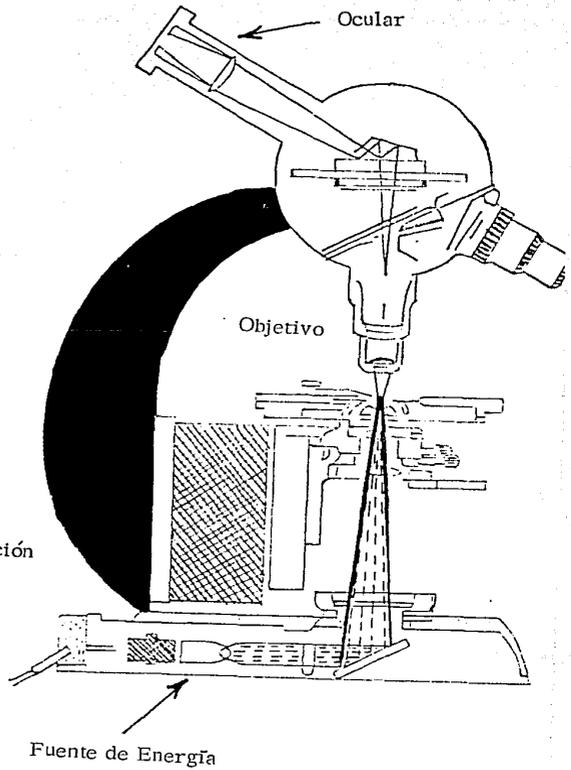
Marcha de los  
rayos en el -  
Sistema Optico  
de Campo Claro



Marcha de los rayos  
en Campo Oscuro

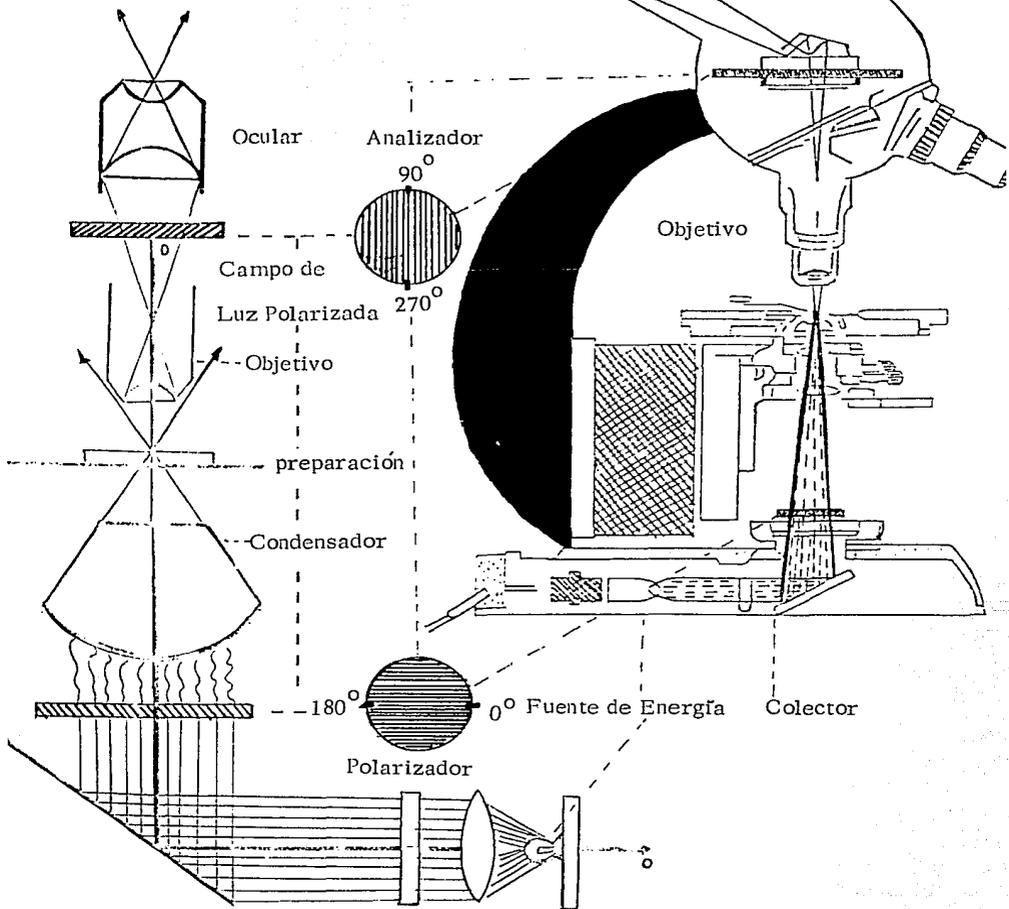


Sistema Óptico de Campo Oscuro

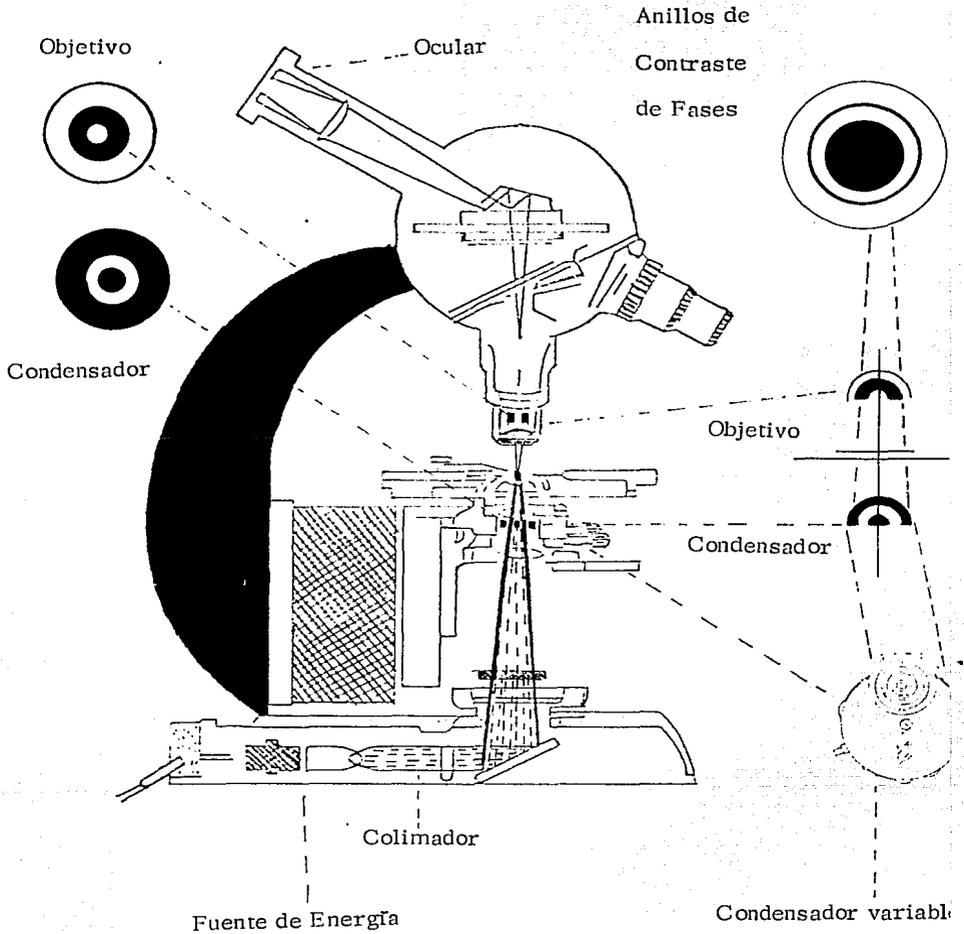


Condensador de Campo  
Oscuro

Marcha de los  
rayos lumino-  
sos en el Campo  
de Luz Polarizada



Sistema Optico de Luz Polarizada



Sistema Optico de Contraste de Fases

Marcha de los rayos para enfocar, centrar y alinear el Sistema Optico de Interferencia Policromática de la Luz.

30

Rojo Anaranjado Amarillo Verde Azul Indigo Violeta

Analizador

Placa de cuarzo

Refractor II

preparación

Refractor I

Polarizador

Ojo  
Ocular

Analizador

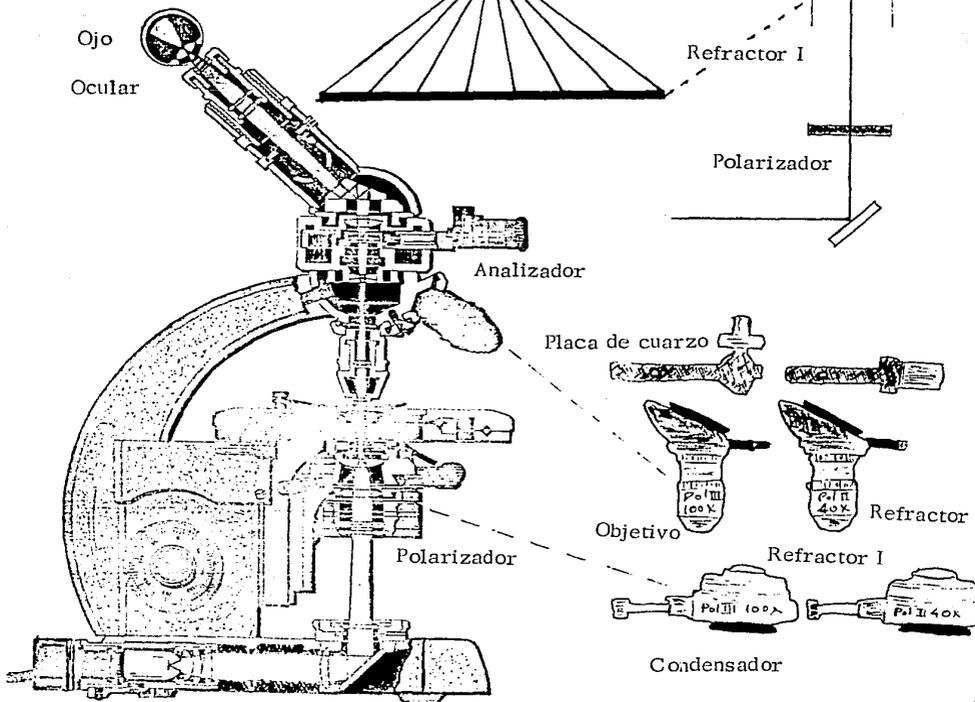
Placa de cuarzo

Objetivo

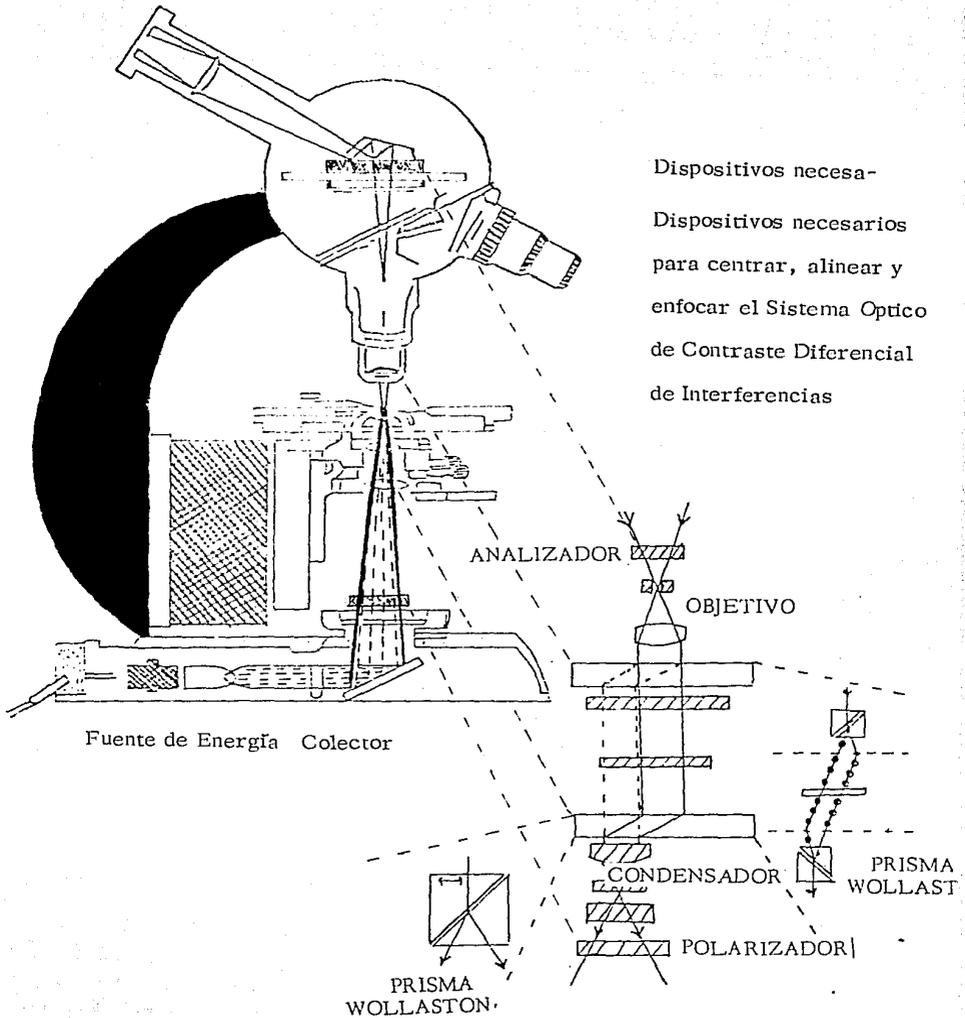
Polarizador

Refractor I

Condensador

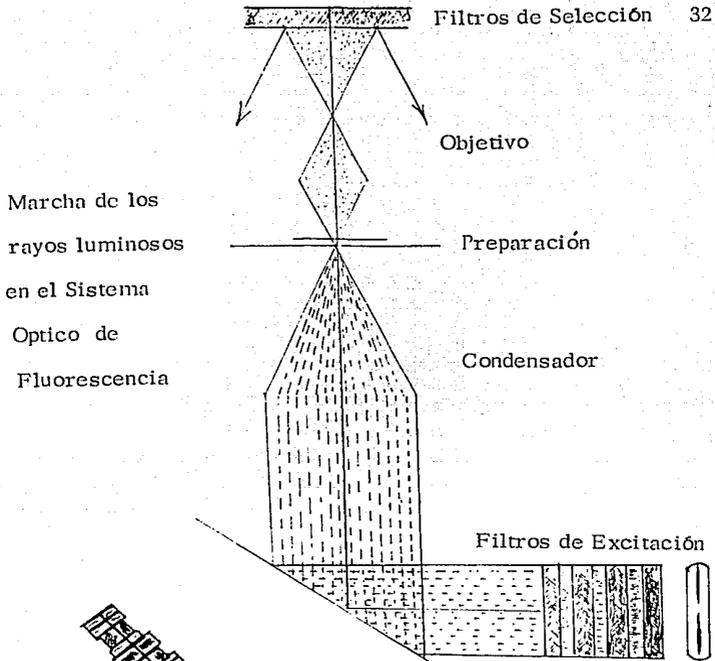


Sistema Optico de Interferencia Policromática de la Luz

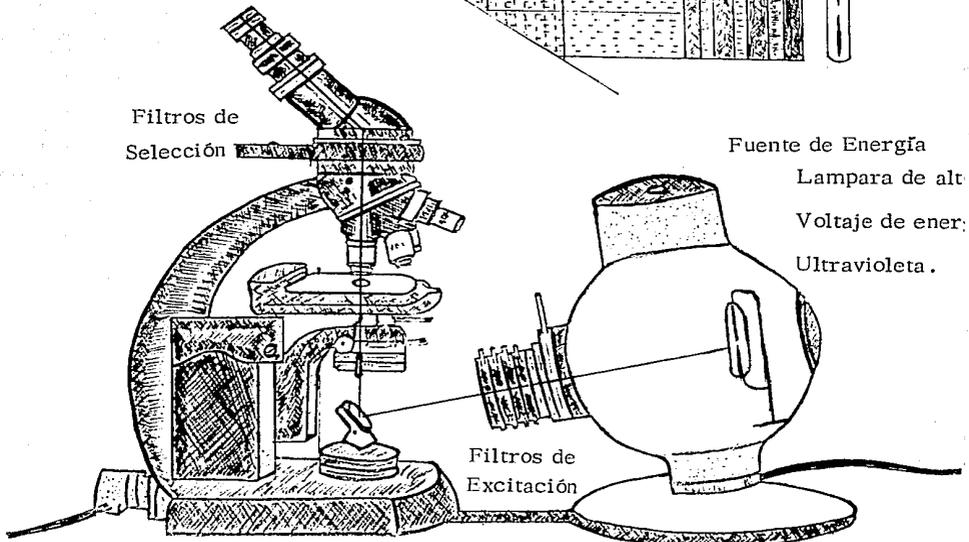


Marcha de los rayos luminosos en el Sistema Óptico de Contraste Diferencial de Interferencias según (Nomarski).

Sistema Óptico de Contraste Diferencial de Interferencias



Marcha de los  
rayos luminosos  
en el Sistema  
Optico de  
Fluorescencia



Sistema Optico de Fluorescencia

## Material y Método

Para la elaboración de este trabajo se emplearon muestras de placa bacteriana procedentes de un parodonto clínicamente normal.

Se eligió a un paciente del sexo masculino, edad 17 años. Índice de placa mínimo, tipo de articulación clase I. (Löe).

El trabajo experimental se inició con la profilaxis que se le hizo al paciente por un profesional, a continuación se efectuó el sondeo con el parodontómetro.

El paciente se abstuvo del uso del cepillo e hilo dental por tres semanas y consumió su dieta habitual.

Los dientes se tñieron para evidenciar el proceso evolutivo con tabletas reveladoras de placa, cada tercer día se fotografió la evolución de la placa dental, empleando una lente de acercamiento y un flash especial de anillo.

De las muestras para su observación y registro fotomicrográfico, se realizaron las preparaciones en cámara húmeda.

Una primera preparación en fresco procedente de la superficie vestibular de los incisivos superiores. La segunda muestra se obtuvo de la superficie interproximal de los premolares superiores.

Posteriormente se realizó una tercera muestra de la superficie vestibular de los molares superiores. Finalmente una cuarta muestra procedente de la superficie lingual de los incisivos inferiores.

Las preparaciones de cámara húmeda se realizaron tomando una muestra de la placa dental con un asa de platino y colocándola con un portaobjeto previamente lavado con jabón de lejía y enjuagado en agua corriente primero y después en un segundo enjuague en agua destilada; desengrasando el material con una mezcla de acetona-alcohol, preparado a partes iguales y finalmente esterilizado en la autoclave a 120°C durante 20 minutos. La muestra se diluyó en suero fisiológico y se realizó utilizando un cubreobjetos de 22 X 22 mm del No. 1, también previamente esterilizado y tratado en la misma forma que los portaobjetos. Una vez realizada la preparación, para evitar la desecación se selló con una mezcla de cera-parafina, preparada en la proporción 1:2, con este método se hizo una muestra de cámara húmeda, manteniendo la preparación en condiciones biológicas óptimas hasta 72 horas, con la facilidad de poder realizar observaciones posteriores, sin que sufra desecación por la evaporación, debido a diferencias de temperaturas entre el medio ambiente y la temperatura propia de la preparación.

Una vez realizadas las preparaciones se observaron al Fotomicroscopio marca Carl Zeiss modelo Fomi I, equipado con la mayor

parte de los Sistemas Ópticos que existen en la actualidad fotografiando el material más representativo del proceso evolutivo de la maduración de la placa dental para ilustrar este trabajo.

Las observaciones y los registros microfotográficos se realizaron con material vivo, ya que los Sistemas Ópticos que se emplearon, no afectan la muestra, la observación se realizó hasta 48 y 72 horas después de haberla efectuado. El haz luminoso que atraviesa el microscopio sufre una serie de cambios y modificaciones durante su trayectoria la cual es completamente inocua para el material, biológico.

En forma comparativa para completar la observación se realizó una preparación en fresco, de sarro supragingival de otro paciente, procedente de los dientes incisivos centrales inferiores de la superficie lingual, para demostrar la actividad óptica en los cristales de tártaro dental en el Sistema de Luz Polarizada.

## CUADRO No. 1

Resultado de la Maduración de la Placa		
Día	Evolución de la Placa	No. de Lamina
0	Odontosexis	Lamina I
3	Aparición de placa y células epiteliales descamadas íntegras.	Lamina II
6	Formación de placa, aparición de células epiteliales descama- das y germen filamentosos.	
9	Aparición y engrosamiento de placa formación de depósitos exudados.	Lamina III
12	Aparición de placa e invasión de depósitos en la encía.	
15	Aparición de placas de picitos en la encía, placas formadas de la descamación epitelial y de- pósitos de germen filamentosos.	Lamina IV
18	Saturación de la placa, inflama- ción de la encía de fácil sangrado.	
21	Aparición de células epiteliales de origen gingival e invasión de germenes y abundancia de fila- mentosos.	Lamina V

## CUADRO No. II

## Análisis Microscópico con Diferentes Sistemas Ópticos

## Campo Oscuro Lamina VI

Placa bacteriana bucal con abundantes fermentos cocos y bacilos, leucocitos y células de descamación del epitelio gingival.

## Luz Polarizada Lamina VII

Sarro dental mineralizado con depósitos calcáreos observándose la actividad óptica de este material.

## Contraste de Fases Lamina VIII

Placa bacteriana bucal de material fresco con abundantes gérmenes, cocos, bacilos de diferentes tipos leucocitos (piocitos), células de descamación bucal y depósitos mineralizados.

## Interferencia Policromática de la Luz Lamina IX

Placa bacteriana bucal de material fresco con un aspecto colorido de los diferentes compuestos de la placa dental cocos, bacilos, células de descamación gingival, leucocitos (piocitos).

## Contraste Diferencial de Interferencias Lamina X

Placa bacteriana bucal de material en fresco con detalles topográficos de relieve de los componentes de la placa bacteriana oral, bacterias de diferentes formas, piocitos, células de descamación gingival y depósitos orgánicos.

## Fluorescencia Lamina XI

Los mismos componentes de las imágenes anteriores con un fluorocromo, anaranjado de acridina.

## Imagen comparativa Lamina XII

Todos los componentes de la placa bacteriana oral con los diferentes sistemas opticos, señalando las diferencias que se establecen entre los constituyentes del material estudiado.

## RESULTADOS

En la elaboración de este trabajo, los resultados los hemos dividido en dos partes, por un lado el estudio macroscópico de la placa bacteriana dental, anotando los principales cambios que sufre en forma paulatina, desde la profilaxis que se le realizó al paciente, - hasta encontrar una encía edematosa y sangrante. Concomitante con estas observaciones se realizó un estudio microscópico, empleando diferentes Sistemas Opticos; haciendo destacar mejor los componentes microscópicos de la placa oral.

### Aspecto Macroscópico

El estudio de la maduración de la placa bacteriana dental humana tiene importancia en la prevención de enfermedades parodontales y de la caries dental. En este fenómeno convergen varios factores biológicos, en donde se observan, por un lado la participación de la reacción del cuerpo humano y por otra parte los cambios adaptativos de los gérmenes que constituyen la flora bacteriana bucal. En este juego se lleva a cabo el equilibrio de estos dos componentes terminando como consecuencia final, cada paciente tiene una ecología bucal

diferente que depende de varios factores poliparamétricos que existen en la cavidad oral. Los gérmenes que habitan y se desarrollan en este habitat tienen condiciones características, específicas para proliferar y establecer condiciones adecuadas para su desarrollo, - por último todas estas condiciones causan un daño en la dentadura humana.

Con el desarrollo de este Modelo Biológico Experimental poniendo atención en la maduración de la placa bacteriana dental, se observa desde el momento mismo de la Odotosexis hasta la máxima diferenciación de la placa bacteriana dental (21 días) existe una serie de cambios graduales paulatinos.

Nuestra atención, observaciones y comentarios se han orientado hacia los cambios morfodinámicos que se llevan a cabo durante este tiempo, haciendo muestreos periódicos, estudiando su evolución.

Como modelo biológico, fue un paciente joven, quien presentó un parodonto de aspecto normal como se ilustra en la Lámina No. I. Para la realización del experimento se inició con la profilaxis del paciente, demostrando los diferentes componentes anatómicos que tiene una dentadura normal humana. Por otro lado, también se muestra la introducción del parodontómetro en el margen gingival, para observar las condiciones biológicas del parodonto.

En estas imágenes se observan las caras pulidas de las diferentes piezas dentarias, la magnífica irrigación sanguínea, el aspecto extraordinario que tiene la mucosa oral y el puntilleo de la encía, como se observa en la Fig. No. 5. La placa bacteriana dental, a los 4 días de maduración demostrada con tabletas reveladoras de violeta de Genciana, constituye un buen ejemplo de la formación de materia alba como se ilustra en la Lámina II.

En estas imágenes se observa un aspecto general del depósito de la placa bacteriana, en el cuello del diente el depósito es grueso y denso: En donde mejor destaca este fenómeno, es en la imagen de la Fig. No. 8 marcada con la letra (b), señala el sitio en donde se hizo la preparación de cámara húmeda, para estudiarla al microscopio con diferentes Sistemas Ópticos, tales como Campo Oscuro, como se ilustra en la Fig. 9 en donde se encuentran abundantes picitos marcados con la letra (b) y algunas células de descamación epitelial gingival que se ilustra en la letra (a).

A la observación del Sistema Óptico de Contraste de Fases, Interferencia Policromática de la Luz y Contraste de Interferencias, aparecen imágenes semejantes complementarias como se advierte en las células de descamación del epitelio bucal como se ilustra en la imagen de la Fig. No. 9 a 12. Finalmente en esta Lámina también se pueden apreciar las bacterias de tipo filamentosas como se ilustra

en la letra (a) de la Fig. No. 12.

En la Fig. No. 6 se demuestra en una imagen panorámica, la disposición del parodonto en la encía y la presencia de la placa bacteriana, los detalles a mayor aumento se observan mejor (Figs. 7 y 8).

El aspecto microscópico de la placa bacteriana se observa en forma comparativa con una preparación de cámara húmeda en fresco, en la imagen de las Figs. de la 9 a la 12, son concomitantes con el tiempo de maduración de la placa de 4 días, en esta muestra aparecen con una descamación del epitelio bucal y abundancia de piocitos (Fig. 9), la presencia de gérmenes se hace paulatinamente y empieza a invadir a las células epiteliales y a los piocitos (Figs. 10 y 11), fundamentalmente la presencia de los elementos comprometidos en este tiempo de maduración (Fig. 12) con la aparición de células epiteliales, piocitos y bacterias filamentosas.

Después de 10 días de maduración de la placa bacteriana se observan cambios evidentes tanto en el aspecto macroscópico, mostrada en la Lámina II, así como en la preparación en fresco. Las diferentes imágenes muestran cambios importantes en franco crecimiento y engrosamiento de la placa bacteriana bucal, acompañado de depósito de bordes irregulares delimitada en 3 zonas de la superficie dental como se muestra en las Figs. 13 y 14. La invasión de --

gérmenes en la cavidad bucal se advierte con tabletas reveladoras.

El aspecto microscópico de material fresco y de repetidas observaciones "in vitro", empleando Sistemas Ópticos de Campo Oscuro, Contraste de Fases y Fluorescencia; en estas imágenes se observan varios elementos, lo que mejor destacan, son las células epiteliales de descamación bucal en diferentes fases de degradación, en algunas de estas células epiteliales todavía se conserva el núcleo celular y sus contornos de la membrana bien definidos, junto a estas células se localizan abundantes piocitos como se ilustra en la Fig. No. 16 señalada con la letra (c) o la Fig. No. 17, señalada con la letra (c), estos piocitos se les encuentra en diferentes fases de degradación, que podrían considerarse fases agónicas de estas células. Finalmente la abundancia de bacterias de tipo filamentosas como se muestra en la Fig. No. 15 señaladas con las flechas (a y b) y en la Fig. No. 18 en Fluorescencia señalada solamente con la flecha.

La placa bacteriana dental después de 17 días, es gruesa, voluminosa, éste fenómeno se observa mejor con el uso de tabletas reveladoras de violeta de Genciana; el aspecto microscópico de este fenómeno se pone de manifiesto mejor en las Figs. 21 a la 25, la abundancia de piocitos es más evidente, junto a estos elementos aparecen bacterias de tipo filamentosas y aún existe también la abundancia de células de descamación epitelial, en las figuras microscópicas de la Lámina IV se puede apreciar la utilización de los diferentes --

Sistemas Opticos tales como el Campo Oscuro, Contraste de Fases y Contraste Diferencial de Interferencias.

En esta Lámina se observa una serie de cambios tanto en los aspectos macroscópico como en el de observaciones microscópicas.

En las figuras 19 y 20 se observa el aspecto panorámico y el detalle de la dentadura en donde se advierten cambios congestivos en la encia con la tumefacción y edema bien definidos a esta altura del experimento el paciente referirá ya el dolor discreto en la boca, el epitelio se muestra congestionado y el desarrollo de la placa bacteriana ha sufrido una serie de cambios importantes, y presencia de halitosis.

La abundancia de piocitos es muy evidente como se ilustra en la Fig. No. 24 con la letra (h) y la Fig. No. 23 con la letra (e) y la Fig. No. 25 marcada con la letra (j). Finalmente la abundancia de bacterias puntiformes que posiblemente se trata de cocos.

A los 21 días de formación de la placa bacteriana dental sin necesidad del empleo de la placa reveladora de violeta de Genciana se ven los bordes irregulares, con desarrollo de concreciones topográficas muy prominentes, la reacción del parodonto se ve muy comprometida, reaccionando rápidamente con una tumefacción de fácil sangrado, cuando se colocó el parodontómetro sangró fácilmente como se ilustra en la Fig. No. 29 señalada con la flecha.

En la imagen de la Fig. No. 26 se puede observar la saturación bacteriana empleando la tableta de placa reveladora, la presencia de placa tanto en la arcada superior, como la inferior, depositándose en cantidades muy diferentes entre si.

El aspecto macroscópico de las cuatro figuras de la Lámina V son muy objetivas de la formación de la placa bacteriana en la Fig. No. 26 se ve el aspecto panorámico de una dentadura en el máximo desarrollo, en esta imagen se puede observar la saturación bacteriana en la boca de este paciente, en cambio en la Fig. No. 27 y 28 con mayor acercamiento se pueden observar los detalles de la formación de la placa bacteriana en los dientes centrales tanto superiores como inferiores, como se señala en la Fig. No. 28 en esta misma imagen el depósito de material bacteriano, en donde se ha cerrado el espacio interdentario.

El aspecto macroscópico de una muestra en "fresco" se observa en las Figs. 30 y 31 imagen vista en Campo Oscuro y Contraste de Fases respectivamente en estas figuras se puede observar la formación de la materia alba en la Fig. No. 30 en presencia de gran cantidad de gérmenes de tipo filamentoso, en algunas células epiteliales de descamación bucal, practicamente ya han desaparecido con invasión de muchos gérmenes, la célula está en plena descomposición causada por la benefración bacteriana.

Análisis Microscópico y el empleo de los Diferentes  
Sistemas Opticos Contemporáneos

Campo Oscuro

El Sistema Optico de Campo Oscuro se basa en la tinalización de la luz constituye una magnífico ejemplo para estudiar la muestra de placa bacteriana bucal en material en "fresco" en la suspensión con suero fisiológico y poder estudiar el aspecto morfofisiológico de estas muestras. En este Sistema Optico se emplea material en suspensión aparecen las células brillando en fondo oscuro como si se tratará de una observación de un "cielo estrellado", así se pueden ver gérmenes, células epiteliales, leucocitos, piocitos. En todas estas imágenes aparecen gérmenes de tipo bacteriano tratándose de cocos o bacilos en los aspectos puntiforme como se advierte en las Figs. 33 y 34, aquí en estas imágenes también se pueden distinguir bacilos alargados como pequeños cigarrillos.

En cambio la materia alba se aprecia como en forma de unas manchas blancas como puede observarse en las Figs. 32 y 35 en la parte superior izquierda de las dos imágenes e inclusive el principio de mineralización de la placa bacteriana dental en donde se empiezan a substituir los elementos biológicos por procesos de mineralización

de las sales de calcio.

En cuanto a la participación de la reacción del cuerpo humano existen, células epiteliales gingivales y leucocitos (piocitos). En la Fig. 30 marcada con la letra (d) se trata de los restos de la célula epitelial en cambio en la imagen de esta misma figura marcada con la letra (c) se trata de un leucocito (piocito).

Aspecto macroscópico del modelo biológico experimental desde el 1er. día hasta 21 días. Zona anterior de una boca después de una profilaxis.

#### LAMINA I

Fig. 1. Los dientes de oclusión normal clase 1. Se observa el epitelio delgado (a), el margen gingival vestibular (b), encia insertada (c), papila interdientaria vestibular (d), línea mucogingival (e), irrigación de la zona mucogingival (f).

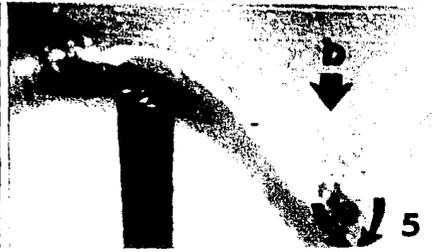
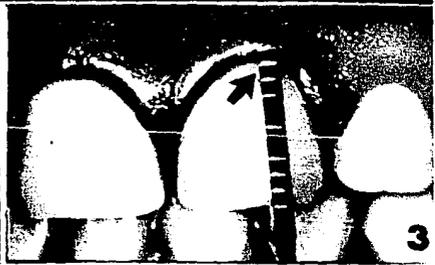
Fig. 2. Surco o intersticio. Acercamiento de la Fig. 1. La encia termina en sentido coronario a manera de filo de cuchillo con respecto a la superficie del diente (a). Se observa en sentido mesiodistal, el característico festoneo de la línea marginal (b), margen gingival (c).

Fig. 3. Se observa la inserción del parodontómetro en el margen gingival (flecha). La superficie pulida de los dientes incisivos anteriores.

Fig. 4. Acercamiento del margen gingival y parodontómetro sobre la mucosa de los dientes, las flechas señalan las papilas interdientarias ocupando el nicho gingival.

Fig. 5. Acercamiento de la papila interdientaria, se observa el detalle de la inserción del parodontómetro en el surco gingival, el aspecto de filo de cuchillo (a), así como el puntilleo (b), de la base de la papila y su coloración rojo coral.

# Lamina I



## LAMINA II

Fig. 6. Día 3. Imagen panorámica en tres partes. Se observan los primeros depósitos dentales de la placa bacteriana, utilizando tabletas reveladoras de violeta de Genciana (a), el desarrollo de la placa ya se ha distribuido en forma heterogénea en la superficie del diente.

Fig. 7. Día 6. Detalle de la placa dental. Se observa con claridad la placa en la región cervical (a). La superficie de la encía insertada también presenta placa en la región del incisivo superior izquierdo (b). Y en las superficies más voluminosas del contorno de los dientes incisivos central y lateral superiores izquierdos (c). La encía marginal se observa ligeramente inflamada.

Fig. 8. La placa dental ya presenta un grosor, se empieza a extender en dirección a las superficies labiales (a). La flecha señala el sitio de donde se tomó la muestra de placa bacteriana para observar un fresco al microscopio (b).

Fig. 9. En esta imagen se observan algunas células epiteliales de origen gingival marcadas con la letra (a). En la parte superior derecha un conjunto de picocitos aglomerados -- marcados con la letra (b). Campo Oscuro 256 X.

Fig. 10. En esta imagen la flecha señala una célula epitelial. En donde se conservan parte de la estructura citológica, como el núcleo y los granulos de queratohialina. Estas células proceden del epitelio gingival descamado. Contraste de Fases 560 X.

Fig. 11. En esta figura se observa el aspecto pavimentoso de epitelio de descamación celular gingival, lo que mejor destaca es la estructura interna de este conjunto de células de origen gingival, (flecha). Contraste Diferencial de Interferencias 400 X.

Fig. 12. En esta fotografía se observan células epiteliales, marcadas con una flecha (a) en esta célula epitelial, lo que mejor destaca es el núcleo celular (b) junto a esta célula gingival aparecen rodeando a esta célula un conjunto de leucocitos (c) y los bacilos filamentosos (d). Interferencia Policromática de la Luz 560 X.

Lamina II



## LAMINA III

Fig. 13. Día 9. El crecimiento de la placa dental, es más evidente en las zonas protegidas de la superficie dentaria.

La placa es más gruesa con respecto a la imagen anterior, se extiende en forma irregular en dirección apical a la porción más voluminosa del contorno de los dientes.

En la mayor parte de las piezas dentarias se observa una delicada -capa de placa que cubre las superficies lisas en contacto con los labios (a). Se observa acumulación de placa en los dientes inferiores anteriores (b).

Fig. 14. Acercamiento de la imagen anterior, se observa con mayor detalle el grosor de la placa (a), además de las papilas interdientarias inflamadas (b), la superficie de la encía insertada se encuentra con placa en la región de los incisivos anteriores superiores.

Fig. 15. Aspecto microscópico de la placa bacteriana. La muestra fue tomada de la zona interproximal de los dientes canino y premolar superior derecho.

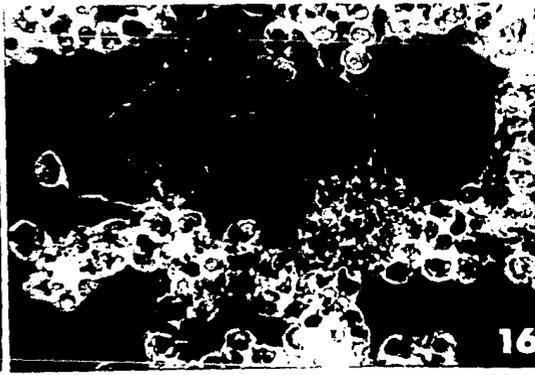
En esta imagen se observa un cúmulo de gérmenes aglutinados (a), -aparecen brillantes y alargados (b) estos bacilos filamentosos brillan en el campo. Campo Obscuro 256 X.

Fig. 16. Células epiteliales de origen gingival (a), estas células se encuentran en fase de destrucción (b), núcleo de la célula (flecha), aglutinación de bacterias (c y d). Se observan una gran cantidad de leucocitos en diferentes fases agónicas (e). Contraste de Fases 650X.

Fig. 17. Detalle a mayor aumento se observan en el centro de la fotografía dos células epiteliales (a) del epitelio gingival de aspecto pavimentoso, en el centro se conserva su núcleo (b) y bordes bien definidos, rodeado de abundantes leucocitos (c). Contraste de Fases 650X.

Fig. 18. Detalle a mayor aumento de la placa bacteriana, aglutinación de bacterias. En el borde se puede apreciar un cúmulo de gérmenes filamentosos fluorescentes. (flecha). Fluorescencia 400X.

# Lamina III



## LAMINA IV

Fig. 19. Día 12. La placa es más gruesa y se extiende hasta formar una banda discontinua en dirección apical a la porción más voluminosa del contorno de los dientes anteriores superiores marcados con las (flechas). En los dientes inferiores anteriores se observa impactada principalmente en la encía marginal, en el contorno de los dientes.

Fig. 20. Día 15. Imagen a mayor aumento, se observa el grosor y la extensión de la placa en los dientes incisivos anteriores superiores marcados con la (flecha). La acumulación de placa entre los incisivos central superior izquierdo y lateral izquierdo, es evidente el filo de cuchillo de la papila interdientaria está totalmente cubierto por placa.

Fig. 21. Aspecto microscópico de una preparación en fresco de placa bacteriana. En esta imagen se observa en el centro de la imagen el volumen que tiene el conjunto de gérmenes de tipo filamentosos (a) rodeados de leucocitos (b). Se puede apreciar el relieve de la topografía celular.

Contraste Diferencial de Interferencias 650 X.

Fig. 22. En esta imagen se observa a la derecha de la fotografía el aspecto de cúmulo de leucocitos (piocitos) (c), conjunto de gérmenes filamentosos (d). Campo Oscuro 250 X.

Fig. 23. En esta imagen se muestra la presencia de piocitos (e), células epiteliales (f), gérmenes filamentosos (g).

Contraste de Fases 650 X.

Fig. 24. En esta fotografía se observa en la parte superior derecha un piocito en plena lisis (h) y algunos filamentos de mucopolisacáridos (i). Contraste de Fases 650 X.

Fig. 25. Imagen de un conjunto de células epiteliales (j), con su núcleo conservado (k), aglutinación de bacterias filamentosas (l).

Contraste Diferencial de Interferencias 650 X.

Lamina IV



## LAMINA V

Fig. 26. Día 18. Dientes en oclusión teñidos con violeta de Genciana, el patrón de crecimiento está ahora bien establecido y la placa es más abundante, se extiende hasta formar una banda en dirección coronaria a la porción más voluminosa en las superficies lisas en contacto con los labios (a) flecha. La placa es más abundante que el día 15. Nótese el cambio en los incisivos centrales, laterales, caninos, derechos e izquierdos inferiores anteriores (b).

Fig. 27. Imagen de los dientes anteriores superiores e inferiores - cubiertos por placa sin haber empleado las tabletas reveladoras. La encía marginal se encuentra inflamada (c), las superficies labiales - de los dientes superiores se encuentran cubiertos por placa (d), encía marginal inflamada (e).

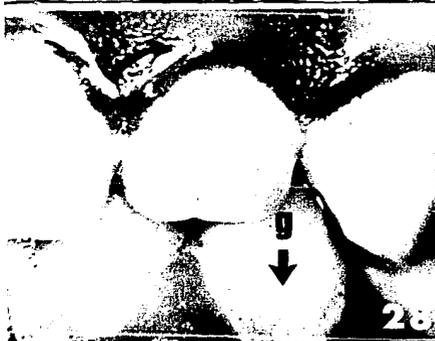
Fig. 28. Imagen del final del experimento se observa que el filo de cuchillo de las papilas interdentarias de los dientes incisivos central, lateral y canino superiores izquierdos están cubiertos por placa, se aprecia también la encía marginal congestionada (f) flecha. La placa es abundante, se observa el grosor de la placa impactada en el cuello de los dientes central y lateral inferiores izquierdos. (g).

Fig. 29. Detalle de la encía marginal, es evidente el sangrado de la encía al sondeo (h) de los dientes anteriores superiores, central y lateral izquierdos (i).

Fig. 30. Detalle microscópico de la placa bacteriana, con la presencia de algunas bacterias filamentosas que se observan distribuidas en toda la imagen (j). Campo Oscuro 1600 X.

Fig. 31. Detalle de una preparación que corresponde a la placa bacteriana, se observan un conjunto de células epiteliales gingivales -- (k), con la invasión de gérmenes de la placa bacteriana, aún se observa parte del núcleo que señala la flecha (l). Contraste de Fases 1600 X.

Lamina V



Análisis microscópico empleando diferentes Sistemas Opticos.  
Conjunto de imágenes microscópicas de una preparación en fresco -  
de placa bacteriana.

## LAMINA VI

### Sistema Optico de Campo Oscuro

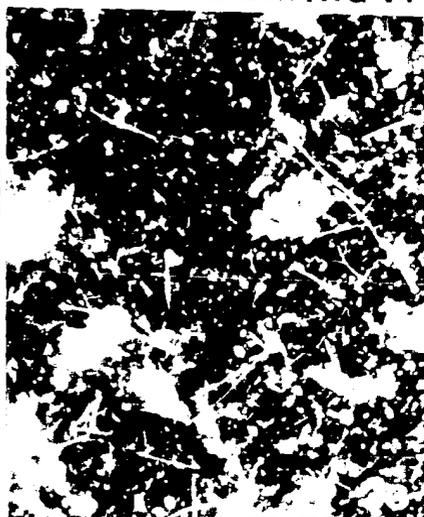
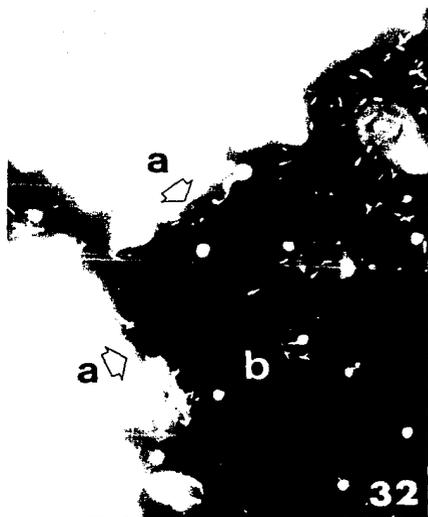
Fig. 32. En esta imagen, se observa la masa amorfa de placa (a),  
conjunto de bacilos en el resto de campo (b). 160 X.

Fig. 33. Conjunto de diversos gérmenes (cocos, bacilos y bacterias  
filamentosas). 256 X.

Fig. 34. En esta imagen se observa un piocito (c), conjunto de cé-  
lulas epiteliales (d). 640 X.

Fig. 35. Imagen de placa bacteriana. Se observa en el margen su-  
perior izquierdo placa dental madura (e), en el resto de la imagen  
existen bacilos y bacterias filamentosas (f). 1600 X.

Lamina VI



## LAMINA VII

## Sistema Optico de Luz Polarizada

Conjunto de imágenes de tártaro dental (procedente de otro paciente diferente al modelo biológico).

Fig. 36. En esta fotografía se pueden observar, cristales de tártaro dental en figuras irregulares de diferente tamaño. 160 X.

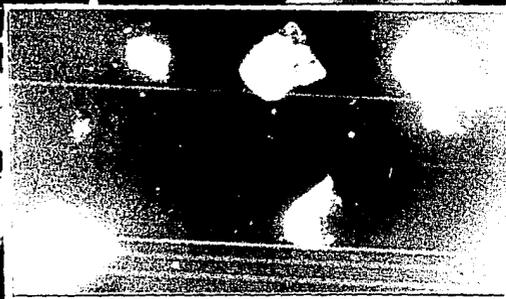
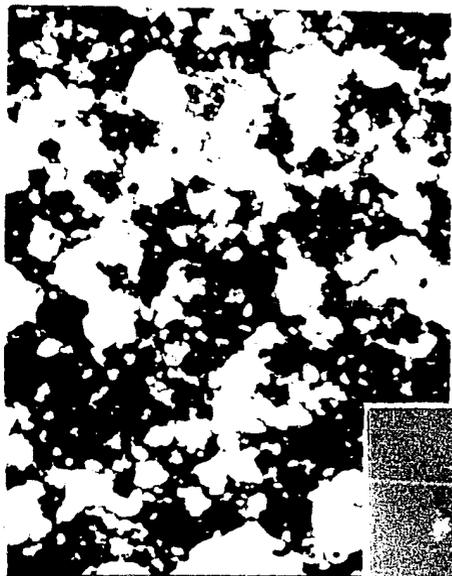
Fig. 37. En esta imagen se ilustra, una muestra de tártaro dental calcificado recién desprendido, las flechas señalan la zona de actividad óptica de Campo de Luz Polarizada. 400 X.

Fig. 38. Diferentes muestras de cristales de tártaro dental fracturado, se observan diferentes bordes irregulares y actividad óptica en zona de cristal. 250 X.

Fig. 39. Muestra de cristales de tártaro dental. En esta imagen se puede observar un cristal con bordes irregulares, las flechas señalan la parte que estaba adherida a la pieza dentaria, donde hay mayor actividad óptica, el cristal de tártaro ya presentaba una serie de colores debido a la intensa pigmentación. 400 X.

Fig. 40. Cristal de tártaro dental de bordes redondeados con diferentes centros de actividad óptica al Campo de Luz Polarizada. 640 X.

Lamina VII



39

40

## LAMINA VIII

## Sistema Optico de Contraste de Fases

Fig. 41. Imagen de una preparación en fresco, en cámara húmeda, de tártaro dental recién extraído de una pieza dentaria. Se observan porciones pequeñas, producto de la fractura de cristal, la flecha señala el desprendimiento de cristales de calcio. 160 X.

Fig. 42. Imagen procedente de una preparación en fresco de placa bacteriana, aparecen varios componentes, la flecha del margen superior derecho señala una célula epitelial de descamación (a), saturada de gérmenes en su interior, en cambio en la célula que se localiza en la parte inferior que señala la flecha pequeña muestra un plocito (b), mezclado con gérmenes que forman parte de la placa. 600 X.

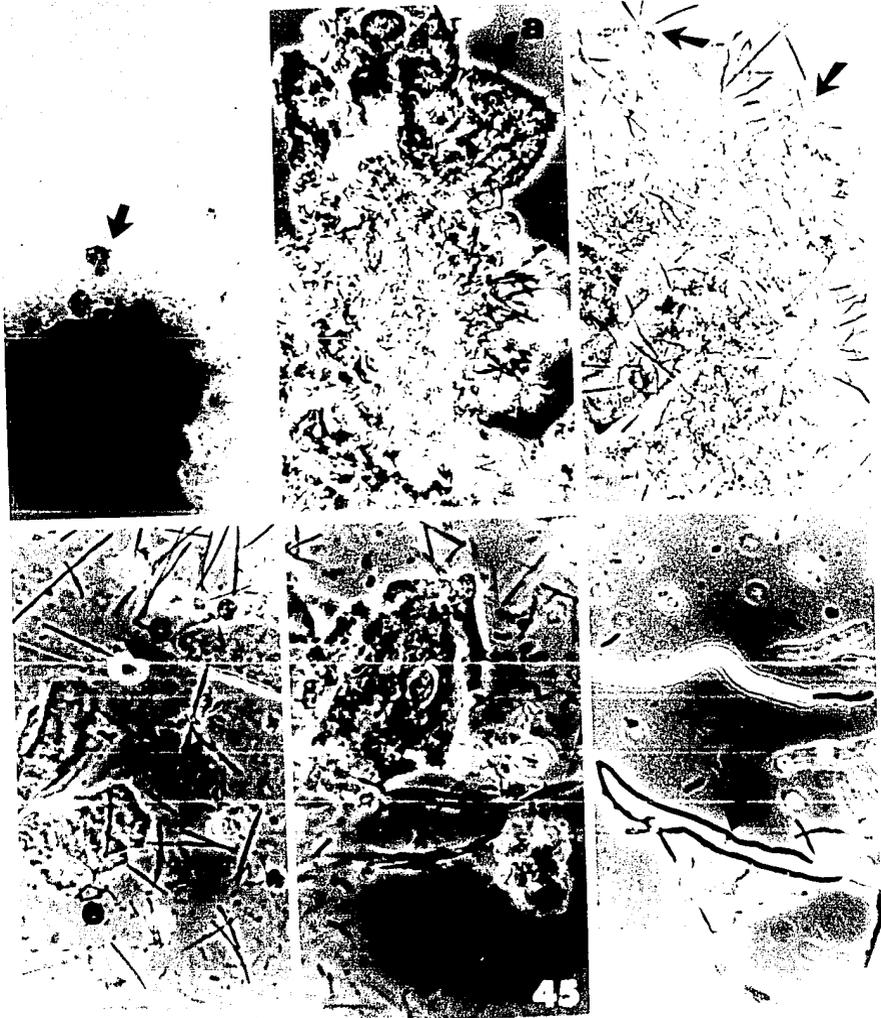
Fig. 43. Detalle de la imagen anterior, en donde destacan los gérmenes filamentosos señalados con flechas. 600 X.

Fig. 44. Muestra en fresco de placa bacteriana oral. En esta imagen, se observan, varios plocitos en diferentes etapas de destrucción, el grado de lesión se puede advertir porque tienen diferentes índices de refracción (c), aparecen algunos gérmenes filamentosos (d) y células de descamación epitelial (e). 600 X.

Fig. 45. Muestra en fresco de placa bacteriana oral. Se observa en la parte superior derecha restos de una célula epitelial con pignosis nuclear (f), se advierte en el contorno de esta célula en plena lisis la invasión de gérmenes en el citoplasma, en cambio en la parte inferior señalada con la letra (g), se observa un conjunto de plocitos en diferentes fases de destrucción aglutinados con un citoplasma espumoso. 750 X.

Fig. 46. En esta imagen se observa a mayor aumento el detalle de gérmenes de tipo filamentosos (h), entrelazados formando una trama muy estrecha, junto a todos estos gérmenes también se encuentran otros bacilos alargados. 1250 X.

Lamina VIII



## LAMINA IX

Sistema Optico de Interferencia Policromática de la Luz (según Jamin-Lebedeff).

Fig. 47. Muestra en fresco de placa dental. Se observa una imagen policroma del conjunto de elementos que constituyen la placa dental, se pueden apreciar conjuntos de células epiteliales (a) propias de la descamación. 125 X.

Fig. 48. Se observa a mayor aumento el detalle morfológico de un conjunto de leucocitos aglutinados (b) junto con gérmenes filamentosos (c). 500 X.

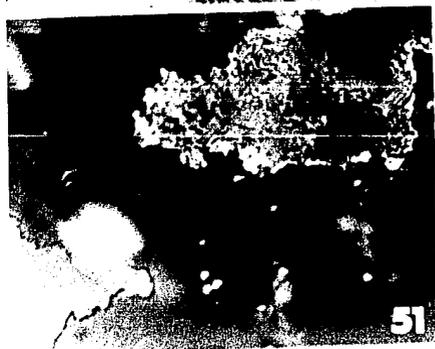
Fig. 49. En esta imagen se observa a mayor aumento en el lado izquierdo un conjunto de células epiteliales desfaceladas (e), el núcleo celular bien conservado (d), en la parte superior derecha aparecen un conjunto de bacterias de tipo filamentosas. 1250 X.

Fig. 50. Conjunto de células epiteliales gingivales a mayor aumento, la flecha señala el núcleo pignótico (f), en la parte inferior aparecen los gérmenes filamentosos. 1600 X.

Fig. 51. En esta imagen se observa un fragmento de placa madura - aglutinada (h) en donde se desprendieron algunos picocitos señalados con la letra (k).

Fig. 52. En esta figura se observa un conjunto de leucocitos procedentes de la placa, en diferentes fases de destrucción marcados con la flecha, en la parte superior izquierda se observan mayor aumento los detalles celulares de un picocito.

# Lamina IX



51



## LAMINA X

Sistema Optico de Contraste Diferencial de Interferencias (según - Normaski).

Fig. 53. En esta imagen se observa la materia alba, la flecha señala un conjunto de gérmenes filamentosos propios de este ecosistema bucal (a). 750 X.

Fig. 54. Muestra en fresco de placa dental. Se observa un conjunto de células de origen epitelial (b) la mayor parte de las células aglutinadas conservan su núcleo (c), como se señala en la célula epitelial - del centro. 750 X.

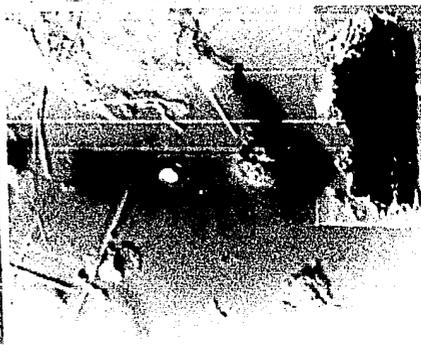
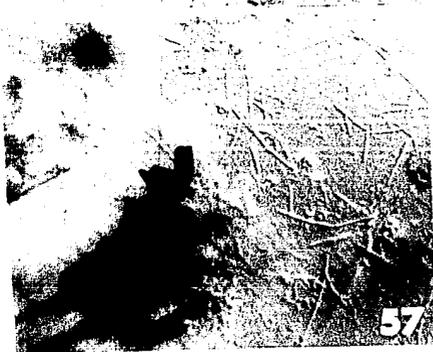
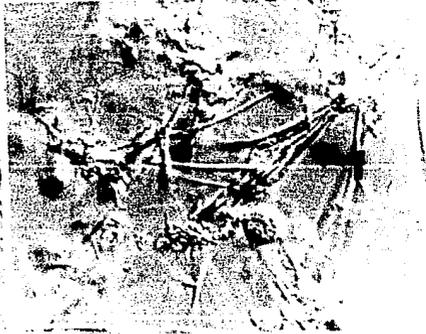
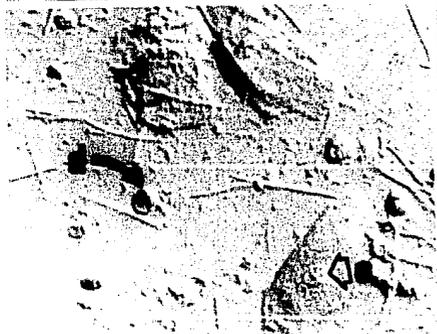
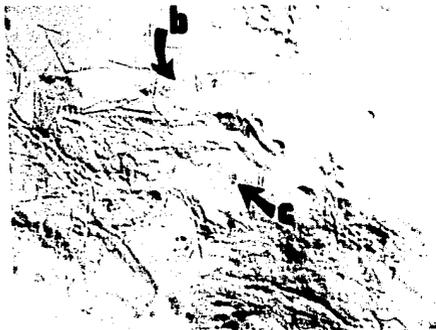
Fig. 55. Esta figura muestra en los contornos celulares varios leucocitos, uno señalado con la letra (d). Células epiteliales de origen gingival, estas células conservan alrededor del núcleo un conjunto de granulaciones de queratohialina (e).

Fig. 56. Detalle a mayor aumento de la muestra anterior se observan bacterias de tipo filamentoso aglutinadas (f). 1250 X.

Fig. 57. Muestra en fresco de placa dental. Se observan parte de los restos alimenticios (g), vegetales de la dieta alimenticia del paciente, el resto del campo se puede apreciar un conjunto de gérmenes. 750 X.

Fig. 58. En esta imagen se observan gotas de grasa (h) un leucocito (i) adherido al cristal de la preparación con citoplasma extendido, - conjunto de los diferentes componentes de la placa bacteriana, aquí - se localizan restos alimenticios de origen vegetal (j). 1250 X.

Lamina X



## LAMINA XI

Sistema Optico de Fluorescencia Espectral a la Energía Ultravioleta con anaranjado de acridina.

Fig. 59. Imagen de la placa bacteriana dental. Se observa en el centro un conjunto de células epiteliales (a) de origen gingival mezcladas con gérmenes (b), en la parte superior derecha tres leucocitos (c) - con núcleo en verde.  
100 X.

Fig. 60. Muestra de la placa bacteriana dental. Se observa en esta imagen un conjunto de leucocitos (d) destacando por su núcleo verde o amarillo gérmenes (bacilos y cocos), (e).  
1000 X.

Fig. 61. Muestra de placa dental. Se observa en esta ilustración, los diferentes componentes de la placa bacteriana oral, células epiteliales aglutinadas formando un conjunto lo que mejor destaca es el núcleo (f), conservando todavía sus contornos celulares, y una gran cantidad de gérmenes de diferentes tipos cocos y bacilos filamentosos (g).  
1000 X.

Fig. 62. Muestra de placa dental. En esta imagen destaca un bacilo filamentosos (h) junto unas células de descamación celular.  
1250 X.

Lamina XI



## LAMINA XII

## Imagen comparativa de los diferentes Sistemas Opticos

Figuras 63 a y b. Muestra en fresco de placa dental. Se observan diferentes detalles de la Fig. 63 a en la parte superior se observan un conjunto de bacterias de tipo bacilos alargados (1), en la imagen 63b destaca mejor la morfología de estos gérmenes conservando su individualidad en la parte superior derecha, se observa una partícula de restos alimenticios (2).

En la región inferior se observa el proceso de mineralización de la placa (3) con depósitos de carbonato de calcio y precipitado, en cambio en la parte central se puede distinguir la aglutinación de diferentes gérmenes (4).

Sistemas Opticos, Campo Oscuro y Contraste de Fases. 500 X.

Figuras 64 a y b. Muestra en fresco de placa dental. En la Fig. 64a imagen en Campo Oscuro, la imagen 64b en Contraste Diferencial - de Interferencias.

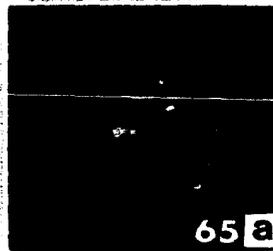
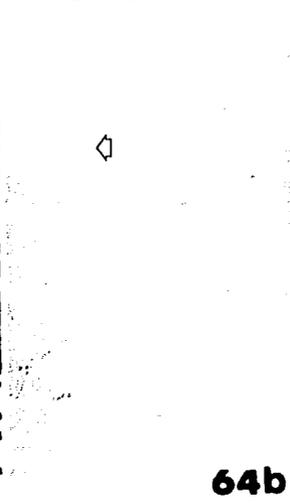
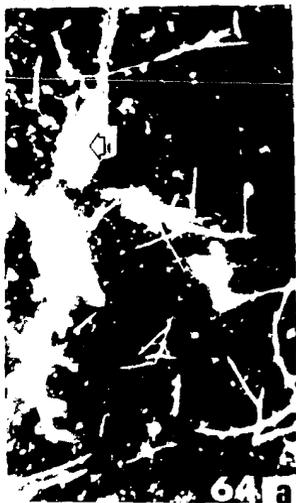
Se observa una célula epitelial (1) conservando el núcleo y los contornos bien definidos de la membrana celular, en el resto del campo aparecen un conjunto de gérmenes.

750 X.

Figuras 65 a y b. Muestra en fresco de placa dental. Se observa en la figura 65a, la actividad al Campo de Luz Polarizada de un proceso de mineralización de la placa dental, lo que mejor destaca es la actividad óptica de los precipitados de estos cristales de calcio. En cambio en la imagen 65b se observa la Fluorescencia natural que el mismo cristal tiene correspondiente al mismo campo.

125 X.

Lamina XII



## CONCLUSIONES

En la realización del presente trabajo podemos concluir.

- Que la formación y maduración de la placa dental lleva - aproximadamente de 15 a 20 días mayor tiempo ya no sufre cambios importantes. Posteriormente ya empieza a observarse reacciones de los tejidos del paciente, con una gingivitis.

- El estudio y observación de material fresco procedente de placa dental bacteriana es diagnóstico más rápido y mejor acertado, cuando se emplean los diferentes Sistemas Opticos Modernos, comparados con los métodos tradicionales utilizando técnicas tintoriales clásicas, como la Técnica de Tinción de Gramm.

- La evolución y maduración de la placa dental se puede considerar como un proceso ecológico, en donde intervienen una serie de reacciones multifactoriales propios de la Ecología Oral.

- La acumulación de la placa bacteriana dental se deposita en forma paulatina, inmediatamente después de la profilaxis, el paciente refiere un sabor salado y pegajoso, probablemente se trata de la secreción del líquido frevicular como una respuesta del organismo a las nuevas condiciones ecológicas orales.

- Después de haber ingerido alimentos, se observan depósi-

ros entre hendiduras dentales, muchas de estas detritus se desprenden con facilidad con la autoclisis y la ingestión de líquidos, dejando partículas finas que constituyen la base nutricional para la flora bacteriana.

- Los primeros días de la observación del modelo biológico (dentadura del paciente), empieza a aparecer la placa, una capa fina practicamente monocelular bacteriana, teñida con la placa reveladora de violeta de Genciana tiene un color rojo y al microscopio se encuentran bacterias de formas bacilares y cocos.

- En las primeras fases de la observación al microscopio de la placa oral aparecieron formando un tramo de detritus orgánicos, células epiteliales, de descamación epitelial gingival, piocitos, gérmenes de diferente forma y tamaño.

- La formación de células en empalizada, de gérmenes filamentosos aparecen cuando la placa bacteriana oral es gruesa y se ha depositado todo un complejo morfológico sobre las paredes de las piezas dentarias.

- En las últimas fases de nuestro estudio, aproximadamente 15 a 20 días de haber empezado con las observaciones la aparición de piocitos y la invasión a las células epiteliales de descamación bucal, los diferentes gérmenes que se encuentran en la boca penetran a estas células, observándose fases agónicas de piocitos y células de tipo

epitelial con la presencia de abundantes células de tejido sanguíneo.

- Los procesos de mineralización de la placa bacteriana requieren de mayor tiempo, en donde seguramente convergen otros procesos de tipo bioquímico, que con los métodos que nosotros utilizamos no es posible determinar.

- El presente trabajo no trata de resolver ninguno de los problemas que acontecen durante la Patología Parodontal, sin embargo el medio de analizar los diferentes componentes que se encuentran presentes durante el proceso de formación de la placa oral, marca el inicio de un camino en donde en la exploración microscópica tiene un apoyo importante y abre una brecha panorámica para estudiar tantos padecimientos orales relacionados con este fenómeno.

## DISCUSION

Existen varios factores que influyen en el crecimiento y desarrollo de la placa bacteriana bucal, es un fenómeno de acumulación de restos de material alimenticio de la dieta particular de cada paciente, aunado al entorno bacteriológico que conforma una flora bucal, propia de su ecología. Otros factores que influyen en este fenómeno biológico característico de la ecología bucodental lo constituye la autólisis, la implantación de las piezas dentarias, el tipo de oclusión y el aseo bucal permanente y sistematizado.

Los resultados de este trabajo resultan novedosos sorprendentes y muchas veces inexplicables y probablemente se deba a varios factores que se plantearon en este modelo biológico y la aplicación de la microscopía fotónica y diferentes sistemas ópticos modernos, a pesar de todo esto estoy convencida de que la visión que nos da el planteamiento y realización del modelo biológico experimental, ya que un solo elemento es visto por varios ángulos dándonos una información completa que es vista desde varios ángulos, es el caso concreto de residuos alimenticios, células de descamación gingival, leucocitos (picocitos), bacterias, cocos y bacilos observados en el Sistema Optico de Campo Oscuro, Contraste de Fases, Interferencia Policromática de

la Luz según Jamín-Lebedeff y finalmente la aplicación del Sistema Optico de Contraste Diferencial de Interferencias según Normaski. Por otro lado la aplicación de la Luz Polarizada en los procesos de mineralización de la placa bacteriana y la formación de tártaro dental es definitivo en la apreciación de la actividad Optica al Campo de Luz Polarizada, resultando ser un Sistema Optico analítico de gran aplicación en este fenómeno biológico bucodental.

Otro aspecto también de aplicación inmediata y posibles estudios posteriores es la utilización de la Fluorescencia con el empleo de fluorocromos como el anaranjado de acridina para la observación en material procedente de placa bacteriana bucal junto con los otros sistemas ópticos antes mencionados es posible realizar un análisis completo de los elementos que constituyen la ecología de la cavidad gingivo dental.

En nuestro modelo biológico experimental lo dejamos evolucionar durante 21 días, debido a que durante este tiempo se llevó a cabo la maduración de la placa bacteriana oral en nuestro paciente - los cambios que observamos fueron graduados, en donde día a día parecía no haber pasado nada.

Sin embargo a lo largo de todo este tiempo y sobre todo con los registros gráficos pudimos apreciar los cambios notables de la maduración de la placa bacteriana oral y pudimos ver también en for-

ma concomitante los cambios microscópicos de todo el fenómeno de evolución, y maduración de la placa bacteriana bucal.

## RESUMEN

En esta Tesis me he propuesto poner de manifiesto las ventajas que tiene la aplicación de los diferentes Sistemas Opticos Modernos que se utilizan en la Microscopía Contemporánea, para estudiar la maduración de la placa dental, en la ecología del hombre, abordando aspectos diferentes, desde dos puntos de vista aparentemente separados, primero de la importancia que tiene la Odontología en el estudio de la placa bacteriana dental de las enfermedades parodontales y el segundo punto de las necesidades de la Investigación Biomédica, como un magnífico recurso dentro del campo de la didáctica.

La ecología oral humana resulta de muy fácil acceso y toma de las muestras para estudiarla a través del microscopio en la cámara húmeda, en donde el estudio se puede prolongar hasta 72 horas después.

En la primera parte realice en revisión histórica desde sus orígenes, allá en la época de la prehistoria, hasta los conocimientos de la actualidad estudiando este tópico con técnicas muy completas y complejas como la Inmunofluorescencia. Más adelante abordé a grandes rasgos las características esenciales de la Microscopía Contemporánea analizando sus principios físicos, ventajas e inconvenientes -

del uso y empleo de los sistemas ópticos con los que se dispone en la actualidad y su aplicación en el Campo de la Odontología.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bekker, I.: Aristotilis Opera, Ex recesione Immanuelis Baker, Accedunt Indices Syburgiani Typographic Academico. Oxonii (traducido al inglés del Tomo "Problemata" problema 22, Sección 14, Pág. 186, 1837).
- 2.- Determan, Hans y Friedrich Lepusch.: El Microscopio y su aplicación. Fábricas Leitz Wetzlar, Alemania Occidental.
- 3.- Fastlicht Samuel.: La Odontología en México Prehispánico, Pág. 89-109, 1971.
- 4.- Fox, J.: Natural History and Diseases of the Human Teeth Parte II Diseases of the teeth the Gums and the Alveolar Processes 3a. ed. London, E. Co. 1823.
- 5.- Jacob, E.: Detection of Oral Anaerobic Spirochetes in Dental Plaque by the Indirect Fluorescent-Antibody Technique. Journal of Clinical Microbiology Vol. 10. No. 6, p. 934-936, Dec. 1979.
- 6.- Kruif Paul (d).: Cazadores de Microbios. Edit. Diana, Pág. 9-31, 1963.
- 7.- Leeuwenhoek, Antony van.: Antony van Leeuwenhoek and his "Little Animals". Edited by Clifford Dobell. Pág. 236-255, 1960.
- 8.- Newman, Hubert N.: La Placa Dental. Edit. El Manual Moderno Pág. 1-86, 1982.
- 9.- Newman, H. N.: Immunoglobulins in human dental plaque. J. Periodontal Res. 14: 1-9, 1979.
- 10.- Oster Gerald.: Physical Techniques in Biological Research. Vol. III Cells and Tissues, Academic Press Inc., Publishers New York. Pág. 29-87- 91-138- 177-298, 1956.

- 11.- Robertson, David.: El Microscopio y la Vida. Edit. Historia Natural Destino. Pág. 8, 1980.
- 12.- Ruffe, M. A.: Studies in the Paleopathology of Egypt. Chicago, University of Chicago Press. 1921.
- 13.- Sampedro, José.: Técnica Micrográfica y Organografía Microscópica-Técnica Histológica. Edit. Francisco Méndez Oteo. Pág. 7-51- 53-72- 136-147, 1962.
- 14.- Schluger, Saul, D.D.S.: Enfermedad Periodontal. Cía. Editorial Continental, S. A. de C. V., México. Pág. 74-90- 23-67- 159-187- 225-265, 1982.
- 15.- Tolansky, F. R. S.: Interference Microscopy for the Biologist. Edit. I. Newton Kugelmass, M. D., Ph. D., Sc. D. Pág. 129-137, 1968.
- 16.- Weinberg, B.N.: Ortodontics and Historical Review of its Origin and Evolution St. Louis, C. V. Mosby Co., 1926.