
Modificación de una técnica de inclusión para observación de tejidos duros al microscopio electrónico de barrido

Anselmino, C.; Tanevitch, A., Durso, G., Batista, S.; Abal, A.; Llompart G.
Facultad de Odontología. Universidad Nacional de La Plata. 51 e/ 1 y 115.
La Plata (1900)

Para la observación del esmalte dentario al microscopio electrónico de barrido (MEB) es conveniente incluir la muestra en un material duro de manera de facilitar su manipulación durante el pulido y la visualización.² Para poner en evidencia las estructuras del tejido adamantino (prismas, sustancia interprismática, tipos de esmalte, etc.) la técnica aconseja realizar un acondicionamiento de la superficie luego de su pulido. En trabajos de estudio de esmalte de mamíferos se describe la técnica de inclusión con resinas epóxicas y luego su acondicionamiento con una solución de ácido clorhídrico al 10% durante 5 segundos. Para la inclusión se utiliza una cubeta plástica previamente lubricada con vaselina líquida. Se prepara una pequeña cantidad de resina en un vaso dappen según indicaciones del fabricante y cuando toma cierta consistencia se vierte en la cubeta 1 ó 2 mm y se ubica la pieza a incluir en posición adecuada. Se debe tener en cuenta que la cara que está hacia el piso de la cubeta es la que se va desgastar y por lo tanto es conveniente que tenga un mínimo espesor de resina. Se prepara una nueva porción de resina y se cubre la cubeta hasta el borde superior. Se debe dejar polimerizar la resina durante un mínimo de 24 horas, sin mover la cubeta y en un ambiente libre de humedad. Una vez desmoldado el bloque de resina se indica desgastar en forma progresiva con lijas al agua de grosores de 200, 600, 1200 y 2.200 μm y luego pulir la superficie con óxido de aluminio en polvo de 5 μm de granulación. Luego las muestras deben ser lavadas con agua a presión y con ultrasonido durante 10' y posteriormente grabadas con una solución de ácido clorhídrico al 10% durante 2" a 3". Una vez que se llevan a cabo todos estos procedimientos recién se estará en condiciones de proceder a pegar el bloque en los porta tacos para su posterior deshidratación, secado y metalización para ser observadas al MEB.³

Dado que, a pesar de tratarse de una técnica sencilla, encontramos dificultades como son el prolongado tiempo de polimerización de la resina, su costo elevado y el control preciso de la acción del ácido, siendo ésta la principal causa de fracaso. Por lo expuesto en este informe se describe una técnica de inclusión similar a la descrita con anterioridad en la cual utilizamos como material de inclusión una resina acrílica y como ácido acondicionador el ácido fosfórico al 35%.

Las resinas acrílicas son materiales orgánicos. Se presentan con dos componentes: un polvo (polímero) y un líquido (monómero). Al mezclar los dos componentes el producto obtenido tiene determinadas propiedades

físicas y químicas entre las que podemos nombrar: rigidez acompañada de escasa fragilidad, estabilidad dimensional, estabilidad de color y traslucidez. Estas resinas polimerizan químicamente por lo que se las denomina de autopolimerizado, curado en frío o autocurado. Para la activación química de la polimerización el líquido (monómero) contiene una amina terciaria (como la dimetil paratoluidina) que al tomar contacto con el peróxido de benzoílo (iniciador de la polimerización) que contiene el polvo (polímero) produce radicales libres para comenzar la polimerización.¹

Para la obtención del taco con el material incluido se utiliza la técnica de la resina fluida, mezclando en un recipiente de vidrio o porcelana el polvo y el líquido de acuerdo a las indicaciones del fabricante y se vacía en el molde donde está colocada la muestra a incluir. Aconsejamos identificar las muestras con etiquetas de papel usando lápiz de tinta endeble incorporadas en la resina. De acuerdo a la información disponible se requieren sólo 30 a 45 minutos para completar la polimerización. Una vez concluida la polimerización se puede proceder al desgaste y pulido de la muestra de la misma manera en que se realiza en la técnica original.

Como ácido acondicionador preferimos utilizar el ácido fosfórico al 35% durante 3 segundos. Éste tiene la ventaja de presentarse comercialmente en consistencia de gel coloreado en una jeringa aplicadora. Esto facilita la aplicación precisa en la zona a acondicionar, pudiendo delimitar el área y también permite visualizar con seguridad la eliminación total del ácido al lavar la superficie. Es útil la observación de las muestras con lupa estereoscópica, si se comprueban rayas producto de las lijas o la insuficiente acción del ácido, los pasos del desgaste, pulido y grabado pueden repetirse. Luego pueden ser montadas para su acondicionamiento y metalizado para ser observadas al MEB.

Las ventajas encontradas en la resina acrílica con respecto a la resina epóxica residen en su menor costo, su menor tiempo de polimerización y su consistencia más fluida al mezclar los componentes lo cual facilita su manipulación. Concluimos que las modificaciones propuestas a la técnica original optimizan sus resultados

BIBLIOGRAFÍA:

1-Anusovice, K. Ciencias de los materiales dentales de Phillips. 10ª edición. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 1996.

2-Koenigswald, W and Goin F. Enamel differentiation in South American marsupials and a comparison of placental and marsupial enamel. Paleontographica. Stuttgart. 2000.

3-Martin, T & Wahlert, J. Preparing teeth for viewing with scanning electron microscope (SEM). June 1; 1999.

<http://research.amnh.org/vertpaleo/enamel/prep.html>