

# El valor de las imágenes odontológicas en docencia y promoción de la salud oral

## The value of dental imaging in the teaching and promotion of oral health

Francisco Hernández-Chavarría y Patricia Hernández-Rivera

Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas. Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica. franciscohernandezch@gmail.com; patricia.hernandezrivera@ucr.ac.cr

Recibido 28 Junio 2013/Enviado para Modificación 12 Septiembre 2013/Aceptado 5 Marzo 2014

### RESUMEN

En el contexto de la gran diversidad de la microflora oral, con más de 600 especies, se resalta el valor pedagógico de las micrografías electrónicas de placa alba y las imágenes de cultivos bacterianos, realizados en modelos dentales hechos con medios de cultivo, que muestran colonias bacterianas en los sitios anatómicos de los dientes colonizados más abundantemente. Este tipo de imágenes facilita la comprensión de la magnitud del microbioma oral, a estudiantes de carreras biomédicas, especialmente odontología y al público en general, por lo que el uso de estas imágenes pueden ser utilizadas en docencia como en campañas de salud oral.

**Palabras Clave:** Placa dental, biopelícula, prevención primaria, educación en odontología (*fuentes: DeCS, BIREME*).

### ABSTRACT

In the context of the great diversity of oral microflora, including over 600 species, we highlight the educational value of electron micrographs and images of dental plaque cultures in dental models made with culture media, showing the bacterial colonies in the anatomic sites of the teeth that were most abundantly colonized. Such images allow for an easy understanding of the magnitude of the oral microbiome for students of biomedical careers —especially dentistry— and for the general public. As such, these images can be used in teaching programs and oral health campaigns.

**Key Words:** Dental plaque, biofilm, primary prevention, education, dental (*source: MeSH, NLM*).

La cavidad oral representa uno de los nichos microbianos más ricos del cuerpo humano y debido a que la boca actúa como puerta de entrada, aloja una flora transitoria importante. Sin embargo, en este contexto nos interesa más el concepto de microbiota residente, indígena o microbioma. Este último término involucra a la comunidad de comensales, simbioses y patógenos que ocupan un determinado nicho de nuestro cuerpo, independientemente de si están involucrados o no con procesos patógenos (1). Uno de esos nichos orales es la placa dental, conformada por una biopelícula que alberga una variedad importante de morfotipos bacterianos, que incluye desde anaeróbios estrictos, hasta aerobios en el extremo opuesto, con todas las posibles vías metabólicas intermedias.

En el estudio del microbioma oral se reflejan de una manera muy evidente, los avances en el conocimiento, pues hace un par de décadas, cuando los estudios bacteriológicos se basaban fundamentalmente en cultivo y aislamiento de agentes, se habían identificado unas 280 especies; sin embargo, la simple observación a fresco de una preparación de placa alba, evidenciaba una biodiversidad con morfotipos que no se reflejaba en los cultivos; era obvio que una gran mayoría de las bacterias observadas no eran cultivables; por lo tanto, esos estudios mostraban lo que sería equivalente a la punta de un iceberg (2). El panorama ha cambiado drásticamente con los métodos de biología molecular, que permiten identificar microorganismos no cultivables, basándose en el estudio de sus ácidos nucleicos, lo que ha incrementado notablemente el microbioma conocido, que incluye bacterias, arqueas, virus e incluso eucariotes, principalmente hongos; solo en bacterias involucra unos 619 especies o filotipos, clasificados en 13 filos (1) e incluso en saliva se han descrito más de 175 especies (3).

En el contexto de la salud pública la microbiota oral es responsable de infecciones orales como las caries y la enfermedad periodontal, que constituyen las infecciones humanas más comunes; además, se relacionan con otras enfermedades como endocarditis bacteriana, enfermedad cardiovascular, neumonías por aspiración, osteomielitis e incluso bajo peso al nacer (4). Inclusive, la enfermedad periodontal se ha relacionado en mujeres embarazadas con el riesgo de embarazos de pre-termino y por lo tanto, con niños con bajo peso al nacer. La explicación científica es debatida; sin embargo, existe evidencia de que las endotoxinas bacterianas asociadas con los agentes causantes de la enfermedad periodontal, incrementan las citoquinas y las prostaglandinas, las que aceleran la labor de parto (5,6,7).

Ese panorama complejo de patologías relacionadas con la flora oral, la ubica en un punto importante en las campañas de salud oral y dada la riqueza visual que representa la propia placa alba observada al microscopio electrónico o bien, la imagen de las colonias bacterianas cultivadas, es importante apoyarse en esas imágenes para facilitar su comprensión, tanto a los estudiantes de carreras biomédicas, especialmente odontología, como para ilustrar las campañas de salud oral, haciendo eco del viejo proverbio oriental de “Una lámina vale por diez mil palabras”.

En educación las imágenes constituyen un punto medular, especialmente cuando se trata de nociones abstractas, como podrían calificarse los microorganismos en el contexto de los programas de promoción de la salud, y su relevancia es aún mayor, cuando se trata de campañas dirigidas a la niñez, tal como ocurre con los programas de salud oral. No obstante, se recurre a personajes ficticios o caricaturas para indirectamente señalar a los microorganismos en la génesis de las caries dentales y otras patologías orales. Pero qué más efectividad que la imagen real y directa de las propias bacterias; por lo tanto, para ilustrar este concepto se realizaron diferentes procesos para visualizar la compleja trama microbiana que constituye la placa alba.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de placa alba empleando un palillo estéril de madera y se suspendieron en solución fijadora de Karnovski (2,5 % glutaraldehído y 2 % paraformaldehído en amortiguador de fosfatos) y se procesaron para microscopía electrónica (ME) siguiendo un proceso rápido empleando irradiación en un horno doméstico de microondas (8), que consistió en periodos de irradiación de 2 minutos a baja potencia (100 W), para los lavados, post-fijación en OsO<sub>4</sub> y deshidratación en una gradiente de alcohol etílico. Las muestras para ME de rastreo (MER), una vez alcohol al 100 % se embebieron en terbutanol, se congelaron y se secaron en un secador a presión reducida; mientras que las destinadas a ME de transmisión (MET) se embebieron en resina epóxica, se hicieron cortes ultrafinos y se sometieron a un proceso rápido de contraste mediante irradiación con microondas (9,10).

Para la elaboración de los modelos se tomaron impresiones dentales con alginato a diversos pacientes; posteriormente, las impresiones fueron llenadas con agar nutritivo o con agar tripticasa de soya con sales de

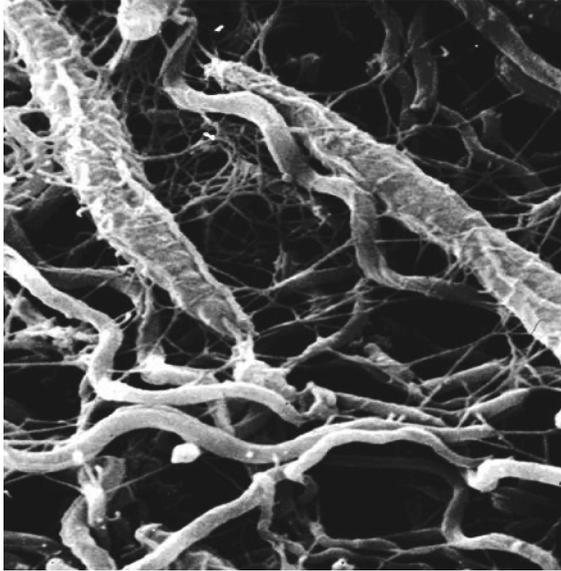
cloruro de trifeníl tetrasolium, para poner de manifiesto el metabolismo bacteriano, mediante una reacción cuyo producto final permite observar fácilmente las colonias, pues aparecen coloreadas (11). Los medios de cultivo se fundieron previamente y se mantuvieron a 50°C, hasta su vaciado en los moldes; este procedimiento se realizó en una cámara de flujo laminar. Una vez solidificado el agar se extrajeron los modelos asépticamente y se colocaron en placas estériles de Petri y se incubaron a 35°C por 24 horas (12,13).

## RESULTADOS

Los análisis de la placa alba en MER (Figura 1) muestran una trama de bacterias en la cual sobresalen las formas espiroquetales entrelazadas con morfotipos fusobacteriales, todos ellos embebidos en una maraña de filamentos delgados que posiblemente corresponden a mucopolisacáridos de la biopelícula. Los cortes ultrafinos de ese material, como se observa en la Figura 2, muestran microorganismos que aparecen en cortes transversales, oblicuos y longitudinales y que además corresponden de diversos morfotipos. Además, se evidencian relaciones de posibles dependencias o interrelaciones metabólicas debido a la estrecha relación entre microorganismos, como las formas bacilares que aparecen rodeadas por formas cocoides más electrodensas. Estas relaciones se muestran a mayor aumento en la Figura 3, que corresponde a un corte transversal de la forma bacilar, donde se aprecia la íntima relación espacial que guarda con los morfotipos cocoides más electrodensos y entre ellas se evidencia una matriz parcialmente electrolúcida, que podría corresponder a filamentos de glicocalix, actuando como un entramado de material extracelular que las mantiene unidas, posiblemente por dependencias metabólicas.

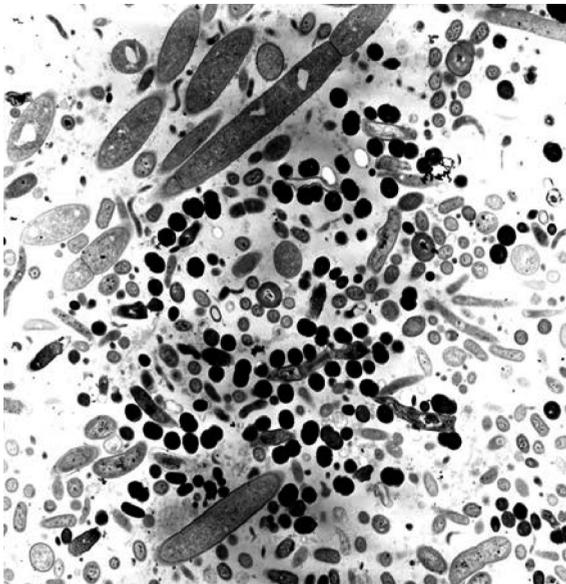
Por otra parte, los modelos realizados con medios de cultivo e incubados, muestran las colonias bacterianas distribuidas en sitios anatómicos específicos, donde se han localizado más agentes cultivables bajo las condiciones y medios de cultivo seleccionados para este estudio. Los medios con sales de CTT ponen en evidencia fácilmente las colonias (Figura 4), localizadas tanto en la corona como en el surco gingival, que corresponde al agar nutritivo, en la cual se evidencia que el surco gingival está marcado por un conglomerado de colonias mucoides que se han fundido, formando una masa en el contorno de las piezas dentales.

**Figura 1.** Micrografía electrónica de rastreo

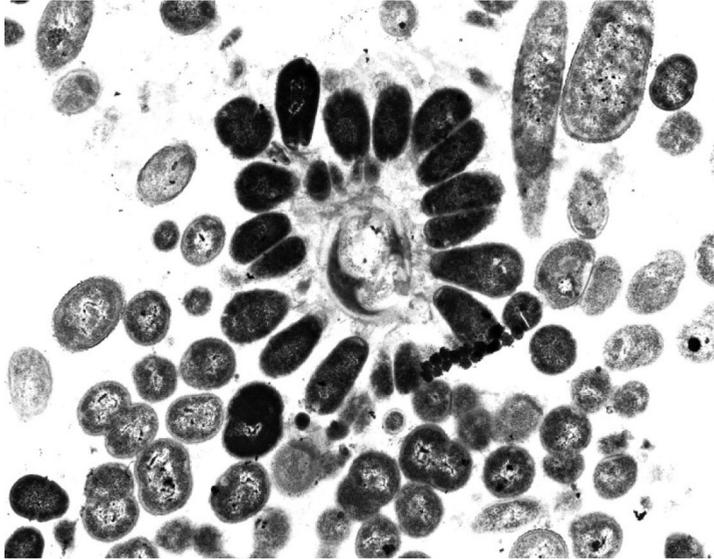


Se observa un conglomerado de bacterias espiroquetales en torno a dos fusiformes de mayor diámetro

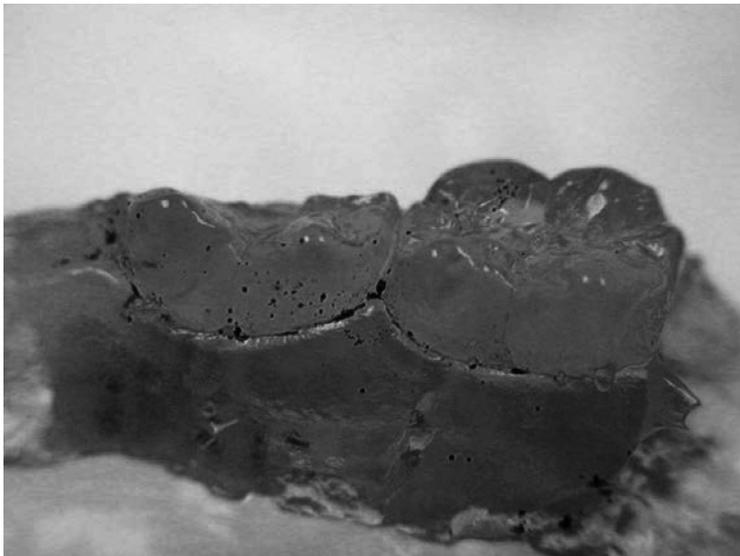
**Figuras 2.** Micrografías electrónicas de transmisión de morfotipos bacteriales (corte transversal y longitudinal, de diversos diámetros)



**Figura 3.** Micrografías electrónicas de transmisión de morfotipos bacteriales (corte transversal y longitudinal, de diversos diámetros)



**Figura 4.** Macrofotografías de modelos dentales realizados en medios de cultivo



Las sales de CTT colorean de rojo las colonias, por lo que se aprecian como puntos negros. En tanto en agar nutritivo aparecen de color blanquecino y en este caso se han fusionado a lo largo del surco gingival.

## DISCUSIÓN

Las imágenes de microscopía electrónica permiten apreciar aspectos de la flora oral, que muestran relaciones ecológicas complejas, correspondientes a verdaderos consorcios microbianos con dependencias bioquímico-nutricionales e incluso espaciales, como se aprecia en las Figuras 2 y 3. Adicionalmente el cultivo de parte de esa flora, realizado bajo condiciones simples, como es el empleo de agar nutritivo e incubado en aerobiosis a 35°C, permite recuperar únicamente agentes mesófilos aerobios; pero lo importante en este caso es mostrar la ubicación anatómica de las colonias bacterianas.

En docencia y en campañas de prevención se debe explotar el valor de las imágenes como recurso didáctico, para facilitar la comprensión de conceptos abstractos, como puede ser para un lego en la materia, la propia existencia de microorganismos. Las imágenes ayudan a demostrar objetivamente conceptos cuyas explicaciones verbales no siempre son comprendidas de forma similar por todas las personas, lo que hace que algunos individuos creen su propia imagen, según lo que comprendieron y en el peor de los casos, se puede alejar de la realidad. Por lo tanto, las imágenes, especialmente las fotografías de hechos reales representan un método pedagógico objetivo, para lograr que estudiantes y pacientes comprendan diversos conceptos. La comprensión de la biopelícula dental, como una maraña microbiana adosada a los dientes, puede resultar difícil de entender para algunos pacientes, pues se trata de un concepto prácticamente imperceptible a simple vista; si bien, los estudiantes que recién se inician en la odontología, podrían visualizarlo más fácilmente; no obstante, las imágenes, como las mostradas en este artículo, ayudarían a comprender el ecosistema microscópico que representa las variadas superficies de la cavidad oral.

Debido a que los conceptos del biopelícula oral son abstractos para un grupo importante de la población, promulgamos que el empleo de micrografías electrónicas como recurso explicativo, adicionalmente las fotografías de las colonias bacterianas en los modelos dentales realizados con medios de cultivo sólidos, también muestran la evidencia de ese mundo microscópico y se trata de imágenes reales; por lo que tienen un gran valor didáctico, tanto para pacientes como estudiantes de odontología.

Durante la elaboración de la presente investigación se garantizó el cumplimiento de los principios y normas éticas de la Declaración de

Helsinki de 1975 y sus posteriores revisiones y de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia ♦

*Conflicto de intereses:* Ninguno.

## REFERENCIAS

1. Dewhirst AFE, Chen T, Bruce JI, Tanner ACR, Yu W, Lakshmanan A, Paster WGW. The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010; 192(19):5002.
2. Paster BJ, Boches SK, Galvin J, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial Diversity in Human Subgingival Plaque. *J Bacteriol.* 2001;183: 3770–3783.
3. Hasan NA, Young BA, Minard-Smith AT, Saeed K, Li H, Heizer EM, et al. Microbial Community Profiling of Human Saliva Using Shotgun Metagenomic Sequencing. *PLoS One.* 2014; 9(5): e97699.
4. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 5721-5732.
5. Pretorius C, Jagatt A, Lamont RF. The relationship between periodontal disease, bacterial vaginosis and pretermbirth. *J Perinat Med.* 2007; 35(2): 93-99.
6. Kwar N, Alratty S. Periodontitis in pregnancy: The risk of preterm labor and low birth weight. *Dis Mon.* 2011; 57(4): 192-202.
7. Hujuel P. Untreated periodontitis in pregnant women may increase the risk for a low birthweight infant. *J Evid Base Dent Pract.* 2003; 3(1) 24-25.
8. Hernández-Chavarría F, Guillén R. Microwave processing for scanning electron microscopy. *Europ J Morphol.* 2000; 38: 109-111.
9. Hernández-Chavarría F, Vargas-Montero M. Rapid contrasting of ultrathin sections using microwave irradiation with heat dissipation. *J Microsc.* 2001; 203: 227-230.
10. Hernández-Chavarría F. Microwave irradiation for bacterial analysis at scanning electron microscope. *Rev Latinoamer Microbiol.* 2004; 46: 80-84.
11. Pérez LM, Álvarez BL, Codony F, Fittipaldi M, Adrados B, Peñuela G, Morató J. A new microtitre plate screening method for evaluating the viability of aerobic bacteria in high surface biofilms. *Letters in Applied Microbiology.* 2010; 51: 331-337.
12. Hernández P, Villalobos Y, Segura S, Chinchilla G, Rojas W, Cascante A, et al. Evaluación del efecto de la Clorhexidina y del desinfectante Esterident en la reducción de la carga bacteriana en impresiones dentales de alginato, tomadas a estudiantes universitarios con edades entre 20 y 27 años. *Rev Col MQC.* 2005; 11(Suplemento especial): 28-33.
13. Hernández-Rivera P, Hernández-Chavarría F. Real Images for prevention campaigns: A three dimensional model showing dental biofilm. *Rev Biomed.* 2014; 25: 98-100.