



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE ESPECIALIZACION EN REHABILITACION ORAL MENCION
IMPLANTOLOGIA

MICROFILTRACION BACTERIANA DE LA INTERFASE
PILAR IMPLANTE, ESTUDIO IN VITRO

TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO
DE ESPECIALISTA EN REHABILITACIÓN ORAL

ALUMNA: DENISE OLIVARES KELLER
PROFESOR GUIA: DR. CARLOS LARRUCEA VERDUGO

TALCA, CHILE

2016

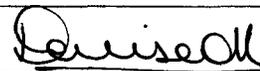
**AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN
DE MEMORIAS DE PREGRADO Y TESIS DE POSTGRADO**

Yo, **Denise Olivares Keller**, cédula de Identidad N° 16.654.995-7 autor de la memoria o tesis que se señala a continuación, autorizo a la Universidad de Talca para publicar en forma total o parcial, tanto en formato papel y/o electrónico, copias de mi trabajo.

Esta autorización se otorga en el marco de la Ley N° 20.435 que modifica la Ley N° 17.336 sobre Propiedad Intelectual, con carácter gratuito y no exclusivo para la Universidad.

Título de la memoria o tesis:	MICROFILTRACION BACTERIANA DE LA INTERFASE PILAR IMPLANTE, ESTUDIO IN VITRO
Unidad Académica:	FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
Carrera o Programa:	PROGRAMA DE ESPECIALIZACION EN REHABILITACION ORAL MENCION IMPLANTOLOGIA
Título y/o grado al que se opta:	ESPECIALISTA EN REHABILITACION ORAL MENCION IMPLANTOLOGIA
Nota de calificación	7.0

Firma de Alumno



Rut: 16.654.995 - 7

Fecha: 03 / 10 / 2016

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
2. HIPÓTESIS.....	8
3. OBJETIVOS	9
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
4. MARCO TEÓRICO.....	10
5. METODOLOGÍA	20
6. RESULTADOS.....	27
7. DISCUSIÓN	31
8. CONCLUSIONES	33
9. RESUMEN	34
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

1. INTRODUCCIÓN

El empleo de implantes dentales para tratar el edentulismo total y parcial se ha convertido en una modalidad terapéutica integrada en la odontología restauradora (Ekelund et al. 2003; Esposito 2015; Esposito et al. 2012; Hsu et al. 2014; Jorge et al. 2013).

La mayoría de los sistemas implantológicos actuales contienen dos componentes principales, una parte endosteal (el implante) y la conexión transmucosal (el pilar). Cuando el pilar es colocado en su correspondiente implante, se crea un microespacio, el cual da lugar a la interfaz pilar-implante (IPI). Investigaciones han demostrado que el microbioma oral puede proliferar en este microespacio y afectar a todos los tejidos periimplantares, causando inflamación en las cercanías del hueso alveolar (Hsu et al. 2014; Jorge et al. 2013; Koutouzis et al. 2016; Koutouzis et al. 2011; Ricomini Filho et al. 2010).

Hoy en día, es bien aceptado que la mucositis periimplantaria y periimplantitis son inducidas por biofilm, la presencia de periimplantitis se observa en el 10% a 50% de los casos de implantes fracasados después del primer año de carga, donde los microorganismos juegan un importante rol (Esposito et al. 1998). Por lo tanto, la identificación del microbiota o bacterias asociadas a la periimplantitis es crucial para la comprensión de su

patogénesis y de las bacterias que podrían servir como biomarcadores microbianos de esta condición (Emecen-Huja et al. 2015).

Estudios in vitro han descrito el potencial de fugas microbianas en la IPI, bajo condiciones de carga y no carga (Baggi et al. 2013; Gherlone et al. 2016; Koutouzis et al. 2014; Koutouzis et al. 2011). A pesar del hecho de que estos estudios in vitro mal imitan la realidad biológica, pueden ser útiles para comprender la dinámica de la IPI, y por lo tanto, contribuir a la mejora del diseño del microespacio. Por ejemplo, algunos de estos estudios in vitro han demostrado que el diseño de la IPI puede afectar la cantidad de penetración microbiana en la parte interna del implante, en donde los implantes con un diseño hexagonal externo han presentando la mayor penetración microbiana en la IPI bajo condiciones de carga y no carga.

Esta migración bacteriana a través de la IPI, también se ha correlacionado con las fuerzas de torque entre el pilar y el implante, los micromovimientos de los distintos componentes durante los ciclos de masticación y la precisión del ajuste entre el implante y el pilar. Pese a que la prevención completa de la penetración microbiana en la IPI no se ha demostrado in vitro, sí se han reportado resultados más favorables cuando los implantes con una conexión interna tipo cono morse han sido utilizados, siendo más estables y capaces de resistir la penetración de microorganismos en comparación con conexiones hexagonales internas y externas (Larrucea et al. 2014; Tripodi et al. 2015).

A pesar que ninguna bacteria puede ser identificada como la única responsable de la infección de cualquier sistema de implantes, se ha sugerido que uno de los patógenos periodontales clave en el desarrollo de las enfermedades periimplante es la *Porphyromonas gingivalis*, el ha sido asociado a la destrucción de los tejidos alrededor del implante (Cortelli et al. 2013). Rutar et al. 2001, reportaron una relación significativa entre la profundidad de sondaje en zonas peri-implante y la detección de *P. gingivalis*. Botero et al. 2005, compararon las especies bacterianas que se encontraban en el tejido peri-implante sano con las que se encontraban en tejidos con enfermedad peri-implantar y, determinaron que la *P. gingivalis* se encontraba sólo en los tejidos enfermos alrededor del implante..

Otro factor a considerar, es el valor de torque de cierre de los componentes sugeridas por los fabricantes, necesario para lograr el mejor efecto de acoplamiento en relación a la geometría del sistema. Estudios han evaluado distintos valores de torque en la unión del pilar protésico al implante concluyendo que un valor de torque más bajo sugirió un efecto de acoplamiento insuficiente y por ende mayor microfiltración bacteriana (Baggi et al. 2013; Larrucea et al. 2014). Mientras que en el estudio de Larrucea et al. 2014 las conexiones internas tipo cono morse la filtración de azul de metileno demostró ser independiente del torque aplicado mostrando valores menores al compararla con la conexión hexagonal interna y externa (Larrucea et al. 2014).

El perfecto asentamiento del complejo pilar-implante se puede corroborar, entre otros sistemas con la utilización de la micro-tomografía computarizada (micro-CT), un elemento de diagnóstico radiológico que permite analizar la microestructura y efectuar reconstrucciones tridimensional, que complementan la visualización de la IPI (Swain and Xue 2009). Sin embargo, no existe evidencia que evalúen esta variable en conjunto a lo anteriormente mencionado.

Por lo tanto, la prevención de filtraciones microbianas en la IPI es un reto importante para la construcción de sistemas de implantes de dos piezas que permitan minimizar las reacciones inflamatorias y maximizar la estabilidad del hueso alrededor del implante (Koutouzis et al. 2011), por tanto, el objetivo de esta investigación in vitro es determinar la presencia de microfiltración bacteriana marginal de la interfase implante pilar según el torque aplicado al pilar protésico.

2. HIPÓTESIS

Independiente de la fuerza de torque aplicado no existe microfiltración bacteriana en la interfaz implante-pilar in vitro ni falta de acoplamiento del complejo implante pilar, observado a través de micro-tomografía computarizada.

3. OBJETIVOS

Comparar la presencia de microfiltración bacteriana de la interfase implante pilar según el torque aplicado al pilar protésico in vitro.

3.1 Objetivos Específicos

- Determinar la presencia microfiltración bacteriana de la interfase pilar-implante con el pilar protésico unido al implante a 10, 20 y 30 Ncm de torque durante un intervalo de tiempo de 15 días.
- Comparar la microfiltración bacteriana de la interfase pilar-implante con el pilar protésico unido al implante con 10, 20 y 30 Ncm de torque durante un intervalo de tiempo de 15 días.
- Determinar a través de una micro-tomografía computarizada la interfaz pilar-implante para sistemas unidos con 10, 20 y 30 Ncm.

4. MARCO TEÓRICO

Siempre ha existido el deseo de sustituir los dientes perdidos con algo similar a un diente. La historia de los implantes con forma de raíz se remonta a miles de años atrás, e incluye a civilizaciones como los antiguos chinos, los cuales tallaban hace 4.000 años palos de bambú con forma de estacas y los introducían en el hueso para sustituir de forma fija los dientes. Hace 2.000 años, los egipcios empleaban metales preciosos con un método similar. Los incas de América Central tomaban fragmentos de conchas marinas y los introducían con martillos en el hueso con el fin de sustituir los dientes perdidos (Gomez et al. 1988; Smollon 1979).

Maggiolo introdujo la historia más reciente de la implantología oral en 1809, cuando utilizó oro con forma de raíz dentaria. En 1887, Harris describió el uso de dientes confeccionados con porcelana, en los que se habían ajustado unos pernos de platino recubiertos de plomo. Se examinaron diversos materiales y a comienzos del siglo XX, Lambotte fabricó implantes de aluminio, plata, bronce, cobre rojo, magnesio, oro y acero blando chapado con oro y níquel. Identificó la corrosión de varios de estos metales en los tejidos corporales, que se relacionaba con la acción electrolítica (Gomez et al. 1988).

En 1938, Strock introdujo en implantología oral la aleación quirúrgica de cobalto-cromo-molibdeno, al sustituir un incisivo superior izquierdo, un implante que duró más de 15 años (Smollon 1979). En 1946, Strock diseñó un implante de tornillo en dos etapas, que se insertaba sin un perno transmucoso. El perno del pilar de la corona individual se sumaba tras la cicatrización completa. La interfase deseable alrededor del implante en aquella época se describía como anquilosis, que puede equipararse al término clínico de fijación rígida. El primer implante enterrado que colocó Strock aún se encontraba funcional después de 40 años (Linkow and Dorfman 1991).

La osteointegración como tal, definida por primera vez por Bränemark, denota al menos, algún contacto directo del hueso vital con la superficie de un implante, bajo el nivel de magnificación del microscopio óptico. El porcentaje de contacto directo entre hueso e implante varia. El término osteointegración se ha convertido en algo común en la disciplina implantológica, y describe no solo una situación microscópica, sino también un estado clínico (Esposito 2015).

Ninguna otra persona en la historia reciente ha influido tanto en la concepción de los implantes con forma radicular como Bränemark. La documentación de los pasados estudios de casos clínicos, la investigación sobre la cirugía y la fisiología ósea, la cicatrización de los tejidos blandos y duros, y las aplicaciones restauradoras procedentes

del laboratorio de Bränemark no tienen precedentes (Esposito 2015; Gotfredsen et al. 2012).

El empleo de implantes dentales para tratar el edentulismo total y parcial se ha convertido en una modalidad terapéutica integrada en la odontología restauradora (Ekelund et al. 2003; Esposito 2015; Esposito et al. 2012; Hsu et al. 2014; Jorge et al. 2013).

Pese a todo, hoy en día la rehabilitación sobre implantes requiere más que la osteointegración exitosa, estudios han descrito la necesidad de una relación armónica entre los niveles tisulares periimplantares y la dentición existente para lograr una restauración estética y funcional. Esto se logra con un cuidadoso equilibrio de parámetros como, la morfología y superficie del implante, el estado del tejido receptor, la técnica quirúrgica utilizada, el diseño de la rehabilitación y el tipo de aplicación de carga (Ekelund et al. 2003).

El crecimiento exponencial del uso de implantes durante los últimos 20 años ha sido paralelo a la explosión en el campo de fabricación de los implantes. Actualmente, se dispone de más de 90 diseños, que ofrecen combinaciones innumerables de diseños de cuerpo implantario, formas de plataforma, diámetro, longitud, conexiones protésicas estado de la superficie e interfaces (Gracis et al. 2012).

La mayoría de los sistemas implantológicos actuales contienen dos componentes principales, una parte endosteal (el implante) y la conexión transmucosal (el pilar). Cuando el pilar es colocado en su correspondiente implante, se crea un microespacio, el cual da lugar a la interfaz pilar-implante (IPI). Investigaciones han demostrado que el microbioma oral puede proliferar en este microespacio y afectar a todos los tejidos periimplantares, causando inflamación en las cercanías del hueso alveolar (Hsu et al. 2014; Jorge et al. 2013; Koutouzis et al. 2016; Koutouzis et al. 2011; Ricomini Filho et al. 2010).

Hoy en día, es bien aceptado que la mucositis periimplantaria y periimplantitis son inducidas por biofilm, la presencia de periimplantitis se observa en el 10% a 50% de los casos de implante fracasados después del primer año de carga, donde los microorganismos juegan un importante rol (Esposito et al. 1998). Por lo tanto, la identificación de la microbiota o bacterias asociadas a la periimplantitis es crucial para la comprensión de su patogénesis y de las bacterias que podrían servir como biomarcadores microbianos de esta condición (Emecen-Huja et al. 2015).

Estudios longitudinales de la formación de biopelículas alrededor de los implantes dentales han demostrado que la colonización bacteriana se produce inmediatamente después de la colocación del implante (dentro de los 30 minutos) (Leonhardt et al. 1999).

La microbiota asociada a tejidos periimplantarios sanos esta dominada por cocos y bacilos grampositivos facultativos y, en menor proporción bacilos anaerobios gram negativos. La colonización inicial de lugares alrededor de implantes con bacterias asociadas a periimplantitis (por ejemplo, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythensis*) se detecta 2 semanas después de la colocación del implante, donde la composición de las bacterias alrededor de los dientes sanos y de sitios de implante sanos se ha reportado que sigue siendo similar durante un lapso de al menos 2 años (Fürst et al. 2007; Leonhardt et al. 1999).

Sin embargo, el presencia de patógenos periodontales en sitios periimplantarios no determina la pérdida o el fracaso de un implante, siempre que se mantengan medidas de higiene oral adecuada y exista mantención de terapia periodontal de soporte (van Winkelhoff et al. 2000).

A pesar que ninguna bacteria puede ser identificada como la única responsable de la infección de cualquier sistema de implantes, se ha sugerido que uno de los patógenos periodontales clave en el desarrollo de las enfermedades periimplante es la *Porphyromonas gingivalis*, un gram-negativo, pigmentado y anaeróbico, el cual no sólo es responsable de la enfermedad periodontal en la dentición natural, sino también se asocia con la destrucción del tejido alrededor del implante (Cortelli et al. 2013). (Salcetti et al. 1997), reportaron mayores tasas de UFC de especies como *P. gingivalis*, *T. forsythia*, y *T. denticola* en

implantes fallidos en comparación con implantes sanos. (Rutar et al. 2001), reportaron una relación significativa entre la profundidad de sondaje en zonas peri-implante y la detección de *P. gingivalis*. (Botero et al. 2005), compararon las especies bacterianas que se encontraban en el tejido peri-implante sano con las que se encontraban en tejidos con enfermedad peri-implantar y, determinaron que la *P. gingivalis* se encontraba sólo en los tejidos enfermos alrededor del implante. Entre los factores de virulencia de la *P. gingivalis* se encuentran fimbrias, su cápsula, erocolagenasa, y gingipains (Amano et al. 1999). En particular, las fimbrias de la *P. gingivalis* juegan un papel crítico en la adhesión a la célula huésped, lo que facilita la invasión bacteriana y la infección, también promueven la formación de placa temprana y regulan su maduración (Enersen et al. 2013). Diversas citoquinas inflamatorias (IL-1a, IL-beta, IL-6, TNF-a) expresadas por las fimbrias facilitan la resorción ósea alveolar (Kim et al. 2016).

Asimismo, se cree que las diferencias estructurales y topográficas entre la superficie de los implantes y la superficie de los dientes naturales pueden influir en una composición bacteriana única que aún no ha sido identificada (Renvert et al. 2014). Así, estudios adicionales que reconozcan estos conceptos son necesarios para caracterizar completamente la microbiota relacionada con enfermedad periimplantar. Como resultado, estos estudios pueden conducir a mejores estrategias de prevención y de manejo clínico de las periimplantitis.

Cuando un pilar protésico es posicionado en su implante y se crea el microgap entre sus componentes, microorganismos patógenos pueden crecer en la IPI y establecer un reservorio bacteriano resultando en un área de tejido blando inflamado revistiendo la unión pilar-implante (Ricomini Filho et al. 2010).

Estudios in vitro han descrito el potencial de fugas microbianas en la IPI, bajo condiciones de carga y no carga (Baggi et al. 2013; Gherlone et al. 2016; Koutouzis et al. 2014; Koutouzis et al. 2011). A pesar del hecho de que estos estudios in vitro mal imitan la realidad biológica, pueden ser útiles para la comprensión de la dinámica de la IPI, y por lo tanto contribuir a la mejora del diseño del microespacio. Por ejemplo, algunos de estos estudios in vitro han demostrado que el diseño de la IPI puede afectar la cantidad de penetración microbiana en la parte interna del implante, en donde los implantes con un diseño hexagonal externo han presentando la mayor penetración microbiana en la IPI bajo condiciones de carga y no carga. Esto puede explicar en parte los hallazgos histológicos de los estudios in vivo que evalúan los implantes con diseño de conexión hexagonal externo, que demuestran una mayor inflamación de tejido conjuntivo frente a la unión pilar implante (Martin-Gili et al. 2015).

Esta migración bacteriana a través de la IPI, también se ha correlacionado con las fuerzas de torque entre el pilar y el implante, los micromovimientos de los distintos componentes durante los ciclos de la masticación y la precisión del ajuste entre el implante y el pilar. Pese a que la prevención completa de la penetración microbiana en la IPI no se

ha demostrado in vitro, sí se han reportado resultados más favorables cuando los implantes con una conexión interna tipo cono morse han sido utilizados, siendo más estables y capaces de resistir la penetración de microorganismos en comparación con conexiones hexagonales internas y externas (Larrucea et al. 2014; Tripodi et al. 2015).

En todas las diferentes conexiones pilar-implante el tamaño de los microintervalos de la IPI aumenta durante la carga, fenómeno denominado efecto de bombeo, momento en el cual la infiltración bacteriana es mayor si se compara a un estado de reposo (Koutouzis et al. 2014).

Las Compañías de implantes han intentado reducir esta infiltración bacteriana mediante el aumento de la precisión y la estabilidad de las partes articuladas a través de la fabricación de piezas mecanizadas con un alto grado de precisión. La literatura describe que el desajuste en los componentes del pilar puede llegar a ser de hasta 66 μm en sentido vertical entre el pilar y el cuerpo implantario, 10° en sentido rotatorio y una discrepancia horizontal de hasta 99 μm . Estos datos oscilan dependiendo del tipo de sistemas de implantes. La tolerancia al mecanizado de algunos sistemas puede ser tan pequeña como 5 μm y menor de 1° en la rotación (Binon 1996; Binon and McHugh 1996).

La importancia de la posición, el tamaño y la geometría del microespacio en la IPI sobre los niveles de hueso marginal han sido objeto de varios estudios, demostrando que la

colonización bacteriana del microespacio es probablemente una consecuencia directa de un pobre o ineficiente grado de tolerancia entre el implante y el pilar y por consiguiente un mayor microespacio en la IPI. La precisión de la interfaz podría afectar la penetración de bacterias en los implantes, estableciendo de este modo un reservorio microbiológico. De hecho, otro factor a considerar, es el valor de torque para cierre de los componentes sugeridas por los fabricantes, necesario para lograr el mejor efecto de acoplamiento en relación a la geometría del sistema. Estudios han evaluado distintos valores de torque en la unión del pilar protésico al implante concluyendo que un valor de torque más bajo sugirió un efecto de acoplamiento insuficiente y por ende mayor microfiltración bacteriana (Baggi et al. 2013; Larrucea et al. 2014).

En el estudio presentado por Baggi et al. 2013, a pesar de que los pilares estaban conectados a los implantes con los valores de torque recomendados, la geometría de algunos sistemas permitió igualmente la entrada y la salida de microorganismos. Este hallazgo es probablemente debido al hecho de que distintos sistemas y marcas de implantes proporcionan distintos grados de tolerancias y geometrías de la interfaz que propician o dificultan la filtración bacteriana.

Larrucea et al. 2014, en su estudio in vitro, determinó que la conexión interna tipo cono morse presentó los menores niveles de microfiltración con azul de metileno que aquellos con una conexión externa con independencia de torque de torsión aplicado para

unir el pilar al implante, por lo que inferían que serían menos propensos a desarrollar inflamación de los tejidos periodontales, debido a la acumulación de bacterias en la interfaz entre el implante y el pilar, presentando probablemente una mayor tasa de éxito en el tratamiento. Además, de los niveles inferiores de microfiltración presentados, ellos recomiendan utilizar un torque de 30 Ncm para este tipo de conexión, ya que mejoraría el sellado.

Además como una forma de perfeccionar y enriquecer lo anteriormente expuesto, es que surge la utilización de micro-tomografía computarizada (micro-CT), tecnología que no ha cesado su evolución desde los años setenta, cuando inició su desarrollo. Gracias al procesamiento de este tipo de imágenes de diagnóstico radiológico, es posible obtener reconstrucciones tridimensionales que complementen la visualización de la IPI y el correcto acoplamiento del complejo implante-pilar (Swain and Xue 2009).

Por lo tanto, la prevención de fugas microbiana en la IPI es un reto importante para la construcción de sistemas de implantes de dos piezas que permitan minimizar las reacciones inflamatorias y para maximizar la estabilidad del hueso alrededor del implante (Koutouzis et al. 2011).

5. METODOLOGÍA

Se realizó un estudio experimental con abordaje metodológico cualitativo, en el cual la muestra se estableció por conveniencia seleccionando 25 implantes de conexión interna tipo cono morse de 10 mm longitud y con una plataforma de 3,75 mm (MG Mozo-Grau InHex, Valladolid España), estos implantes se encontraban preparados especialmente para este estudio, siendo perforados con un agujero transfiiciente de 1 mm de diámetro, tal como lo muestra la figura N° 1, venían premontados de fabrica sin torque con un pilar fijo hexagonal estándar para cementar con función transportador siguiendo el eje mayor del implante continuando el lecho del tornillo para la fijación del pilar (MG Mozo-Grau InHex con MTA, Valladolid España).

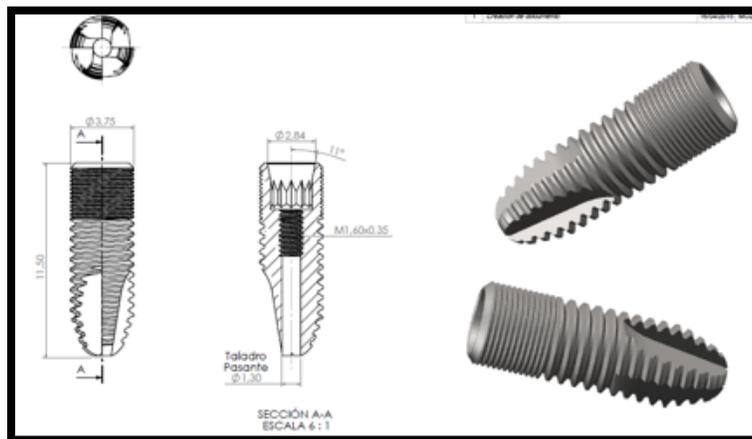


Figura N°1: Esquema del implante utilizado en el estudio

Cada implante con su respectivo pilar fue montado en un cilindro estandarizado de acrílico autopolimerizable transparente Marché (el cual fue preparado siguiendo las indicaciones del fabricante, esto es 1/3 de monómero por 2/3 de polímero, mezclado en un recipiente de silicona y mezclado con una espátula metálica), siendo sumergido hasta la primera rosca del implante y con una inclinación de 30° (Figura N° 2), esto debido a que la realización de ensayos de fatiga para implantes dentales y pilares prefabricados están sujetos a la norma ISO 14801:2008, la cual exige posicionar los implantes rectos en un ángulo útil constante de 30° para ensayar, lo que garantiza que el montaje no se limite sobre el implante.



Figura N°2: Montaje de la muestra en cilindro de acrílico autopolimerizable en 30°

Posteriormente, a cada pilar se le aplicó una fuerza de roscado (torque), distribuyéndose por muestreo aleatorio simple (con www.random.org) en cinco grupos experimentales, según el torque aplicado al pilar protésico, siendo divididos en cinco grupos:

- Grupo I: Pilar protésico unido al implante con 10 Ncm (n=5)
- Grupo II: Pilar protésico unido al implante con 20 N de torque (n=5)
- Grupo III: Pilar protésico unido al implante con 30 N de torque (n=5)
- Control negativo: Pilar protésico unido al implante con 30 N de torque y sellado en la interfaz con adhesivo de cianoacrilato (Fenedur, Uruguay) (n=5)
- Control positivo: Pilar protésico unido al implante con un torque inferior a 10 Ncm (n=5)

Finalizada la aplicación de fuerza de roscado, el cual fue realizado por solo un investigador con una llave de torque estandarizada suministrada por la marca Mozo-Grau (Valladolid España), el acceso al tornillo del pilar fue sellado con teflón y encima se aplicó Fermin® (Detax Dental, Ettlingen, Alemania). Consecuentemente se procedió a realizar sobre las 25 muestras ciclos de cargas oclusales en dirección perpendicular respecto a la horizontal sobre el pilar. La carga fue 2000 ciclos de 10 kg cada 0,5 segundos (Figura N°3).

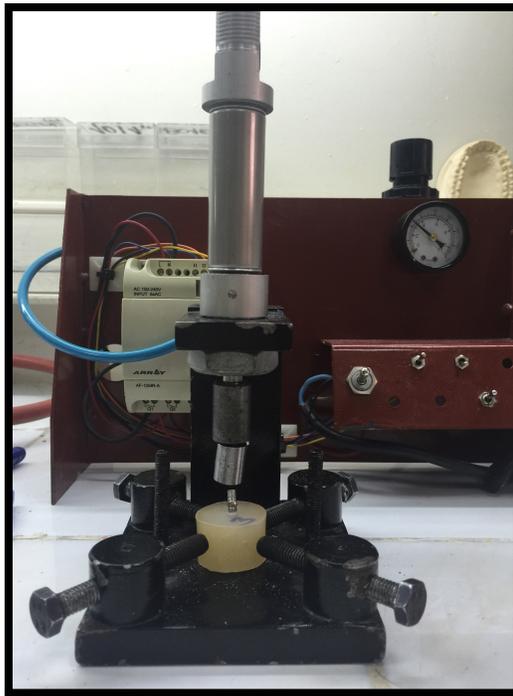


Figura N°3: Ciclos de carga oclusal sobre las muestras

Posteriormente, las 25 muestras en estudio fueron sometidas a sesiones de termociclado durante dos sesiones de 300 ciclos en agua a 5°C durante 5 segundos y luego a 50°C durante otros 5 segundos. Terminado el ciclo de carga y termociclado, todas las muestras se extrajeron de los cilindros estandarizados de acrílico autopolimerizable, donde una muestra de cada grupo (elegida por muestreo aleatorio simple según www.random.org) fue acoplada sobre una plataforma de teflón (Fig. 4) y escaneadas con un micro-CT (Nikon XT H 225, Tokio Japon), los parámetros de rayos X utilizados fueron 140 kV de voltaje para el tubo y 90 μ A de corriente. Se tomaron 720 imágenes y 4 cuadros por proyección para la reconstrucción volumétrica en 3D.



Figura N°4: Plataforma de teflón con el montaje de la muestra para micro-CT

Las muestras restantes (n=20) fueron montadas en dispositivos construidos de acuerdo con el modelo de filtración bacteriana (Monardes et al, 2014), compuesto de dos cámaras conectadas por medio del implante (Figura N° 5), una superior que corresponde a un tubo Eppendorf (Biologix Research Company, USA) de 1,5 ml de volumen, con una tapa de cierre hermético, y una cámara inferior de vidrio de 5 ml con tapa plástica. El tubo Eppendorf fue cortado en el extremo y el implante se colocó en su interior, con el pilar sobresaliendo del tubo en contacto con el interior de la cámara de vidrio inferior. La línea de unión entre el tubo y el implante fue sellado con resina fluida (Filtek flow, 3M ESPE Dental Products St. Paul, Minnesota EEUU).



Figura N°5: Modelo de filtración bacteriana

Inmediatamente después, el tubo Eppendorf fue fijado a la tapa plástica del frasco de vidrio con adhesivo de cianoacrilato (Fenedur, Uruguay), adicionando una aguja de calibre 30G tipo Luer (Cranberry®, China) que permita el ingreso del caldo de cultivo fresco y la liberación de gases. El dispositivo se dejó reposar por 24 horas y luego fue esterilizado con óxido de etileno.

Los dispositivos esterilizados fueron abiertos en un ambiente estéril, dentro de un Gabinete de Bioseguridad Clase II (NuAire™, Plymouth, USA) y se procedió a cargar con caldo de cultivo agar semisólido tioglicolato la cámara superior (Becton, Dickinson and Co. 7 Loveton Circle, Sparks, MD 21152 USA).

Posteriormente se cargó la cámara inferior con una suspensión de *P. gingivalis*, el cual fue aislado de origen clínico e identificado bajo biología molecular en caldo tioglicolato. Para comenzar el estudio se realizó un inóculo al 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml) (Probac do Brasil, Sao Paulo, Brasil), quedando los pilares de los implantes sumergidos en el medio de cultivo contaminado. Consecutivamente de realizar esto, las muestras fueron divididas en dos grupos el grupo N°1 estuvo bajo condiciones de incubación sin agitación constante y el grupo N°2 estuvo en incubación con agitación constante a 150 RPM, llevando a cabo el estudio por duplicado. La incubación se llevo a cabo por 15 días a 37°C en anaerobiosis en una estufa de cultivo (VWR, Sheldon Manufacturing, Inc. Mod.1510E-2,USA) con aporte permanente de medio nutricional fresco, para determinar el crecimiento bacteriano en la cámara superior, el cual se observó diariamente a través de una luz transversal, mediante la aparición de turbidez del medio.

Se consideró positiva la presencia de turbidez en gran parte del tubo eppendorf. Una vez determinada la turbidez, el frasco se separó de la muestra y se registró el número de días en que se produjo la filtración y el grupo al cual pertenecía. De los frascos que presentaron crecimiento se tomó una muestra para cultivarla en medio bilis esculina y en un medio de agar con NaCl 6,5% para confirmar la cepa bacteriana.

6. RESULTADOS

Luego del procesamiento de las 20 muestras en el modelo de filtración bacteriana, los resultados del estudio en duplicado se resumen en la tabla N°1.

Fuerza de torque aplicada y presencia o ausencia de agitación		Días														% de muestras contaminadas	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		15
10 Ncm	Con Agitación	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	100%
	Sin Agitación	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	50%
20 Ncm	Con Agitación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Sin Agitación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
30 Ncm	Con Agitación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Sin Agitación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
30 Ncm + Sellante	Con Agitación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
	Sin Agitación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0%
Menos de 10 Ncm	Con Agitación	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	100%
	Sin Agitación	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	100%
% de muestras contaminadas según el día		-	-	15%	15%	15%	15%	15%	15%	15%	15%	15%	15%	15%	15%	15%	

Tabla N°1: Cantidad de muestras con filtración bacteriana, según el número de día en el que se produjo la filtración y porcentaje de muestras con presencia bacteriana al final del experimento y según el día.

Se observa que tanto en las muestras con 10 Ncm de torque (torque manual) y el control positivo con un torque menor a los 10 Ncm se evidenció filtración bacteriana desde la cámara de vidrio inferior al tubo Eppendorf, lo cual se corroboró con la presencia de turbidez en el medio. Donde el 100% de las muestras del control positivo (n=4) con y sin agitación presentaron filtración bacteriana, y para el grupo con 10 Ncm este número ascendió al 75% (sólo una muestra sin agitación no presentó filtración bacteriana) (n=3).

También es posible corroborar, que el número de muestras en que existió filtración bacteriana según el día respectivo en el que se evidenció la turbidez del medio de cultivo de tioglicolato, en las siete muestras con filtración bacteriana, esta se produjo a partir del día número 3.

Respecto de la observación a través del Micro-CT, la figura 6 muestra la interfaz de conexión del control positivo, a la cual se le aplicó un torque menor a 10 Ncm. Se ve una asimetría entre las paredes opuestas en el Close-up de la visión frontal. Esta imagen se condice con los resultados microbiológicos expuestos, donde la evidente falta de ajuste entre el implante y el pilar propició la filtración bacteriana entre el tubo eppendorf y la cámara de vidrio inferior.

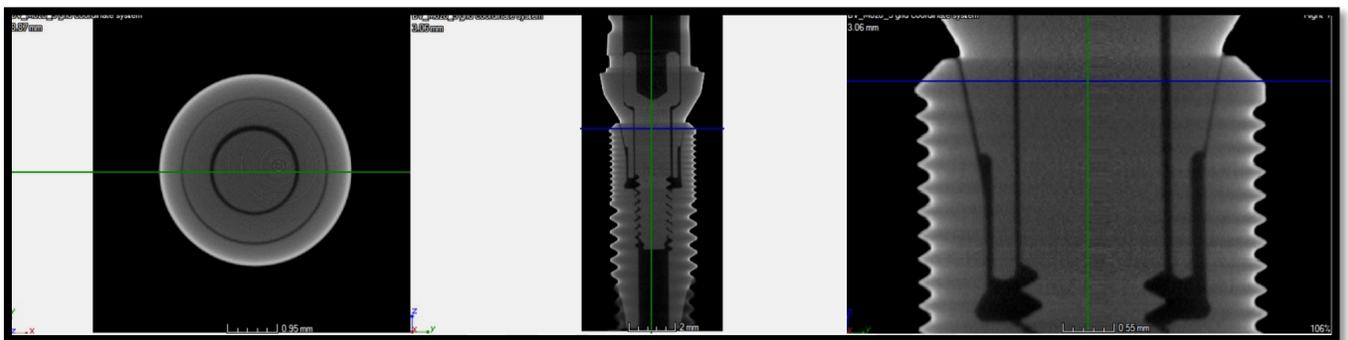


Figura N°6: Interfaz del pilar del control positivo (menos de 10 Ncm de toque), ventana de visualización de 8,87x3,36 mm. I: Visión transversal. II: Visión frontal. III: Close-up de la visión frontal.

Tanto las imágenes del grupo I (figura N° 7), como de los restante grupos II, III y control negativo (figuras 8, 9 y 10, respectivamente) a la observación en el micro-CT no fue posible confirmar la presencia de desajustes de la interfaz pilar implante a nivel de la trayectoria de pilar en ninguna de las visiones, transversal, frontal ni en el Close-up de la visión frontal.

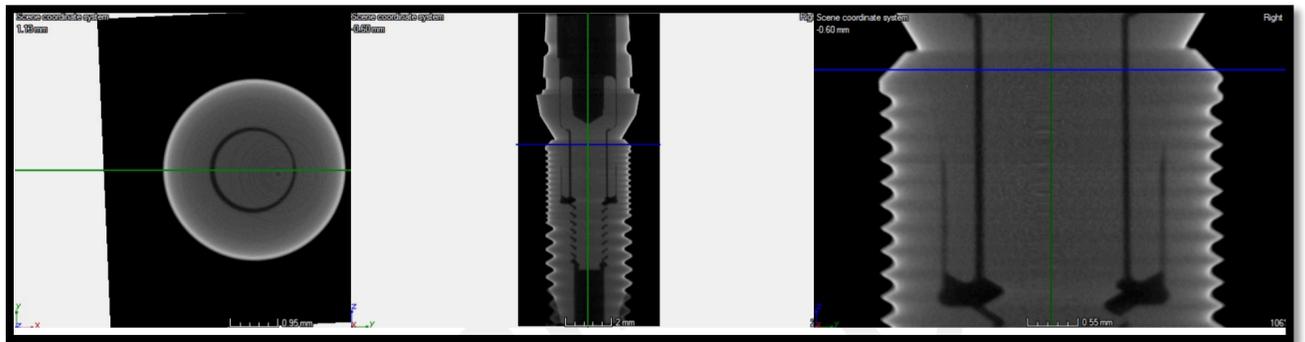


Figura N°7: Interfaz del pilar del grupo I 10 Ncm de torque, ventana de visualización de 4,53x2,63 mm. I: Visión transversal. II: Visión frontal. III: Close-up de la visión frontal.

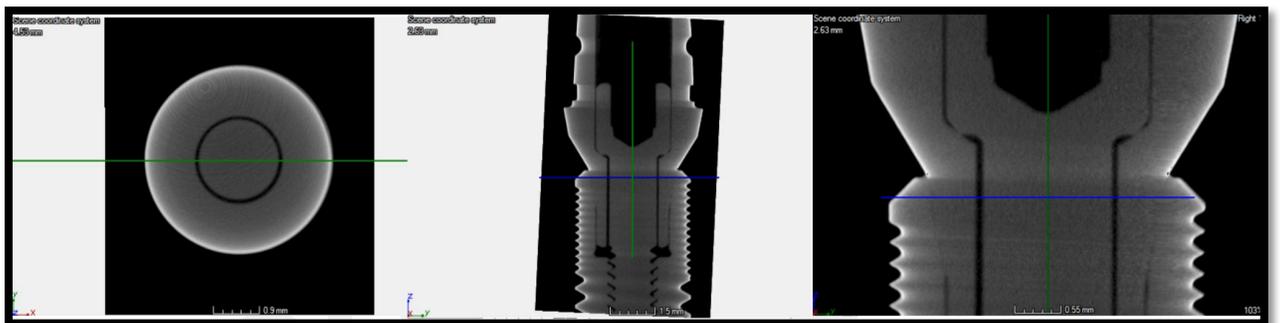


Figura N°8: Interfaz del pilar del grupo II (20 Ncm de torque), ventana de visualización de 4,53x2,63 mm. I: Visión transversal. II: Visión frontal. III: Close-up de la visión frontal.

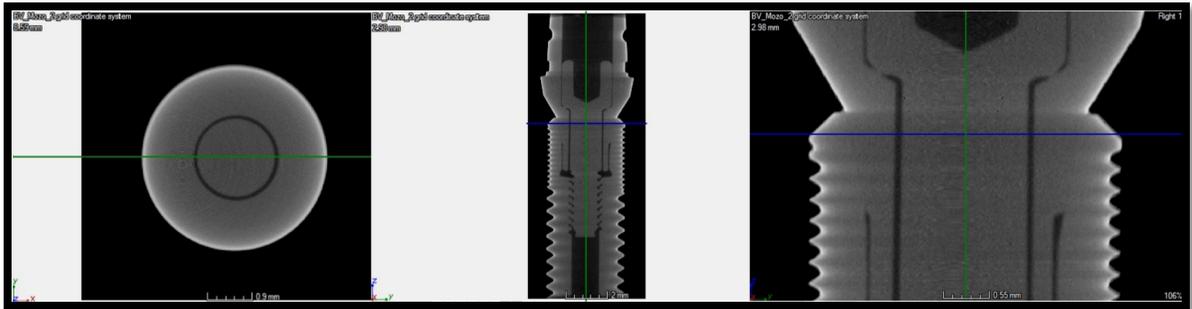


Figura N°9: Interfaz del pilar del grupo III (30 Ncm de torque), ventana de visualización de 8,59x2,98 mm. I: Visión transversal. II: Visión frontal. III: Close-up de la visión frontal.

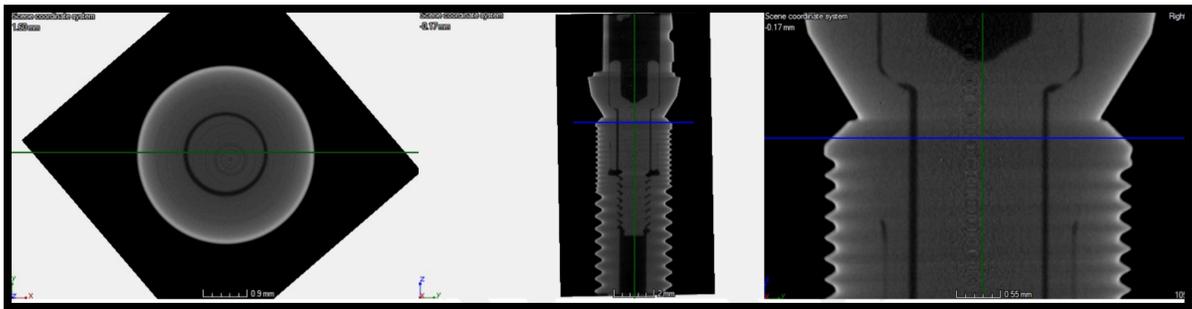


Figura N°10: Interfaz del pilar del control negativo (más de 30 Ncm de torque y sellante en la interfaz), ventana de visualización de 1,60x-0,67 mm. I: Visión transversal. II: Visión frontal. III: Close-up de la visión frontal.

7. DISCUSIÓN

Los resultados anteriormente expuestos expresan la inexistencia de filtración bacteriana en implantes de hexágono interno, cuando en estos se aplica una fuerza de torque de 20 o 30 Ncm, lo cual se condice lo recomendado por el fabricante (20 Ncm) y rechaza la hipótesis planteada, ya que se evidenció la filtración bacteriana en la IPI en las muestras con una fuerza de torque manual (10 Ncm) además de la evidente falta de ajuste entre el implante y el pilar mostrada por la micro-CT.

La colonización bacteriana de la IPI ha sido objeto de estudio, y se sabe que depende de factores como, el ajuste de precisión entre los componentes del implante, las fuerzas de torsión entre los componentes y las fuerzas de carga cuando los implantes están en función (Zipprich et al. 2016).

El estudio expuesto, intentó simular las condiciones de carga mecánica a las que esta expuesto el sistema implante pilar (compresión y torsión), a través de ciclos de carga oclusal y termociclado. Condiciones que también han intentado simular distintos estudios (Baggi et al. 2013; do Nascimento et al. 2012; Koutouzis et al. 2016; Koutouzis et al. 2014; Larrucea et al. 2014).

Se determinó que la filtración bacteriana de la interfaz, esta influenciada por la agitación constante del sistema de cámaras utilizado en este experimento, tal como también lo demostró (Koutouzis et al. 2014), quien en su estudio, sin embargo, trabajo con *E. coli*. No obstante, en esta investigación se trabajo con *P. gingivalis*, ya que es un microorganismo ampliamente aislado de zonas con mucositis y periimplantitis (Kumar et al. 2012).

Autores como Baggi et al. 2013, demostraron que a pesar de que los pilares fueran conectados a implantes con valores de torque recomendados, la geometría de algunos sistemas permitía igualmente la entrada y salida de microorganismos. Hallazgo que no se relaciona con los resultados anteriormente expuestos, ya que cuando se aplicó la fuerza de torque recomendada por el fabricante (20 Ncm) o incluso más (30 Ncm), no se evidenció la presencia de filtración bacteriana y tampoco deformación de la geometría del pilar al interior del implante, información corroborada con las imágenes escaneadas que arrojó el micro-CT. Sin embargo, estos resultados deben tomarse con cautela, ya que el sistema simulado es más pasivo de lo percibido in vivo.

Cuando la fuerza de unión entre el sistema implante pilar es menor, sugiere una evidente falta de acoplamiento en el sistema, reflejándose con la presencia de filtración bacteriana, situación corroborada por autores como Baggi et al. 2013 y Larrucea et al. 2014, este último demostró que la IPI fue permeable para el azul de metileno cuando a los implantes de conexión interna se les aplicó la fuerza de torque recomendada por el fabricante (20 Ncm).

8. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados presentados en este estudio in vitro, podemos concluir que:

- Las diferentes fuerzas de torque aplicadas al sistema implante pilar condicionan la permeabilidad bacteriana de la interfaz pilar implante existiendo niveles de microfiltración cuando el torque aplicado es menor que el recomendado por el fabricante (20 Ncm).
- El acoplamiento del sistema pilar implante es dependiente del torque aplicado al sistema, mostrando desajustes de la interfaz para fuerzas de torque menores o iguales a 10 Ncm.
- Sólo la imagen del grupo control positivo (menos de 10 Ncm de torque) mostro a través del Micro-CT una evidente falta de ajuste entre el implante y el pilar, al contrastar con las restantes.

Considerando que estos estudios in vitro mal imitan la realidad biológica, se pide tomar estos resultados con cautela, ya que como se menciono, otros estudios han mostrado permeabilidad en la IPI cuando se les aplico el torque recomendado por el fabricante, por tanto, es necesario realizar más estudios que analicen la IPI en bocas artificiales que permitan un acercamiento más real a las condiciones orales in vivo.

9. RESUMEN

Palabras Clave: Implantes, Interfaz pilar-implantes, Filtración bacteriana

La mayoría de los sistemas implantológicos actuales contienen dos componentes principales, una parte endosteal (el implante) y la conexión transmucosal (el pilar). Cuando el pilar es colocado en su correspondiente implante, se crea un microespacio, el cual da lugar a la interfaz pilar-implante (IPI). Investigaciones han demostrado que el microbioma oral puede proliferar en este microespacio y afectar a todos los tejidos periimplantares, causando inflamación en las cercanías del hueso alveolar. Estudios *in vitro* han descrito el potencial de fugas microbianas en la IPI, bajo condiciones de carga y no carga y también ha sido correlacionada con las fuerzas de torque entre el pilar y el implante, los micromovimientos de los distintos componentes durante los ciclos de masticación y la precisión del ajuste entre el implante y el pilar. Por lo tanto, la prevención de filtraciones microbianas en la IPI es un reto importante para la construcción de sistemas de implantes de dos piezas que permitan minimizar las reacciones inflamatorias y maximizar la estabilidad del hueso alrededor del implante, por tanto, el objetivo de esta investigación *in vitro* es determinar la presencia de microfiltración bacteriana marginal de la interfase implante pilar según el torque aplicado al pilar protésico. Para esto se realizó, un estudio experimental con abordaje metodológico cualitativo en el que se seleccionaron 25 implantes de conexión interna tipo cono morse, estos fueron conectados a un pilar protésico con fuerzas de torque de 10, 20 y 30 Ncm, además de un control positivo y un control negativo, las muestras se sometieron a ciclos de carga oclusal y termociclado, una muestra de cada grupo fue observada en un micro-CT, las restantes muestras fueron montadas en dispositivos contruidos de acuerdo con el modelo de filtración bacteriana y se determinó la filtración bacteriana mediante la aparición de turbidez en el medio en la cámara con caldo estéril. Se determinaron los días transcurridos para verificar el crecimiento bacteriano. Se observó presencia de filtración bacteriana en las muestras con 10 Ncm de torque y en el control positivo, además fue posible observar una evidente falta de ajuste entre el implante y el pilar para la muestra del control positivo, lo cual se evidencio a través de la observación con el micro-CT.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amano A, Nakagawa I, Kataoka K, Morisaki I, Hamada S. 1999. Distribution of porphyromonas gingivalis strains with fimA genotypes in periodontitis patients. *J Clin Microbiol.* 37(5):1426-1430.
- Baggi L, Di Girolamo M, Mirisola C, Calcaterra R. 2013. Microbiological evaluation of bacterial and mycotic seal in implant systems with different implant-abutment interfaces and closing torque values. *Implant Dent.* 22(4):344-350.
- Binon PP. 1996. The effect of implant/abutment hexagonal misfit on screw joint stability. *Int J Prosthodont.* 9(2):149-160.
- Binon PP, McHugh MJ. 1996. The effect of eliminating implant/abutment rotational misfit on screw joint stability. *Int J Prosthodont.* 9(6):511-519.
- Botero JE, González AM, Mercado RA, Olave G, Contreras A. 2005. Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol.* 76(9):1490-1495.
- Cortelli SC, Cortelli JR, Romeiro RL, Costa FO, Aquino DR, Orzechowski PR, Araújo VC, Duarte PM. 2013. Frequency of periodontal pathogens in equivalent peri-implant and periodontal clinical statuses. *Arch Oral Biol.* 58(1):67-74.
- do Nascimento C, Miani PK, Pedrazzi V, Gonçalves RB, Ribeiro RF, Faria AC, Macedo AP, de Albuquerque RF. 2012. Leakage of saliva through the implant-abutment interface: In vitro evaluation of three different implant connections under unloaded and loaded conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 27(3):551-560.
- Ekelund JA, Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. 2003. Implant treatment in the edentulous mandible: A prospective study on brånemark system implants over more than 20 years. *Int J Prosthodont.* 16(6):602-608.
- Emecen-Huja P, Hasan I, Miller CS. 2015. Biologic markers of failing implants. *Dent Clin North Am.* 59(1):179-194.
- Enersen M, Nakano K, Amano A. 2013. Porphyromonas gingivalis fimbriae. *J Oral Microbiol.* 5.
- Esposito M. 2015. Editorial: A tribute to professor per-ingvar brånemark. *Eur J Oral Implantol.* 8(1):3-4.

- Esposito M, Grusovin MG, Worthington HV. 2012. Treatment of peri-implantitis: What interventions are effective? A cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol.* 5 Suppl:S21-41.
- Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. 1998. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (ii). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci.* 106(3):721-764.
- Fürst MM, Salvi GE, Lang NP, Persson GR. 2007. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 18(4):501-508.
- Gherlone EF, Capparé P, Pasciuta R, Grusovin MG, Mancini N, Burioni R. 2016. Evaluation of resistance against bacterial microleakage of a new conical implant-abutment connection versus conventional connections: An in vitro study. *New Microbiol.* 39(1):49-56.
- Gomez M, Avila R, Landa S. 1988. [historical development of dental implantology]. *Rev Esp Estomatol.* 36(4):303-310.
- Gotfredsen K, Wiskott A, 4 WG. 2012. Consensus report - reconstructions on implants. The third eao consensus conference 2012. *Clin Oral Implants Res.* 23 Suppl 6:238-241.
- Gracis S, Michalakis K, Vigolo P, Vult von Steyern P, Zwahlen M, Sailer I. 2012. Internal vs. External connections for abutments/reconstructions: A systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 23 Suppl 6:202-216.
- Hsu YT, Mason SA, Wang HL. 2014. Biological implant complications and their management. *J Int Acad Periodontol.* 16(1):9-18.
- Jorge JR, Barão VA, Delben JA, Faverani LP, Queiroz TP, Assunção WG. 2013. Titanium in dentistry: Historical development, state of the art and future perspectives. *J Indian Prosthodont Soc.* 13(2):71-77.
- Kim SG, Hong JY, Shin SI, Moon JH, Lee JY, Herr Y. 2016. Prevalence of porphyromonas gingivalis fima genotypes in the peri-implant sulcus of koreans assessed using a new primer. *J Periodontal Implant Sci.* 46(1):35-45.
- Koutouzis T, Gadalla H, Lundgren T. 2016. Bacterial colonization of the implant-abutment interface (iai) of dental implants with a sloped marginal design: An in-vitro study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 18(1):161-167.
- Koutouzis T, Mesia R, Calderon N, Wong F, Wallet S. 2014. The effect of dynamic loading on bacterial colonization of the dental implant fixture-abutment interface: An in vitro study. *J Oral Implantol.* 40(4):432-437.

- Koutouzis T, Wallet S, Calderon N, Lundgren T. 2011. Bacterial colonization of the implant-abutment interface using an in vitro dynamic loading model. *J Periodontol.* 82(4):613-618.
- Kumar PS, Mason MR, Brooker MR, O'Brien K. 2012. Pyrosequencing reveals unique microbial signatures associated with healthy and failing dental implants. *J Clin Periodontol.* 39(5):425-433.
- Larrucea Verdugo C, Jaramillo Núñez G, Acevedo Avila A, Larrucea San Martín C. 2014. Microleakage of the prosthetic abutment/implant interface with internal and external connection: In vitro study. *Clin Oral Implants Res.* 25(9):1078-1083.
- Leonhardt A, Renvert S, Dahlén G. 1999. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implants Res.* 10(5):339-345.
- Linkow LI, Dorfman JD. 1991. Implantology in dentistry. A brief historical perspective. *N Y State Dent J.* 57(6):31-35.
- Martin-Gili D, Molmeneu M, Fernandez M, Punset M, Giner L, Armengou J, Gil FJ. 2015. Determination of fluid leakages in the different screw-retained implant-abutment connections in a mechanical artificial mouth. *J Mater Sci Mater Med.* 26(7):211.
- Monardes, C. H.; Abarca, R. J. & Castro, H. P. Microfiltración apical de dos cementos selladores. Un estudio in vitro. *Int. J. Odontostomat.*, 8(3):393-398, 2014.
- Renvert S, Aghazadeh A, Hallström H, Persson GR. 2014. Factors related to peri-implantitis - a retrospective study. *Clin Oral Implants Res.* 25(4):522-529.
- Ricomini Filho AP, Fernandes FS, Straioto FG, da Silva WJ, Del Bel Cury AA. 2010. Preload loss and bacterial penetration on different implant-abutment connection systems. *Braz Dent J.* 21(2):123-129.
- Rutar A, Lang NP, Buser D, Bürgin W, Mombelli A. 2001. Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions. *Clin Oral Implants Res.* 12(3):189-195.
- Salcetti JM, Moriarty JD, Cooper LF, Smith FW, Collins JG, Socransky SS, Offenbacher S. 1997. The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 12(1):32-42.
- Smollon JF. 1979. A review and history of endosseous implant dentistry. *Georgetown Dent J.* 63(1):33-45.
- Swain MV, Xue J. 2009. State of the art of micro-ct applications in dental research. *Int J Oral Sci.* 1(4):177-188.

- Tripodi D, D'Ercole S, Iaculli F, Piattelli A, Perrotti V, Iezzi G. 2015. Degree of bacterial microleakage at the implant-abutment junction in cone morse tapered implants under loaded and unloaded conditions. *J Appl Biomater Funct Mater.* 13(4):e367-371.
- van Winkelhoff AJ, Goené RJ, Benschop C, Folmer T. 2000. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res.* 11(6):511-520.
- Zipprich H, Miatke S, Hmaidouch R, Lauer HC. 2016. A new experimental design for bacterial microleakage investigation at the implant-abutment interface: An in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 31(1):37-44.