

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología I



**ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS DE
SALUD PERIODONTAL Y PERIIMPLANTARIA COMO
REFERENCIA A COMPLICACIONES INFECCIOSAS DE LOS
IMPLANTES DENTALES**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Roberto López Piriz

Bajo la dirección del doctor

José Prieto Prieto

Madrid, 2013

© Roberto López Piriz, 2012

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Medicina
Departamento de Microbiología I



Tesis Doctoral

**Estudio de la correlación
entre parámetros de salud
periodontal y periimplantaria
como referencia a
complicaciones infecciosas de
los implantes dentales.**

Roberto López Píriz

Madrid 2012

Tesis Doctoral

Esta memoria ha sido presentada para optar al grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid por:

Roberto López Píriz

Estudio de la correlación entre parámetros de salud periodontal y periimplantaria como referencia a complicaciones infecciosas de los implantes dentales.

Director de la tesis:

Prof. Dr. José Prieto Prieto

Departamento de Microbiología I

Facultad de Medicina

Universidad Complutense, Madrid.

Visto Bueno del Director de la Tesis:

Madrid 2012

Agradecimientos

Deseo mostrar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas sin las cuales este trabajo no hubiese sido posible.

A la Sociedad Española de Implantes (SEI) por su apoyo para la realización de este estudio y su demostrado interés en el avance del conocimiento científico implantológico al promover la creación de grupos de investigación en implantología; muestro un agradecimiento especial a su Junta Directiva y particularmente a su presidenta la Dra. Araceli Morales, artífices del impulso y las innovaciones que permiten la SEI seguir liderando la implantología en España.

Es necesario agradecer el demostrado esfuerzo, la inversión en tiempo y el interés científico prestados por todos los centros participantes en este estudio. El Dr. J.C. Asurmendi, el Dr. A. Bowen, el Dr. R. Carroquino, el Dr. I. Corral, la Dra. C. del Val, el Dr. J.R. Maestre, la Dra. A. Morales, el Dr. E. Padullés, al Dr. F. Torres y el Dr. F. San Román, han aportado todo su saber científico y nos han abierto las puertas a los resultados de sus tratamientos con el único interés de que el análisis científico de estos datos nos sirva a todos para mejorar el mantenimiento implantológico en nuestros pacientes.

Los doctores Lorenzo Aguilar y Maria José Giménez son la piedra angular de este trabajo. Sin su asesoramiento, experiencia científica y criterio, este trabajo no hubiera sido posible. Quiero destacar la capacidad del Dr. Aguilar para proponer alternativas originales y válidas en la resolución de problemas, así como la infinita capacidad de trabajo en equipo de la Dra. Giménez, quien sin necesidad de ninguna imposición siempre nos convence de lo acertado de sus criterios.

A la empresa Granadatos le agradezco el análisis minucioso del torrente de datos que se le entregó, y su ayuda a la hora de descifrar los *sudokus* estadísticos que obtuvimos.

Todos los estudios prospectivos que hemos realizado, tanto en vivo como in vitro, no hubiesen sido posibles sin el apoyo y los conocimientos aportados por los miembros del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) del Instituto de Ciencias Materiales de Madrid (ICMM-CSIC), en concreto al Profesor José Serafín Moya y a todo su equipo: Profesor José Bartolomé; Belén Cabal y Leticia Esteban. Del mismo modo debo agradecer al Profesor Ramón Torrecillas todo el esfuerzo que desde el Centro de Investigación en Nanotecnología y Nanomateriales de la Universidad de Oviedo (CINN-CSIC-UO-PA) ha aportado para la posible realización de todos los trabajos de investigación prospectiva. Su interés y apoyo han trascendido al punto de financiar económicamente el desarrollo de las investigaciones. No puedo expresar la gratitud que me produce la confianza que han depositado en mí para desarrollar la parte médico-odontológica. Espero que la ilusión que puesto es estos proyectos, el trabajo realizado y los resultados hayan estado a la altura de sus expectativas. Atesoro los momentos de entretenida discusión, las clases magistrales y las explicaciones que sobre sus descubrimientos me han permitido adentrarme en el mundo emergente de los biomateriales y la nanotecnología de un modo pionero para la Odontología.

A Idoia Díaz-Güemes y Silvia Enciso, Veterinarias Jefes de Sección del Centro de Cirugía Mínimamente Invasiva Jesús Usón (CCMIJU) les agradezco su asesoramiento y apoyo para el manejo de los animales durante el estudio con perros *beagles*; sin olvidar los buenos momentos que hemos pasado.

Gracias a Luis Alou, David Sevillano y Fabio Cafini por sus conocimientos microbiológicos, gracias a ellos hemos podido evaluar la capacidad biocida de los vidrios desarrollados.

Al Profesor Dr. José Prieto me ha ofrecido sin descanso su apoyo, asesoramiento, experiencia durante todo el transcurso de esta tesis. Que finalmente se materialice se debe en gran parte a su bondad, a su amistad y al pensamiento tan creativo e incansable que habita en su cabeza. Es admirable el modo en que amalgama la dilatada experiencia de Catedrático (fue mi catedrático de Microbiología hace 20 años) con su interés por la microbiología del medio bucal y con un ímpetu investigador que sabe contagiar a los demás.

Compartir todos estos momentos con personas que dedican su vida a la ciencia, son la sal de una profesión en la que tendemos a aislarnos en nuestras consultas.

*A mis padres, mi esposa Eva y mi hijo Roberto;
cuyo cariño, apoyo y comprensión hacen que todo sea posible.*

Sinopsis

Esta tesis consta de un trabajo clínico retrospectivo y de tres trabajos experimentales prospectivos: uno in vivo y dos in vitro. Todos abordan el importante problema de la infección periimplantaria desde ópticas distintas para acabar convergiendo en un punto común: la necesidad de abordar un problema complejo desde distintos ámbitos en los que se involucren de forma conjunta y coordinada clínicos, microbiólogos, físicos y químicos.

El conocimiento entendido al modo renacentista es un concepto obsoleto. Hoy día para el desarrollo de las nuevas tecnologías emergentes, su verificación como posibles soluciones innovadoras y su implementación en la práctica diaria es preciso aunar el esfuerzo común de grupos multidisciplinares que compartan su experiencia, sus necesidades y sus puntos de vista desde campos muy concretos del saber.

En el estudio retrospectivo el objetivo es determinar la influencia de los criterios definidores de periimplantitis en la prevalencia de la misma a los 4 años de la colocación del implante, así como su relación con la salud bucal de los pacientes. Se trata de un estudio piloto epidemiológico transversal.

Se incluye la experiencia de 15 odontólogos con ejercicio privado distribuidos a lo largo de la geografía española y 1 investigador en clínica universitaria de odontología, reflejando así la epidemiología de la práctica diaria de la odontología en nuestro país. Como método de elaboración de la muestra se emplearon los registros clínicos de pacientes con implantes colocados en el año 2004, de donde se seleccionó al primer paciente de cada mes (excluyendo el mes de agosto) del año 2004 al que se le colocó uno o más implantes en la visita realizada en esa fecha. Se contactó telefónicamente con los pacientes para que acudieran a revisión. Si el paciente inicialmente seleccionado no puede acudir a revisión por causa justificada, se selecciona el segundo paciente del mismo mes que recibió tratamiento implantológico. Si en un determinado mes no es posible conseguir un paciente, se seleccionan dos

pacientes en el mes siguiente. El número total de pacientes a incluir fue de 11 pacientes por investigador, sumando un total de 176 pacientes en el estudio. La recogida de los datos se realizó de forma anónima utilizando la Hoja de Recogida de Datos adjunta (Anexo 1). Se registraron datos de todos los implantes colocados en la visita en la fecha elegida. Adicionalmente cada investigador recogió en la hoja incluida en el Anexo 2 el número de historia clínica y el nombre del paciente ligado al número del paciente en el estudio. La recogida de datos se realizó durante dos meses a partir de la fecha de inicio, seguido de tres meses para la entrada de datos, análisis estadístico y elaboración del informe final. Este análisis estadístico consistió en la realización de Análisis Bivariados de las variables comparando ambos grupos (test de la chi cuadrado, test t para variables cuantitativas o Mann Whitney si no presentaran normalidad), Análisis de Regresión Logística (pasos sucesivos o procedimiento análogo) para la selección de las variables con efecto predictor, y Análisis de Sensibilidad / Especificidad mediante comparación de áreas delimitadas por ROC (curvas de sensibilidad – 1-especificidad).

De los 408 dientes que contenía la muestra en 2004, 73 (17'9%) no estaban presentes en el examen clínico que se realizó en 2009 (riesgo de pérdida >50% para dientes con reabsorciones óseas $\geq 7\text{mm}$). Ocho de 117 (6,8%) de los pacientes perdieron implantes entre 2004 y 2009 (13 de los 295 implantes instalados; 4,4%). El índice de pérdida implantaria (estado por cuadrantes) fue de 1,4% en pacientes edéntulos, 3,6% en pacientes que no presentaron pérdida dental alguna entre 2004 y 2009 en los cuadrantes analizados, y del 11,1% en los cuadrantes en los que se produjo al menos una pérdida dental ($p = 0,037$). Se encontró una correlación muy significativa ($p \leq 0,001$) entre la profundidad de sondaje periimplantario en seis puntos alrededor de los dientes ($r^2 \geq 0,71$), implantes ($r^2 \geq 0,68$), y entre ellas en cada sitio ($r^2 = 0,35-0,55$). Los dientes con una profundidad de sondaje $\geq 5\text{mm}$ y los implantes con $\geq 3\text{mm}$ de profundidad de sondaje ($p \leq 0,001$), con valores medios similares ($\geq 4\text{mm}$) en ambos casos, se asociaron con los mayores rangos de índice de placa y de sangrado al sondaje. La relación entre placa, pérdida de hueso, profundidad de sondaje y sangrado al sondaje (tanto en dientes como en implantes, y la correlación positiva en estos parámetros clínicos que existe entre dientes e implantes) sugiere que la patogénesis de la periodontitis y la periimplantitis es similar. La situación periodontal del paciente previa a la colocación de los implantes puede condicionar la salud y la

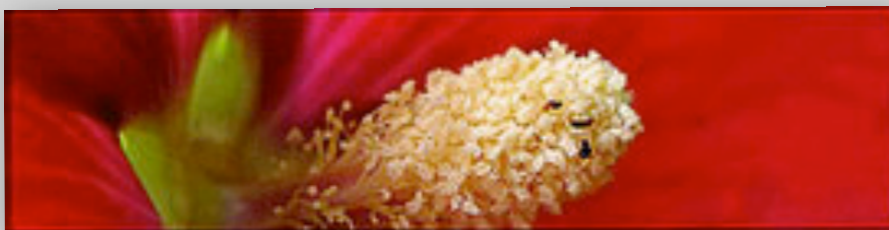
supervivencia de los implantes a largo plazo. La salud de los tejidos duros y blandos periimplantarios es compatible con cierto nivel de pérdida ósea marginal periimplantaria ($<3\text{mm}$) debido al remodelamiento óseo que en ocasiones se produce con objeto de que se establezca la anchura biológica.

En el estudio prospectivo “in vivo” se utilizaron perros *beagles* a los que se les indujo enfermedad periimplantaria mediante la técnica de colocación de ligaduras. El objetivo es evaluar radiológicamente la pérdida periimplantaria de hueso en implantes con pilares transepiteliales recubiertos con un vidrio biocida que contiene nanopartículas de plata y comparar la progresión de enfermedad de estos casos con controles sin ningún tipo de recubrimiento biocida. Los resultados estadísticos aportan de modo muy significativo una progresión de enfermedad periimplantaria 300% mayor en los implantes sin recubrimiento biocida. Estos datos son concordantes con los datos de un estudio histológico que se está ultimando con las mismas muestras empleadas para el estudio radiológico.

En el primer estudio prospectivo in vitro se propone un método para fabricar un vidrio soda-lima con nanopartícula de plata (n-Ag) que recubra aleaciones de titanio comercialmente puro empleadas en biomedicina. El objetivo del estudio fue descubrir los métodos físico-químicos que permiten unir un recubrimiento de vidrio n-Ag al titanio manteniendo las propiedades de los materiales y asegurando que las propiedades mecánicas de la unión son óptimas.

En el segundo estudio prospectivo in vitro se evaluó el efecto inhibitorio sobre la formación de un biofilm de *Streptococcus oralis* que presenta el titanio recubierto con vidrio n-Ag. Tres cepas (ATCC 35037 y dos aisladas de pacientes periodontales) se cultivaron en discos de titanio con y sin recubrimiento biocida n-Ag. Dos métodos distintos se emplearon para cuantificar la formación de biofilm: la tinción con cristal violeta y la cuantificación de las colonias viables. La influencia de la topografía de las superficies sobre la adhesión celular también fue estudiada. Se caracterizó la superficie mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), y también se empleó esta técnica para estudiar el desarrollo y la formación de biofilms en los distintos discos. Se objetivó una disminución del 99,7% de reducción del inóculo del biofilm en los discos

con recubrimiento con vidrio n-Ag respecto a los discos de titanio liso pulido. También se cuantificó in vitro la cantidad de plata lixiviada.



Índice

Acrónimos	17
Introducción	19
Fracaso de la oseointegración y enfermedad periimplantaria	23
Epidemiología de la enfermedad periimplantaria	25
Etiopatogenia de la enfermedad periimplantaria	26
Bacterias periodonto-patógenas. Características	31
Factores de riesgo de la enfermedad periimplantaria	38
Formas clínicas de la enfermedad periimplantaria	39
Parámetros clínicos para la valoración de la salud periimplantaria	42
I. Índice de placa.	42
II. Sangrado con el sondaje periimplantario.	43
III. Profundidad del sondaje periimplantario.	45
IV. Presencia de encía queratinizada.	50
V. Test diagnósticos en periodoncia e implantología.	50
a) Análisis del fluido crevicular periimplantario.	51
b) Pruebas diagnósticas microbiológicas en implantología.	54
c) Situación actual de las pruebas diagnósticas en implantología...68	
VI. Supuración.	69
VII. Evaluación de la unión hueso-implante.	69
VIII. Evaluación radiográfica.	71
Biomateriales emergentes en el control de la enfermedad periimplantaria	72
1. Estudios experimentales animales	72
2. Estudios experimentales in vitro	74
Justificación del trabajo	81
Hipótesis y objetivos	83
Material y métodos	85
Resultados	95

Discusión	119
Conclusiones	135
Anexos		
I. Hoja de Recogida de Datos	139
II. Hoja del Investigador	147
III. Tablas de Resultados Estudio Retrospectivo	151
Bibliografía	157
Estudios Publicados Relacionados con esta Tesis	175

Acrónimos

ADN	Acido desoxiribonucleico (inglés)
ARN	Acido ribonucleico (inglés)
BANA	Benzoil-DL-Arginine Naphthy Lamide
CSIC	Consejo superior de Investigaciones Científicas
CCMIJU	Centro de Cirugía Mínimamente Invasiva Jesús Usón
Ct	Ciclo Umbral (Threshold Cycle)
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
EWP	Consenso Europeo de Periodoncia
FREt	Transferencia de energía fluorescente mediante resonancia (inglés)
ICMM	Instituto de Ciencias Materiales de Madrid
IPm	Indice de placa modificado de Mombelli
ISQ	Coeficiente de estabilidad implantaria (inglés)
n-Ag	Nanopartícula de Plata
NIC	Fuera del grupo pareado (Not in Cluster Group)
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (Polimerase Chain Reaction)
PD	Profundidad de Bolsa
ROC	Área bajo la curva
SEI	Sociedad Española de Implantes
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido.
UCA	Unión Cemento Adamantina



Introducción

La salud bucal es cuestión de la máxima importancia habida cuenta de las importantes funciones del aparato estomatognático y la repercusión que las enfermedades de la boca pueden ocasionar en el resto de la economía. Obviamente la boca interviene en las primeras fases de la preparación del bolo alimentario para su digestión y en el sentido del gusto, pero también es un importante órgano en la fonación y su estética es un elemento de considerable importancia social. Además, las infecciones de origen odontogénico son factores de riesgo en determinadas patologías cardiovasculares, neumológicas y endocrinológicas, amén de suponer una amenaza potencial para la vida del paciente en caso de extensión directa a otras zonas del organismo. Así mismo la boca puede ser expresión local de patologías generales.

En odontología las enfermedades más prevalentes, la caries y la enfermedad periodontal, son de origen infeccioso.

La caries está causada por la desmineralización del diente como consecuencia de la acción de ácidos producidos en la degradación de los azúcares por bacterias sacarolíticas. Esta desmineralización facilita la invasión bacteriana del diente, se produce una transformación de la flora aerobia sacarolítica en una anaerobia proteolítica que alcanza el ápice dentario. Esta infección se trata mediante la amputación del diente y su reconstrucción con una obturación, y en los casos más avanzados mediante la amputación del nervio dentario o pulpectomía (tratamiento de endodoncia); pero en muchas ocasiones el diente queda debilitado y se fractura, o la extensión de la lesión hace inviable la reconstrucción del diente, de modo que en numerosos casos se hace necesaria la extracción del órgano dentario, siendo la caries la principal causa de exodoncia en niños y adultos jóvenes.

La enfermedad periodontal está causada por la maduración de la biopelícula bacteriana presente en el surco gingival, de modo que se desencadena una respuesta inmunológica en el tejido de soporte del diente que resulta en una pérdida del hueso de sostén y a la larga en la exfoliación del diente. La enfermedad periodontal es la primera causa de pérdida dental en el adulto.

Así las cosas, las dos enfermedades más importantes en odontología por su frecuencia y su repercusión económica tienen un origen microbiológico, y ambas son el principal motivo de pérdida dental.

Desde tiempos muy remotos el hombre ha intentado sustituir los dientes perdidos por otros elementos que restaurasen la función y la estética. Los hallazgos

arqueológicos hablan de la reposición no sólo en vivos, sino también en muertos, con la intención de embellecer el recuerdo de la persona fallecida. La primera prótesis de la que se tiene constancia no es un diente natural o artificial atado a los dientes vecinos, como se ha encontrado en cráneos egipcios o fenicios, sino que es una implantación necrósica realizada durante el Neolítico (hace unos 9000 años). Este hallazgo tuvo lugar en el poblado de Faid Soud, en Argelia. El cráneo encontrado era de una mujer joven y presentaba un fragmento de falange de un dedo introducido en el alvéolo del segundo premolar superior derecho. Los restos antropológicos más remotos de implantes dentales colocados “in vivo” son los de la cultura maya. El arqueólogo Popenoe, en 1931, descubrió en la Playa de los Muertos de Honduras una mandíbula, que data del año 400 d.C., con tres fragmentos de concha introducidos en los alvéolos de los incisivos. Los estudios radiológicos determinaron la formación de hueso compacto alrededor de los implantes, haciendo suponer que dichos fragmentos se introdujeron en vida. Los procedimientos quirúrgicos y prostodóncicos necesarios a tal fin, han ido evolucionando en la constante necesidad de lograr rehabilitaciones más eficaces y satisfactorias para los pacientes. En este contexto surgen hace tres décadas los implantes dentales de titanio y el concepto de oseointegración de la mano del Dr. Branemark. Pese a las reservas iniciales e incluso el rechazo, por parte de la mayoría de odontólogos, al uso de implantes como consecuencia de los rotundos fracasos registrados con anterioridad, hoy en día no se entiende la odontología sin el uso de implantes.

El tratamiento con implantes dentales se ha generalizado en la práctica odontológica durante la última década y ha revolucionado completamente la práctica odontológica. Ello está motivado por las ventajas y posibilidades rehabilitadoras que aportan, y la fiabilidad en la consecución del éxito terapéutico. Sin embargo, el empleo de los implantes durante las últimas tres décadas no solo ha constatado que es un tratamiento fiable sino que también ha evidenciado que su talón de Aquiles es de origen infeccioso. La maduración de la biopelícula bacteriana alrededor de los implantes ocasiona una pérdida de hueso, similar a la lesión periodontal, que pone en riesgo la salud y la supervivencia de los implantes. Actualmente existen estudios que cifran el porcentaje de pérdida de implantes entorno al 5 – 10%; gracias a la evolución de la técnica -conocimiento de la fisiología ósea, de los biomateriales y de la biomecánica- tiende a disminuir, pero por la idiosincrasia de la ciencia médica nunca

será del 0%. Una frecuencia mayor en el uso de implantes y su supervivencia a más largo plazo, conlleva que una patología insidiosa y de evolución crónica como la *implantología infecciosa* se manifieste con más prevalencia en nuestras consultas, y su conocimiento y control terapéutico adquieran una relevancia notable en el éxito de la implantología. El profesional se enfrentará de modo inevitable al fracaso de la oseointegración, y por lo tanto debe estar preparado y haber preparado al paciente para una eventual patología infecciosa del implante.

La credibilidad del tratamiento implantológico está fuera de duda, de hecho ésta se acrecienta al abordar los fracasos porque ello supone estudiar seriamente los problemas que aparecen, sus causas probables y las soluciones que podemos aportar. Un análisis correcto de los fracasos: su frecuencia, origen, problemas asociados... permite evolucionar la técnica para disminuir su frecuencia y mitigar sus efectos.

FRACASO DE LA OSEOINTEGRACIÓN E IMPLANTOLOGÍA INFECCIOSA

Las complicaciones en implantología pueden ser de orden biológico (referidas al implante) o protésico (relacionadas con la prótesis). Se consideran dos tipos de complicaciones relacionadas con la utilización de implantes dentales intraóseos que pueden conducir a su pérdida:

1. El **fracaso precoz o primario** es la incapacidad de establecer un contacto íntimo entre hueso e implante, conlleva la pérdida del implante antes de la conexión del pilar transmucoso y es relativamente raro(2-5%). Se consideran factores de riesgo para un fracaso biológico precoz: una deficiente condición anatómica prequirúrgica del paciente (que da lugar a una débil sujeción primaria del material implantado); una mala práctica odontológica (que maximiza el trauma quirúrgico); y las características del material implantado (empleo de material inapropiado o defectuoso)(1,2)
2. El **fracaso biológico tardío o secundario** es la pérdida de la oseointegración del implante. Se considera tardío porque sucede después de la conexión del pilar transmucoso, momento en el que se verifica la presencia de oseointegración y estabilidad secundaria real del implante. La pérdida de la oseointegración está motivada por:

- a) **Fracaso secundario traumático:** *tensiones mecánicas excesivas* que destruyen la unión del hueso con el implante. Clínicamente se manifiesta con movilidad del implante y posible dolor (3). Radiológicamente encontramos una radiolucidez en torno a todo el implante que revela la pérdida completa de la oseointegración.
- b) **Fracaso secundario infeccioso:** La ***enfermedad periimplantaria*** es el conjunto de cambios patológicos inflamatorios que afectan a los tejidos que rodean un implante oseointegrado en función (sometido a carga). La *mucositis periimplantaria* está inducida por la placa bacteriana y es el primer estadio de la enfermedad periimplantaria, de modo que de no ser corregida conduce a una pérdida de la oseointegración a nivel crestal, *periimplantitis*, que progresivamente se extiende hacia el ápice del implante y finalmente provoca movilidad y pérdida del implante. Clínicamente no se manifiesta con movilidad del implante, que permanece inalterada hasta que la pérdida de la oseointegración alcanza el ápice implantario, situación que puede tardar años en alcanzarse. El paciente suele estar asintomático y presentar a la exploración clínica signos de inflamación gingival periimplantaria (4). Radiográficamente se evidencia una pérdida ósea en forma de cráter, con la base en la conexión pilar-implante y el vértice hacia el ápice implantario, hasta un nivel del implante que varía en función de la severidad de la periimplantitis (5). Es de una importancia capital distinguir la periimplantitis de la remodelación ósea crestal secundaria al establecimiento de la anchura biológica y la localización de la unión transmucosa (6,7). Conviene destacar también, que enfermedad periimplantaria no es sinónimo de fracaso implantario en tanto en cuanto está demostrada la posibilidad de reoseointegración del implante en determinadas circunstancias (8).

EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PERIIMPLANTARIA

El fracaso de oseointegración de los implantes orales es relativamente raro. No obstante, la pérdida precoz se ha observado en el 3,6% (9) y se asocia al trauma quirúrgico y a las condiciones anatómicas del paciente como: a una pobre densidad ósea en el lugar de colocación. Los fracasos primarios también se relacionan con: la escasa experiencia profesional, la mala planificación del tratamiento restaurador, el mayor trauma quirúrgico en manos inexpertas, los desajustes con sobrecarga biomecánica oclusal que dificultan la oseointegración, y el empleo de prótesis mal diseñadas o defectuosas (9).

La enfermedad periimplantaria es para algunos autores la complicación más frecuente, y por ello temida, en la implantología bucofacial. Pese a ello, existen pocos estudios de prevalencia de la enfermedad periimplantaria. En dos estudios disponibles la mucositis periimplantaria ocurrió en el 80% de los pacientes y en el 50% de los lugares implantados. Y la periimplantitis se identificó en 28% y 56% de los pacientes y en el 12% y 43% de implantes. En otros trabajos, la prevalencia de mucositis periimplantaria se apreció del 48% al 64,6% de los pacientes parcialmente edéntulos (6; 10); y la periimplantitis se observó en el 16% de los pacientes y el 6,6% de los implantes (6). En nuestro medio, donde la práctica implantológica dental se ha extendido significativamente, la escasa información disponible acerca de esta enfermedad justifica la realización de estudios epidemiológicos que nos permitan conocer mejor la magnitud del problema y como afrontarlo.

Existen estudios que cifran la prevalencia de la enfermedad periimplantaria en valores comprendidos entre el 0% y el 56%. La divergencia en estos valores se debe a las incongruencias metodológicas de los estudios: definición de periimplantitis, métodos diagnósticos para monitorizar la salud periimplantaria, criterios de inclusión/exclusión de los pacientes (tipo de edentulismo – prótesis, salud sistémica de los pacientes, causa de la pérdida dentaria), tiempo de seguimiento de los pacientes y diferencias en el objetivo principal de los estudios que determinaron diseños dispares (11,12).

El sexto “European Workshop On Periodontology” (6 EWPs) (13) señalaba entre sus conclusiones los siguientes puntos:

- ❖ Con el fin de proporcionar suficiente información sobre la prevalencia de la enfermedad periimplantaria, se recomienda un enfoque epidemiológico.

- ❖ Utilizando un diseño transversal y una muestra de estudio con un tamaño adecuado, y recogiendo datos clínicos y radiológicos.
- ❖ Idealmente, el estudio debe realizarse en clínicas dentales privadas o públicas, en lugar de clínicas universitarias y, por tanto, proporcionar información sobre la “eficacia” en lugar de la “eficiencia” en la terapia de implantes.

ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD PERIIMPLANTARIA

La mucositis periimplantaria y la periimplantitis son enfermedades infecciosas (6 EWP, 2008).

Históricamente se han sucedido diversas teorías que intentan explicar la etiopatogenia infecciosa de las enfermedades inflamatorias gingivales:

- Teoría de la placa inespecífica:** a mediados del siglo XX se consideraba que las enfermedades periodontales estaban causadas por la placa dental como conjunto, que resulta del acúmulo bacteriano sobre la superficie dental a lo largo del tiempo. Este concepto se basa en estudios epidemiológicos que relacionan la enfermedad periodontal con la edad y la cantidad de placa presente, y en estudios que describen la enfermedad periodontal como una enfermedad crónica lentamente progresiva. Con esta teoría se asume que toda placa bacteriana es igualmente capaz de desarrollar enfermedad; el comienzo de la enfermedad y su progresión atiende a un crecimiento en la cantidad de placa y sus toxinas que sobrepasa la capacidad de las defensas del huésped.
- Teoría de la placa específica:** Muchos individuos con abundantes cantidades de placa, cálculo y gingivitis, nunca desarrollan una enfermedad periodontal destructiva. Además, en un mismo individuo podemos encontrar lesiones periodontales avanzadas al lado de periodonto que permanece intacto. Estas observaciones no sostienen la teoría de la placa inespecífica, por lo que a finales del siglo XX se hizo un esfuerzo en identificar la composición de la placa bacteriana mediante técnicas de cultivo. Con todo, se hallaron diferencias entre la composición de la placa que se encuentra en sitios sanos y la asociada a enfermedad. Surge la teoría de la placa específica, que mantiene que la

patogenicidad de la placa depende de la presencia, o el incremento numérico, de patógenos específicos. Así las cosas, no todas las placas bacterianas son igual de patógenas, sino que la presencia de bacterias específicas en la placa es la responsable de los cambios que conducen a la destrucción del periodonto. El paradigma de esta teoría fue la identificación de *Agregatibacter actinomycetemcomitans* como causante de periodontitis agresiva localizada.

- C. **Teoría de la maduración de la placa (placa ecológica):** la enfermedad periodontal con destrucción ósea se correlaciona con un pequeñísimo grupo de las más de 700 especies que se han identificado en la placa bacteriana. Las bacterias que componen este reducido grupo se consideran periodontopatógenas y su proporción es claramente distinta en la placa asociada a salud, mucositis y periimplantitis. Los periodontopatógenos también se identifican en la composición de la flora asociada a salud, aunque en menor cantidad y proporción que en los estados de destrucción tisular. La colonización por *Porphyromonas gingivalis* ocurre en la infancia, de modo que en un tercio de los menores de 18 años se identifica a este periodontopatógeno. Lo mismo sucede con *A. actinomycetemcomitans* y otros patógenos periodontales. Así las cosas, el interés investigador se ha centrado en desvelar cómo se incrementa la proporción de periodontopatógenos en la flora subgingival hasta hacerse predominantes.

La teoría ecológica mantiene que la microbiota sufre una transformación en su composición que cambia la relación comensal con el huésped a una relación patogénica, y que esta transformación obedece a factores desencadenantes que cambian la proporción de los microorganismos residentes. Por ejemplo, cambios en el flujo del líquido crevicular o en su pH ocasionan sobrecrecimiento de las especies periodontopatógenas en la región subgingival. La teoría ecológica es congruente con la teoría de la placa específica al reconocer que el potencial patógeno de las especies es distinto, pero supone un avance significativo al centrar la atención en las alteraciones ecológicas que ocasionan sobrecrecimiento o emergencia de las especies patógenas.

Además enfatiza la asociación que se produce entre diferentes especies patógenas, relacionando al “complejo rojo” constituido por *P. gingivalis*, *T.* y *T.*



Figura 1. Ilustración esquemática de los complejos bacterianos de la placa dental. Los complejos identificados por cada color incluyen a las especies que tienden a ser aisladas juntas en la placa subgingival. El potencial de patogenicidad es mayor en el complejo rojo y menor en el amarillo. Socransky (31).

denticola con el aumento en la profundidad de sondaje y el sangrado al sondaje (**Figura1**). Considera que el proceso de destrucción tisular periodontal se debe más a una sinergia en la acción de un complejo bacteriano patógeno que a la acción aislada de una bacteria, y resalta el papel que el intercambio metabólico y genético (signaling) desempeña en la proliferación de los periodontopatógenos en determinadas condiciones ambientales de la ecología subgingival. También cambios en la respuesta del huésped a la placa bacteriana pueden ocasionar alteraciones ambientales, de modo que una situación de respuesta celular exagerada por parte del huésped ocasiona un aumento en los mediadores de la inflamación que implique mayor destrucción ósea.

Al no ser suficiente la presencia de una bacteria para diagnosticar la presencia/ausencia de enfermedad, Socransky modificó los postulados de Koch (14) con objeto de enumerar las características que debe reunir una bacteria para ser considerada periodontopatógena:

- a) Se debe identificar su presencia en sitios próximos a una lesión periodontal/periimplantaria, y en proporciones-niveles cuantitativos altos.

- b) El organismo no debe identificarse - o ser cuantitativamente poco relevante - en sujetos periodontalmente sanos.
- c) Deben encontrarse anticuerpos frente a los periodontopatógenos en suero, fluido crevicular y saliva.
- d) Los periodontopatógenos deben disponer de algún factor de virulencia que se correlacione con la histopatología de la lesión.
- e) el organismo debe demostrar una capacidad patogénica similar en modelos animales.
- f) La mejoría clínica de la enfermedad debe relacionarse con la eliminación del supuesto patógeno, o en su caso, su identificación en proporciones bajas.
- g) La identificación del microorganismo debe coincidir con algún tipo clonal virulento (no todas las cepas causan enfermedad).
- h) El huésped debe ser susceptible al microorganismo (existen variaciones en la respuesta del huésped al patógeno)

Numerosos estudios experimentales en modelos animales y estudios clínicos consideran que la maduración de la biopelícula subgingival periimplantaria ocasiona la pérdida ósea periimplantaria (14-26).

El aumento en la proporción de bacterias periodonto-patógenas de las especies *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola*, induce en el huésped una compleja respuesta inmune caracterizada por la migración de células fagocíticas polimorfonucleares (PMNs), la liberación de metabolitos tóxicos y de enzimas degradantes, la producción excesiva de citocinas proinflamatorias (IL1, IL6, TNF), con persistencia de la activación inflamatoria y estimulación de la actividad osteoclástica, que conducen a la destrucción de los tejidos periimplantarios (**Figuras 2**) y a la pérdida de soporte óseo.

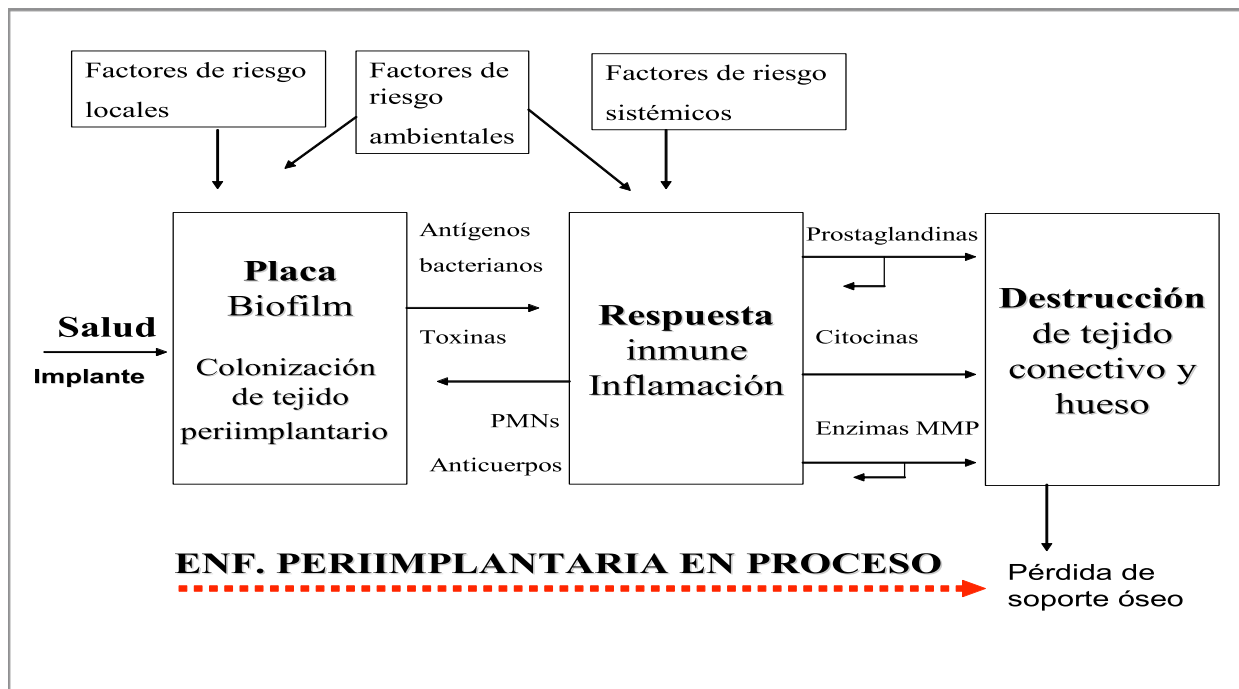


Figura 2. Patogénesis de la enfermedad periimplantaria. (Diagrama cedido por el Dr. J.R. Maestre Vera).

Las hipótesis que sostienen la etiología bacteriana de la enfermedad periodontal proponen mecanismos patogénicos de la enfermedad que sirven para calcular estrategias de abordaje preventivo o terapéutico. La mayoría de los tratamientos que realizamos se basan en la teoría de la placa no específica, y pretenden reducir la cantidad de placa de modo inespecífico para prevenir la enfermedad o evitar su progreso. La teoría de la placa específica recomienda esforzarse en identificar los individuos que presentan mayor riesgo de enfermedad en base a la identificación de especies patógenas y el uso de tratamiento específicos para estas especies. La teoría ecológica invita a que el esfuerzo investigador se centre en los aspectos ecológicos de la biopelícula de modo que se desarrollen nuevas estrategias preventivas y terapéuticas, modular la composición bacteriana y la respuesta del huésped.

Además de las especies bacterianas cultivables y no cultivables que se han relacionado con la enfermedad periodontal, existen estudios que indican la implicación de virus en la etiología y progresión de las lesiones periodontales (27). Esta correlación

se basa en el hecho de que los virus se aislaron en sitios con lesión y no en sitios sanos, y en que el éxito de la terapia periodontal se asoció con reducciones significativas en la detección de los virus.

BACTERIAS PERIODONTO-PATÓGENAS: CARACTERÍSTICAS.

El ecosistema oral se caracteriza por contener un elevado número de bacterias y diversidad de especies (más de 700) distribuidas en proporciones variables en los distintos tejidos . Sólo en el área subgingival se han identificado más de 400 especies de bacterias, lo que da un índice de la complejidad microbiana es esta localización. Las diferentes zonas de la cavidad oral poseen una población microbiana característica, que varía en función del estado de salud o de enfermedad.(28,29)

El desarrollo de la placa subgingival origina un desequilibrio del ecosistema en los tejidos que rodean al diente o al implante. Durante la maduración de dicha placa las interacciones y sucesiones bacterianas que se originan son muy complejas, y los diversos microorganismos conviven estableciendo sinergismo (colaboración) entre ellos **(Figura3)**. Por tanto, las alteraciones patológicas asociadas al desarrollo de placas dentales son de naturaleza infecciosa, polimicrobiana (con bacterias Gram-positivas y Gram-negativas), y mixta (con participación de bacterias aerobias y especialmente anaerobias). Debido a la complejidad de estas infecciones, la identificación de las bacterias responsables en cada situación clínica es muy difícil, y supone un reto en el diagnóstico de las enfermedades periodontales y periimplantarias.

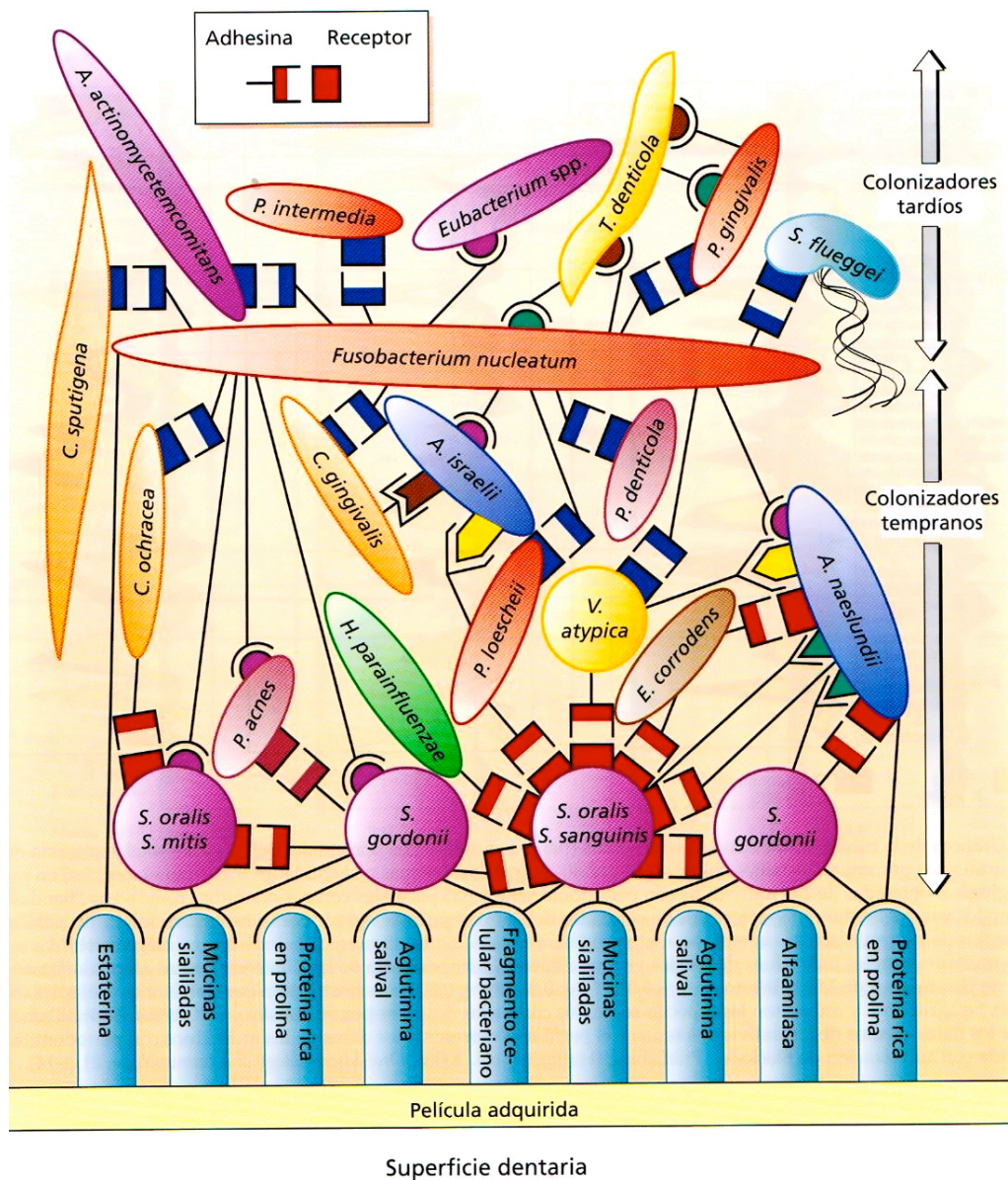


Figura 3. Esquema de las interacciones bacterianas de la placa subgingival. Ilustración de Kolenbrander (29).

De la prolífica cantidad de bacterias halladas en tejido periodontal, algunas son cultivables y otras no se han logrado aislar por cultivo. Los estudios recientes de placas dentales con microscopía electrónica, microscopía de campo oscuro, microscopía confocal y de fluorescencia; así como los avances en las técnicas de biología molecular basadas en el ARNr 16S, los microchips, y los métodos de hibridación ADN-ADN en damero, nos permiten conocer mejor la identidad, la distribución, y el protagonismo de estas bacterias en la enfermedad periodontal y periimplantaria.

Por todo ello hablamos de enfermedades que podemos describir como de cambios e interacciones microbianas, donde la progresión está estrechamente relacionada con la conversión de la flora bacteriana normal hacia una flora con metabolismo anaerobio (**Figuras 4 y 5**). El papel de muchas bacterias consideradas patógenas puede ser perpetuar el desequilibrio microbiano y la respuesta inflamatoria inducida por otras bacterias. Es posible que las mismas bacterias no representen igual potencial de virulencia en todos los individuos, ya que la interacción con otras bacterias podría condicionar su crecimiento y su expresión genética. También la respuesta inmune del paciente es esencial para la predisposición a la enfermedad (29,30).

Existe heterogenicidad en la composición de la flora bacteriana subgingival, si todos los sujetos enfermos tuvieran esencialmente la misma flora el tratamiento sería el mismo para todos y de eficacia similar. La figura 4 muestra los perfiles microbiológicos pretratamiento de seis pacientes con similares características clínicas y demográficas. Aunque todos presentaban clínicamente enfermedad periodontal en un nivel de progresión similar (Profundidad de bolsa 3,6-4,0; Pérdida de inserción 3,9-4,5), se demostraron importantes diferencias en la composición de la placa subgingival (31).

A pesar de que existe heterogenicidad en la composición de la flora subgingival entre cada sitio de un mismo individuo, y entre distintos sujetos, los pacientes muestran patrones de colonización subgingival. Se examinó la composición subgingival de 416 sujetos mediante sondas de DNA para más de 40 especies bacterianas, realizándose un muestreo a 28 sitios por paciente. Se calculó el recuento medio de cada especie bacteriana en cada paciente y estos valores se utilizaron para realizar 10 grupos de pacientes con una similitud del 43% (Figura 5). (32).

Los datos demuestran que existen diferencias marcadas en la flora subgingival de los sujetos. El grupo mayor reunía a 143 sujetos y se caracterizó por niveles moderados de la mayoría de las especies bacterianas estudiadas. El agresivo complejo rojo se significó en 5 de de los grupos (3, 4, 5, 6, y 7) y no destacó en los grupos 1, 2, 9 y 10. La respuesta al tratamiento periodontal de cada uno de estos grupos es previsiblemente diferente, y por tanto el abordaje terapéutico también debería serlo. Aquí reside un eje sobre el que se fundamenta la necesidad de realizar pruebas microbiológicas a los pacientes periodontales o con tratamiento implantológico.

Figura 4. Socransky (31)

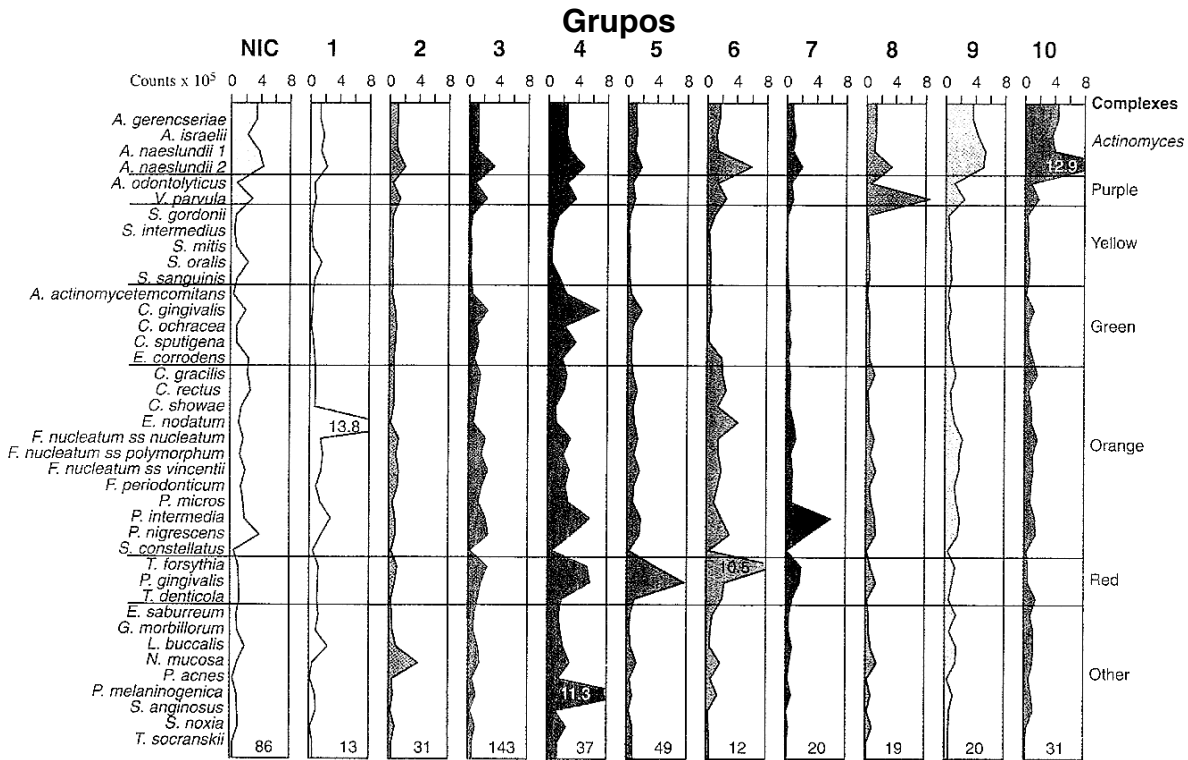
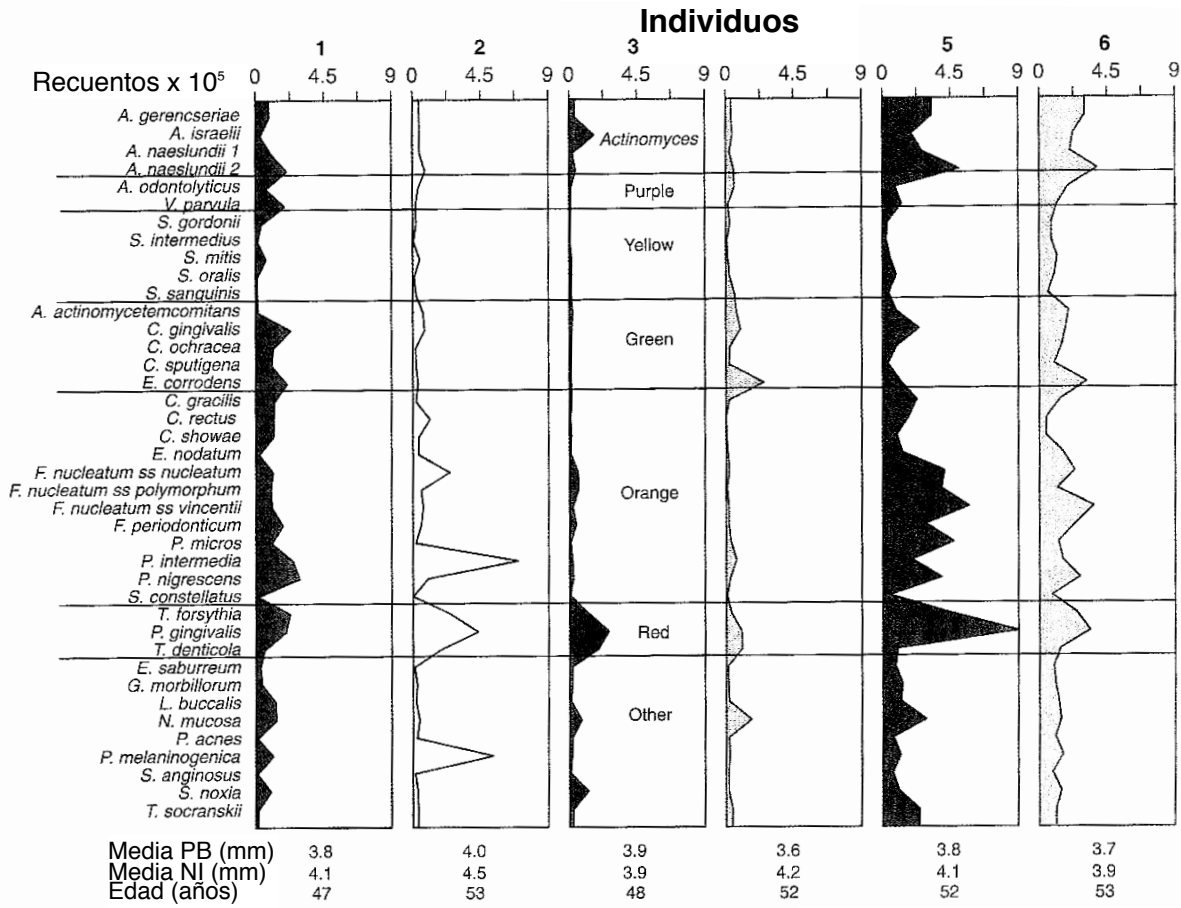


Figura 5. Socransky (32).

La distinción entre un fracaso implantario originado por una infección con patógenos periodontales (fracaso secundario infeccioso) y el asociado con la sobrecarga mecánica (fracaso secundario traumático) también se ve reflejado en la microflora. Rosenberg y cols.(33) pusieron de manifiesto que en los implantes con fracaso de origen principalmente infeccioso el 42% de la flora subgingival consta de *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium* spp. y bacilos entéricos. Los implantes con fracaso secundario traumático presentan una microflora más parecida a la de un estado de salud gingival, y está compuesta por estreptococos.

En varios estudios se han detectado las bacterias asociadas a la periimplantitis, apreciándose éstas en recuentos y proporciones similares a los observados en la periodontitis (**Figuras 6, 7 y 8**). Ambas situaciones patogénicas tienen en común el predominio de especies bacterianas incluidas en los complejos rojo y naranja de Socransky. Las bacterias agrupadas en estos complejos se caracterizan por poseer factores de patogenicidad superiores a los de otras bacterias orales, y por su gran capacidad para colonizar e invadir los tejidos del periodonto. Así por ejemplo,

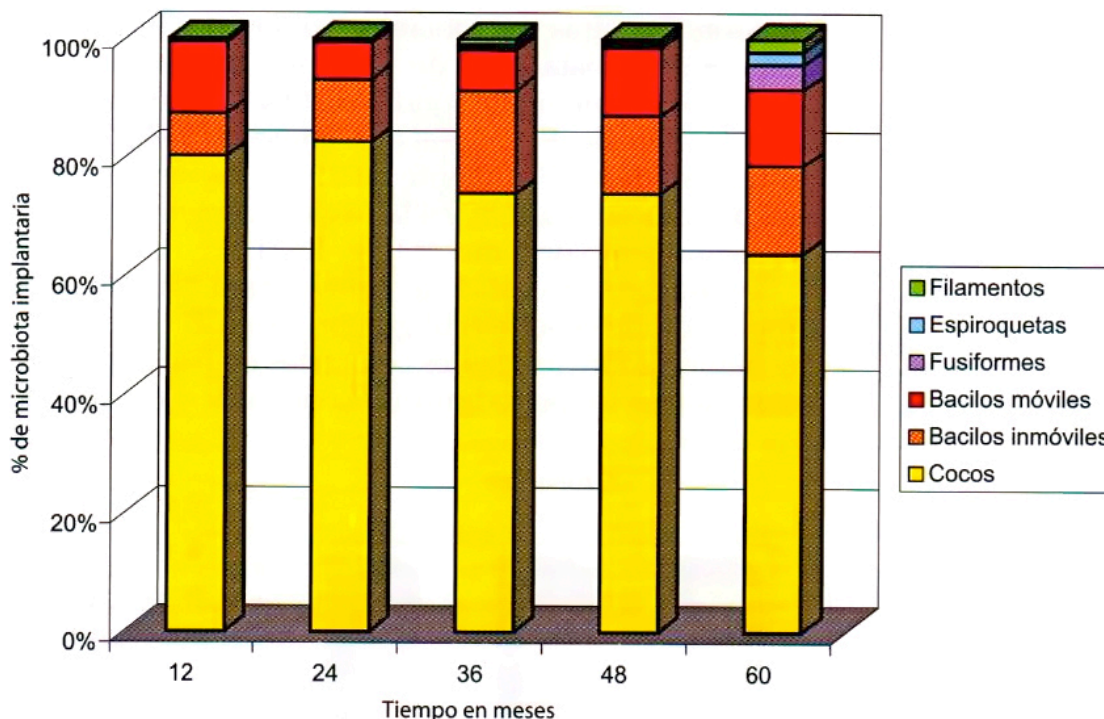


Figura 6. Tabla de un estudio de Mengler (34) en la que se muestra el cambio en la composición de la flora bacteriana subgingival periimplantaria con el paso del tiempo.

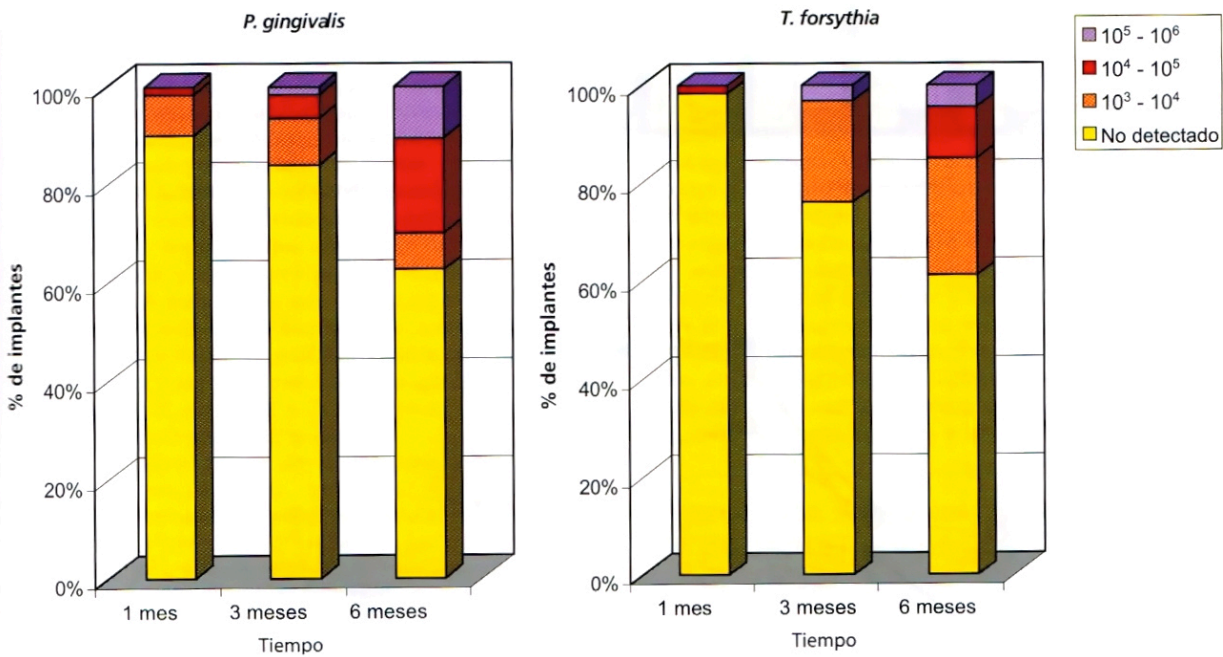


Figura 7. Tabla en la que se muestra el incremento en la colonización bacteriana subgingival periimplantaria de *P. gingivalis* y *T. forsythia* con el paso del tiempo . Ilustración tomada de De Boever y De Boever (35).

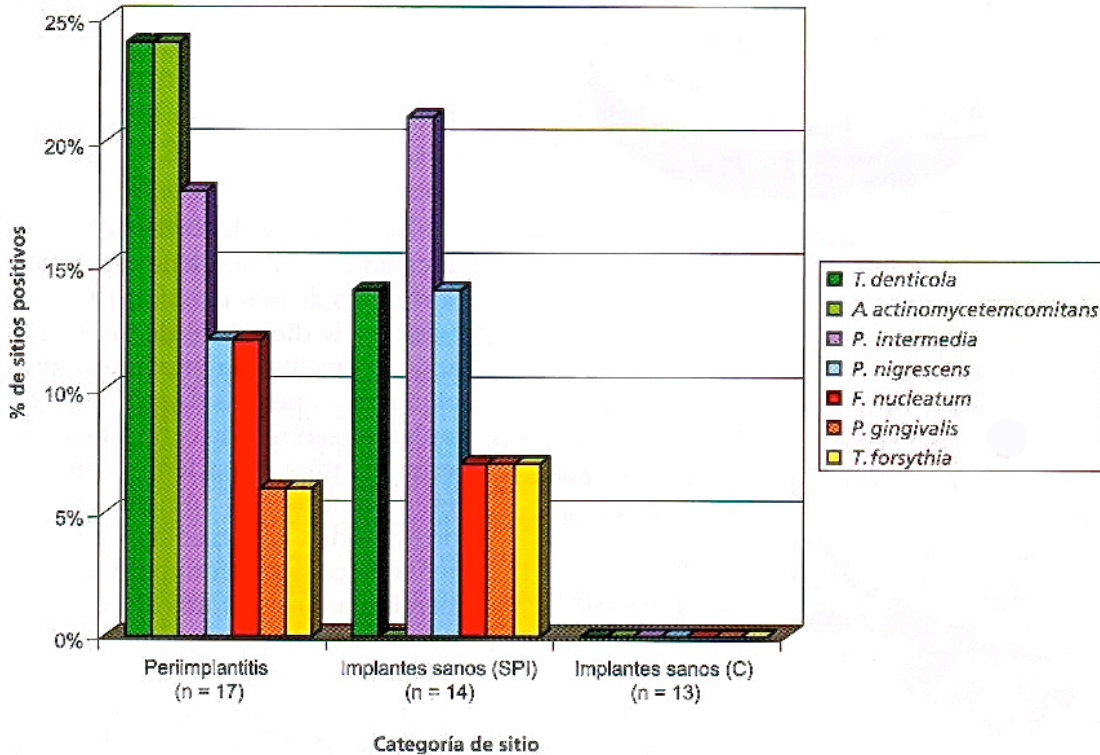


Figura 8. Tabla que muestra el porcentaje de periodontopatógenos en implantes con salud periimplantaria (C); implantes sanos en pacientes con dientes periodontales (SPI); e implantes con periimplantitis. Ilustración de Hultin (35).

gingivalis, considerada como uno de los principales agentes etiológicos, presenta entre sus factores de virulencia: proteasas, endotoxinas, colagenasas y la producción de fimbrias y polisacáridos capsulares. Esta bacteria es capaz de adherirse a las células epiteliales humanas, al tejido conectivo y a las células endoteliales, invadiendo dichos tejidos y células (34-36).

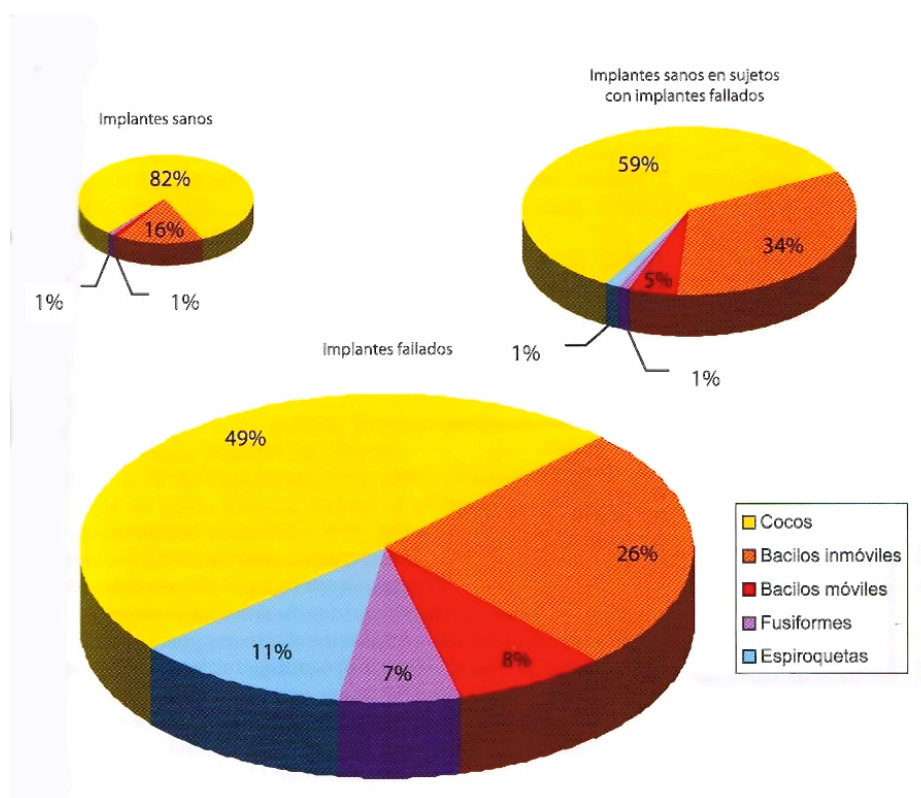


Figura 9. Porcentaje de bacterias en implantes con salud periimplantaria, implantes sanos de pacientes con antecedentes de fracaso periimplantario y de implantes con una enfermedad periimplantaria en curso. Ilustración de Mombelli (37).

En los pacientes parcialmente edéntulos, las bacterias periodonto-patógenas son capaces de recolonizar los tejidos periimplantarios en la primera semana tras la colocación de un implante dental; probablemente a partir de la microbiota supragingival (**Figura 9**). Este hecho nos alerta acerca de la necesidad de extremar las medidas de higiene oral tras la colocación de implantes, y de combatir precozmente la formación de placas dentales con medidas preventivas que disminuyan el riesgo y eviten complicaciones infecciosas como la enfermedad periimplantaria (37).

FACTORES DE RIESGO DE LA ENFERMEDAD PERIIMPLANTARIA

En relación con los **factores de riesgo** de la enfermedad periimplantaria, existe evidencia científica de asociación estadísticamente significativa con: la escasa higiene oral (38,39), la historia de periodontitis (40-43), y con el tabaquismo (44). Con evidencia limitada, también se ha visto asociada esta enfermedad con la diabetes mellitus mal controlada (38) y con el consumo de alcohol (45). Resultan más conflictivos y menos evidentes los estudios que asocian la enfermedad periimplantaria con la rugosidad de la superficie de los implantes (42,46). Otros factores que podrían intervenir, y de los que no se dispone de información suficiente para establecer con evidencia la asociación son: los genéticos, como la presencia de un genotipo proinflamatorio IL-1; el déficit de la respuesta inmune del paciente; los tratamientos con radioterapia, quimioterapia y corticoterapia; la osteoporosis; las alteraciones de la coagulación; y la mala técnica quirúrgica (con desajustes de material, sobrecargas dinámicas y débil estabilidad de los implantes).

Recientemente se han aportados datos que sugieren una mayor incidencia de periimplantitis en pacientes con periodontitis crónica, especialmente aquellos que presentan un edentulismo parcial rehabilitado con prótesis fija (32). Desde hace tiempo se considera la hipótesis de que los dientes remanentes actúen como reservorios desde los que se produce una siembra de periodontopatógenos a los implantes, esta hipótesis ha ganado consistencia a la luz de los datos aportados por estudios que analizan la colonización bacteriana de los implantes. Desde la exposición de la superficie estéril de los implantes, en tan sólo 14 días se detecta la existencia de un biofilm supragingival, y en 28 puede identificarse una microbiota subgingival (47). Empleando técnicas de identificación bacteriana basadas en la PCR, se han obtenido datos que demuestran que tan sólo una semana después de la exposición intraoral del implante, el surco periimplantario contiene una microbiota compleja con una composición similar a la presente en los surcos poco profundos aunque con niveles bacterianos cuantitativamente menores de cada especie (48).

Lee y colaboradores (49) estudiaron la microbiota de implantes correctamente oseointegrados y hallaron que la presencia de periodontopatógenos, incluidas las especies del complejo rojo, se encuentra en una proporción mayor en aquellos sujetos con antecedentes de periodontitis, y en sus conclusiones manifestaron que el mayor

determinante de la composición de la microbiota periimplantaria es la microbiota presente en los dientes remanentes.

Estos datos son de particular interés habida cuenta de que la periodontitis crónica es la principal causa de pérdida dentaria en el adulto, y por tanto uno de los principales motivos que llevan a los pacientes a recibir tratamiento implantológico. Así las cosas, los mismos factores que provocan la pérdida dental por periodontitis pueden causar la pérdida del implante. Esta tesis pretende estudiar los parámetros clínicos empleados más habitualmente en la valoración del estado de salud gingival de los dientes e implantes, de modo que se analice si existe algún tipo de correlación entre ellos.

Por otro lado, existen datos que relacionan la enfermedad periimplantaria con determinados diseños de implante y tipos de conexión protésica. En este ámbito la emergencia de materiales con capacidad biocida constituye un elemento modificador del curso de la enfermedad, en tanto en cuanto se elimina o al menos se limita la acción del biofilm como agente causal de la enfermedad.

FORMAS CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD PERIIMPLANTARIA

Como se determinó en el First European Workshop on Periodontology en Ittingen (Suiza), la Enfermedad Periimplantaria es el conjunto de lesiones inflamatorias de los tejidos que rodean al implante en función. Existen dos formas clínicas: La mucositis periimplantaria describe una lesión inflamatoria que reside en los tejidos blandos; y la periimplantitis, en la cual la lesión además afecta al hueso de soporte. La definición en términos histológicos es clara, pero la definición clínica es mucho más controvertida.

- **MUCOSITIS PERIIMPLANTARIA.** Fue descrita en el 1 EWOP de 1994 por Albrektsson & Isidor 1994 (50) como una reacción inflamatoria reversible de los tejidos blandos que rodean un implante funcional. Recientemente se ha eliminado el término *reversible* puesto que ya no es una característica exclusiva de la mucositis; desde que existen estudios que demuestran la reoseointegración de los implantes también la periimplantitis es reversible en

determinadas condiciones clínicas. Actualmente se define a la mucositis como una inflamación de la mucosa que rodea a un implante sin que existan signos de pérdida del hueso de soporte. No se hace referencia al hecho de que el implante debe estar en función porque la enfermedad periimplantaria amenaza a la oseointegración ya establecida (fracaso secundario) por definición, y no al establecimiento de la oseointegración del implante (fracaso primario) (51).

La respuesta de la mucosa periimplantaria y de la encía al acúmulo de placa bacteriana es similar, ambas responden con el establecimiento de lesiones inflamatorias evidentes en el tejido conjuntivo consistentes en infiltrados de leucocitos. Sin embargo las lesiones en la mucosa periimplantaria se extiende y progresa más apicalmente que en caso de la encía, y además la cantidad de fibroblastos presentes en las lesiones de la mucosa periimplantaria es más reducida de modo que su capacidad de recuperación es menor en comparación con la encía.

- **PERIIMPLANTITIS.** Fue descrita como la reacción inflamatoria asociada a la pérdida de soporte óseo que rodea a un implante en función (1 EWOP, 50). Su definición no se ha modificado sustancialmente en el 6 EWOP: además de inflamación de la mucosa se caracteriza por pérdida del hueso de soporte. Roos-Jansåker y colaboradores (52) definen la periimplantitis como la existencia de sangrado al sondaje y/o supuración con una pérdida de hueso de al menos 1,8mm en un periodo de 8-13 años después del primer control anual. Esta definición difiere de la de Fransson (53), quien considera cualquier pérdida ósea posterior al primer año como indicativa de pérdida ósea progresiva. Resulta de la mayor transcendencia distinguir entre la remodelación ósea que sucede durante el establecimiento de la anchura biológica después de la conexión del pilar transmucoso y la pérdida del hueso de soporte que puede afectar a implantes en función como resultado de la enfermedad periimplantaria.

El patrón de diseminación de la inflamación es distinto en la periodontitis y la periimplantitis. Mientras que en las lesiones periodontales el infiltrado inflamatorio se encuentra separado del hueso alveolar por una banda de tejido

conectivo no inflamado de 1 mm de grosor, en el caso de la periimplantitis la lesión se extiende hasta la zona más apical al epitelio de la bolsa y suele extenderse al interior de hueso de soporte. Además en las lesiones periimplantarias abundan los polimormonucleares a diferencia de la periodontitis, en donde predominan los linfocitos. Estas características de las lesiones inflamatorias perimplantarias – poca encapsulación y gran actividad de neutrófilos – puede precipitar un avance más rápido de la lesión y por tanto significar una mayor vulnerabilidad de los implantes frente a la infección.

Continúan vigentes los criterios que Albrektsson y Zarb (54) propusieron en 1986 entre los cuales se señala como criterio de éxito una pérdida de hueso de soporte cuya media (pérdida ósea media que hayan experimentado todos los implantes) no supere 1mm durante el primer año y 0,2mm en los años sucesivos. Podemos atribuir la pérdida ósea del primer año al establecimiento de la anchura biológica, pero ¿debemos asumir una pérdida ósea media de 0,2 mm como inevitable?, ¿es posible identificarla como una situación de salud periimplantaria?, ¿la pérdida de soporte óseo periimplantario que no comprometa a la estética supone un fracaso del tratamiento si el implante conserva su función?.

Actualmente la mayoría de las casas comerciales de implantes ofrecen implantes o sistemas de conexión que aseguran la estabilidad del hueso de soporte. Indudablemente el desarrollo de la tecnología permite que la oseointegración hoy día sea predecible y factible hasta la misma plataforma del implante, y la supresión de las microfiltraciones bacterianas mediante ajustes pasivos cuasiperfectos (soldadura en frío de la unión cono-morse) reduce el riesgo de infección intrínseco al sistema implanto-protésico. Pero el paciente candidato a implantes suele presentar antecedentes de higiene bucodental deficitarios, por lo que mayor relevancia - si cabe- que las microfiltraciones tienen las técnicas de higiene y desinfección domiciliarias.

Cualquier pérdida de soporte óseo periimplantario posterior al establecimiento de la anchura biológica traduce una situación patológica.

PARÁMETROS CLÍNICOS PARA LA VALORACIÓN DE LA SALUD PERIIMPLANTARIA

Desde un punto de vista epidemiológico, la evaluación longitudinal de los sistemas de implantes dentales es de una relevancia capital para poder evaluar la supervivencia a largo plazo y la frecuencia de aparición de complicaciones en cada tipo de implantes, así como para poder identificar a los factores que condicionan el éxito o fracaso del tratamiento y la identificación de problemas específicos en cada sistema.

Para el paciente, la evaluación clínica periimplantaria de forma periódica es necesaria para identificar de modo precoz los signos de enfermedad y planificar las intervenciones terapéuticas necesarias. Los problemas y complicaciones de orden biológico, que provocan el fracaso secundario en la oseointegración e incluso el propio fracaso implantario secundario consumado, habitualmente siguen un curso clínico silente y se caracterizan por la presencia de signos clínicos (eg. movilidad implantaria) que se manifiestan cuando la enfermedad presenta un estadio avanzado y muchas veces irreversible. Así las cosas, en las visitas de mantenimiento se deben emplear de modo rutinario parámetros clínicos y radiográficos que posean alta sensibilidad o especificidad en la detección de la enfermedad, que sean fáciles de medir y reproducibles.

Sin embargo, los índices periodontales empleados para valorar la situación clínica de los tejidos periimplantarios no revelan especificidad para los tejidos blandos que rodean al implante, de hecho son los mismos que se utilizan para la valoración de la salud periodontal.

1. INDICE DE PLACA.

Se utiliza para evaluar la higiene oral del paciente.

Los implantes dentales son dispositivos médicos que presentan superficies artificiales en la que se deposita una capa de mucopolisacáridos y proteínas salivares llamada película adquirida que es fácilmente colonizable por las bacterias de la saliva, constituyéndose nichos ecológicos de igual manera que en los surcos gingivales dentarios. La formación de una biopelícula subgingival es el principal factor etiológico

en la iniciación de la inflamación periimplantaria y la consecuente pérdida de hueso marginal según numerosos estudios animales y clínicos. Existen estudios (26,29) que relacionan la presencia clínicamente detectable de placa con determinados estadios de maduración de la biopelícula periimplantaria. Además, es relevante la existencia de evidencia clínica que muestra la posibilidad de que los patógenos periodontales residentes en los dientes remanentes poseen capacidad de colonizar los nichos periimplantarios (28).

Mombelli (55) modificó el Índice de Placa (IP) original de Silness y Løe (56) para determinar la formación de biopelícula alrededor de los implantes de la marca ITI. Lindquist (57) determinó el nivel de higiene oral mediante una escala de tres puntos, y encontró la existencia de una correlación estadísticamente significativa entre el nivel de higiene oral y la reabsorción ósea periimplantaria en un periodo de observación de seis años. Por lo tanto, parece útil la determinación de la higiene oral del paciente mediante la cuantificación del acúmulo de placa visible (Tabla 1).

Tabla 1. Índices de Placa en la valoración implantaria		
Puntuación	Mombelli (IPm)	Lindquist
0	Ninguna placa	No placa visible
1	Película fina de placa sólo reconocible por frotis con la sonda por el margen del implante	Acúmulo de placa de modo localizado
2	Placa visible a simple vista	Placa visible de modo generalizado (en más del 25%)
3	Abundante placa visible	

2. SANGRADO CON EL SONDAJE PERIMPLANTARIO.

La valoración de las condiciones clínicas del margen gingival es muy importante para el diagnóstico de las enfermedades periodontales. La determinación del color y el edema de la encía está condicionada en implantología por el color y la superficie del implante en muchas ocasiones. Sin embargo, se ha considerado adecuado adaptar índices periodontales como el Índice Gingival (IG) de Silness y Løe (56) para su uso en

implantología, e incluso se han realizado adaptaciones simplificadas como la de Apse (Tabla 2).

El sangrado con el sondaje (BOP+) - BOP del acrónimo inglés Bleeding On Probing- provocado con la inserción de una sonda en el surco periimplantario con una ligera presión (eg. 0,25 N) se ha relacionado con la existencia de una lesión inflamatoria a nivel histológico aunque la encía del diente se muestre clínicamente normal y sana. Por otro lado, la ausencia de sangrado con el sondaje (BOP-) se asocia a una situación de salud periodontal con un valor predictivo negativo del 98,5%. El sangrado con el sondaje se ha empleado en la valoración de la salud periimplantaria

Tabla 2. Índices Gingivales en Implantología

Puntuación	Mombelli (IGm)	Apse
0	No sangrado al pasar una sonda por el margen gingival de un implante	Mucosa normal
1	Puntos de sangrado aislados	Inflamación mínima con cambio de color y leve edema
2	La sangre forma una línea confluyente en el margen gingival	Inflamación moderada con eritema, edema
3	Abundante sangrado o hemorragia	Inflamación severa con eritema intenso, edema con ulceración y sangrado espontáneo sin sondaje

Lekholm (58) no encontró correlación entre la presencia de sangrado con el sondaje y la existencia de cambios histológicos, microbiológicos ni radiológicos alrededor de los implantes. Por el contrario, estudios experimentales en animales (59) muestran resultados opuestos a los de Lekholm, de modo que los implantes rodeados por una encía sin infiltrado inflamatorio presentaron ausencia de sangrado con el sondaje (0%), mientras que la existencia de mucositis o periimplantitis se relacionó con porcentajes de sangrado al sondaje del 67% y del 91% respectivamente. El motivo de la aparente contradicción en estos resultados se debe a la fuerza en la inserción de la sonda en el surco periimplantario, que no estuvo controlada en el estudio de Lekholm. La realización de estudios prospectivos en los que se ha realizado un sondaje del

surco periimplantario con una fuerza controlada de 0.015 - 0,25N confirman la ausencia de sangrado en condiciones de salud gingival periimplantaria con un alto valor predictivo negativo (60). Luterbacher y sus colaboradores (61) evaluaron la utilidad clínica del sangrado con el sondaje periimplantario durante el tratamiento de mantenimiento y lo compararon con dientes. Estos autores encontraron que el valor predictivo negativo del test de sangrado con el sondaje es mayor en implantes que en dientes y que el valor predictivo positivo, de manera especial cuando el sangrado con el sondaje se complementa con identificación de periodontopatógenos mediante sondas de DNA/RNA (IAI Pado test 4.5), es también mayor en implantes que en dientes cuando existe BOP+ en más del 75% de los sitios.

3. PROFUNDIDAD DEL SONDAJE PERIIMPLANTARIO.

La *anchura biológica* es un término usado con frecuencia para describir las dimensiones de los tejidos blandos que recubren los dientes o los implantes. La longitud combinada del epitelio de unión (barrera epitelial en implantes) y de la fijación del tejido conjuntivo se considera representativa de la anchura biológica. El surco gingival o periimplantario no forma parte de la anchura biológica (**Figura 10**).

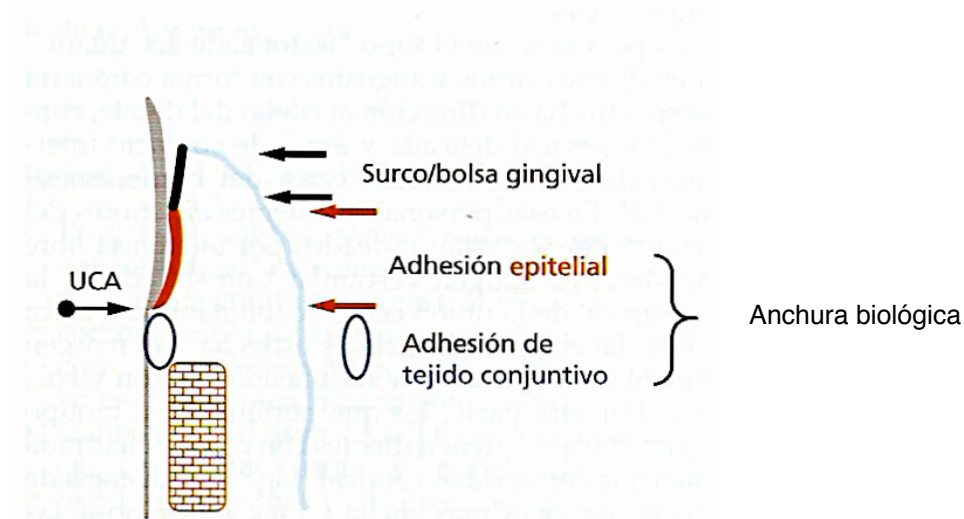


Figura 10. Ilustración tomada de Lindhe et al. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 5ª Ed.(163).

En los dientes, la anchura biológica varía entre unos 2,5 mm en condiciones de salud y 1,8 mm en sitios con destrucción periodontal avanzada, siendo la longitud del epitelio de unión la parte que más cambia con la enfermedad. En los implantes de titanio, existe una barrera epitelial con un espesor de tan sólo unas pocas capas de células que longitudinalmente termina a 2 mm en dirección apical desde el margen gingival y una zona de tejido conjuntivo de 1-1,5 mm. Estas fibras de tejido conjuntivo se originan en el periostio y se dirigen paralelas a la superficie del implante hasta el margen gingival (**Figuras 11-14**).

Es importante la observación de que la barrera epitelial de la mucosa sana siempre termine a cierta distancia del hueso (1,5mm). Los fibroblastos del tejido conjuntivo de la mucosa establecen una “inserción” biológica con la capa de óxido de titanio (TiO₂) o con cerámica sinterizada con base de aluminio (Al₂O₃), pero no con el oro o la porcelana dental; de modo que si el material utilizado en la parte emergente del implante no permite la fijación del tejido conjuntivo, se produce cierta reabsorción del hueso marginal periimplantario que expone la porción de titanio del implante propiamente dicho para que se efectúe la “inserción” biológica conjuntiva (62). Además, en los sitios con mucosa delgada la curación de la herida incluye sistemáticamente reabsorción marginal para crear un espacio que aloje los componentes epitelial y conjuntivo de la fijación transmucosa (63). Existen datos que imputan las diferencias en la reabsorción ósea periimplantaria entre “platform switching” y conexión tradicional a diferencias en la ubicación de la anchura biológica al no encontrar cambios significativos en la microbiota (64).

Los datos aportados por la sonda se consideran válidos para calcular de manera aceptable la profundidad del surco o la bolsa periodontal. El aumento de la profundidad de sondaje y la pérdida de inserción son signos patognomónicos de enfermedad periodontal. La evaluación de la profundidad de sondaje y la constatación de los cambios que se producen en ésta con el paso del tiempo constituyen un importante elemento diagnóstico en periodoncia.

Durante muchos años se supuso que al medir la profundidad de una bolsa, el extremo de la sonda identificaba las células más apicales del epitelio de unión (bolsa) o el nivel marginal de la fijación del tejido conjuntivo. Sin embargo, la profundidad del sondaje periodontal se ve influenciada por el diámetro de la sonda, la fuerza y la

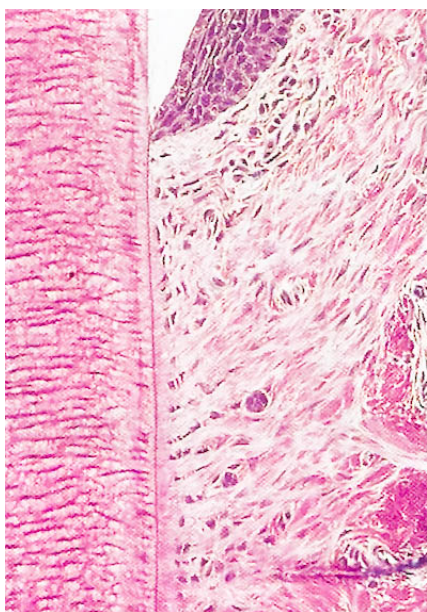


Figura 11.

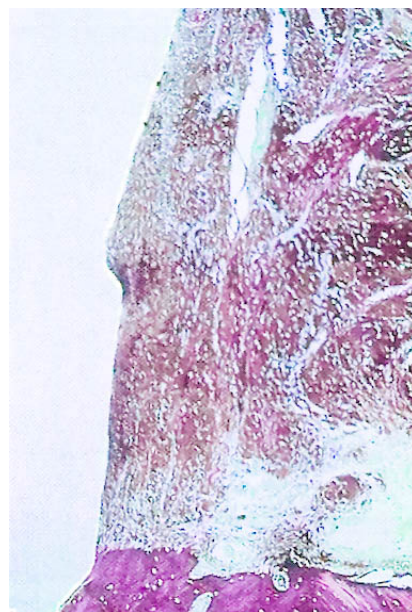


Figura 12.



Figura 13.

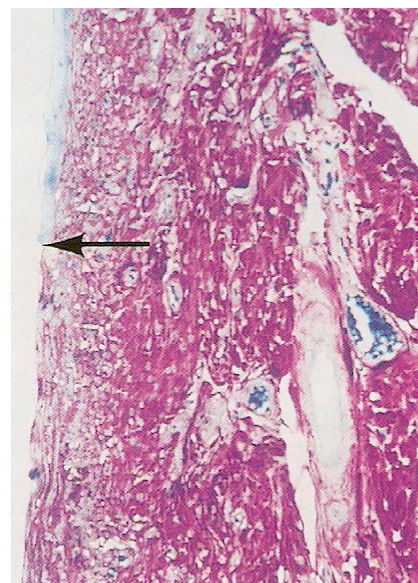


Figura 14.

angulación en la inserción, la rugosidad de la superficie del diente, el grado de inflamación de la encía y la consistencia del margen gingival. Existen datos que señalan la ausencia de una buena correlación entre la profundidad del sondaje periodontal y la localización exacta del nivel microscópico en que se sitúa la parte apical del epitelio de unión (66).

Además, las diferencias entre la composición, organización e inserción entre la encía y el cemento radicular por un lado, y entre la mucosa periimplantaria y la superficie del implante por otro, hacen que las mediciones de la profundidad de sondaje a nivel periodontal y periimplantario no sean completamente comparables. Estudios realizados con monos revelan que el extremo de una sonda electrónica (Peri-Probe®) a una fuerza de 0,3-0,4 N y un diámetro de 0,5mm estaba localizado a una distancia similar del hueso en sitios sanos con dientes y en sitios con implantes (**Figura 15**). En cambio, en condiciones de enfermedad las mediciones son más apicales en implantes que en dientes, y una leve alteración de la profundidad de sondaje en sitios con implantes puede reflejar cambios por inflamación de los tejidos antes que pérdida de los tejidos de sostén (59,67).

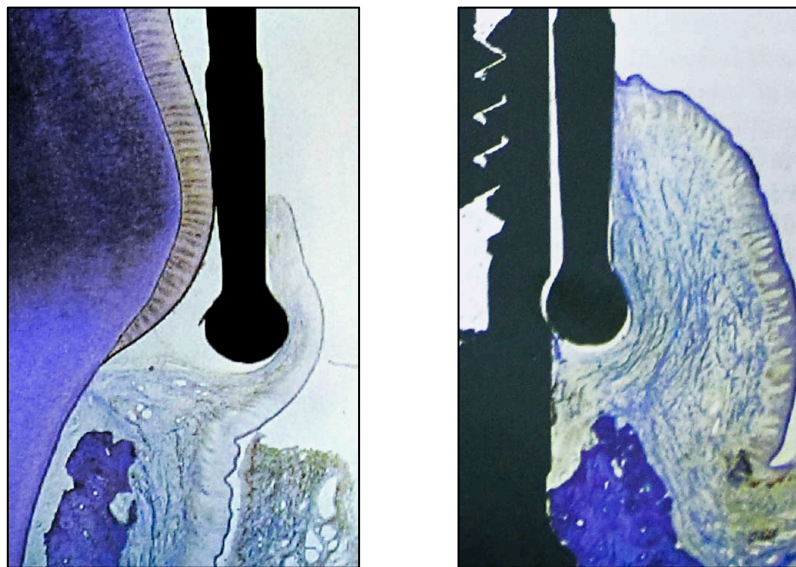


Figura 15. de Abrahamsson y Soldini, 2006. (59)

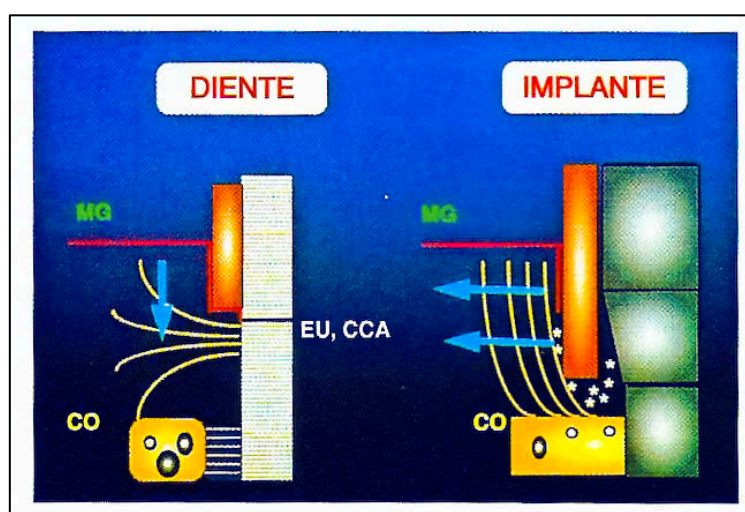
En general, los implantes con mucosa sana presentan una profundidad de sondaje de aproximadamente 3 mm. La forma del implante y la textura de su superficie condicionan la penetración de la sonda. El sondaje periimplantario resulta muy complicado cuando el perfil de emergencia protésico es muy pronunciado o en casos de que existan hombros o escalones protésicos o incluso supraestructuras. La ausencia de superficies lisas, como en el caso de los implantes grabados con ácido o tratados con plasma de titanio, y la presencia de espiras pueden interferir en la

penetración de la sonda cuando la reabsorción ósea alcanza este nivel del implante, causando una infravaloración en la profundidad del sondaje.

Aunque no existe evidencia científica concluyente, algunos autores se han mostrado preocupados por la posibilidad de introducir bacterias al interior de los tejidos periimplantarios durante el sondaje y con la posibilidad de dañar la superficie del implante si se emplean sondas (**figura 16**).

Otros autores consideran que el aumento en la profundidad de sondaje puede indicar un mayor grado de inflamación de la mucosa periimplantaria pero no necesariamente una mayor pérdida de hueso marginal. Sin embargo, los valores de la profundidad del sondaje deben interpretarse en el contexto de la posición implantaria postquirúrgica. Incrementos en la profundidad de sondaje deben considerarse un signo de alarma. Así las cosas, el establecimiento de un nivel de sondaje basal en el momento de entregar la prótesis es de la máxima importancia de cara a establecer futuras comparaciones en las medidas de éste parámetro clínico (65).

Figura 16.
Diferencias entre el sondaje de un diente y un implante.(65)



El sondaje periimplantario debería incluir la determinación del nivel del margen de los tejidos blandos respecto a un punto reconocible de la prótesis o el implante (en el caso de los no sumergidos). Si la periimplantitis se acompaña de recesión marginal la determinación aislada de la profundidad de sondaje puede no reflejar con exactitud la pérdida de hueso, mientras que incrementos en la pérdida del nivel de inserción del tejido conjuntivo sí es un signo patognomónico de enfermedad periimplantaria (65).

Las comparaciones entre sucesivas mediciones en la profundidad de sondaje presentan una reproducibilidad mayor cuando se emplean sondas periodontales con control automático electrónico en la fuerza de sondaje que cuando se emplean sondas manuales. Existe evidencia que demuestra la inocuidad de la realización de un sondaje en los tejidos periimplantarios, el reestablecimiento del sellado de la barrera epitelial se produce en los 5 días posteriores a la realización del sondaje (68).

4. PRESENCIA DE ENCÍA QUERATINIZADA.

Estudios clínicos y experimentales no han demostrado que sea cierto el concepto tradicional de que una encía queratinizada alrededor del diente favorezca el mantenimiento de la salud periodontal (69). Tampoco se han encontrado diferencias en la recesión de los tejidos blandos periimplantarios, o en la pérdida ósea de los implantes con encía queratinizada o sin ella, tras la inducción experimental de la enfermedad periimplantaria en perros.

Aunque existen estudios que correlacionan la presencia de encía queratinizada alrededor de los implantes con una salud óptima de los tejidos blandos y duros periimplantarios (70), estudios clínicos longitudinales no han demostrado que existan diferencias significativas en la progresión de la enfermedad en los implantes con encía queratinizada o sin ella, ni que la ausencia de encía queratinizada suponga un factor de riesgo para el mantenimiento de la salud periimplantaria.(71).

En condiciones de una higiene oral adecuada, el tipo de mucosa que rodea los implantes tiene poca influencia en la supervivencia de los implantes a largo plazo. Sin embargo, en condiciones de higiene oral deficitaria el daño producido es mayor en implantes sin encía queratinizada que en implantes con mucosa queratinizada y la higiene oral también se puede ver dificultada en ausencia de encía queratinizada.

5. TEST DIAGNÓSTICOS EN PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA.

El desarrollo de nuevos test diagnósticos en periodoncia/implantología se relaciona con un mejor conocimiento de la patogenia de la enfermedad periodontal/periimplantaria, y ello ha supuesto el desarrollo de herramientas que miden con exactitud la amenaza microbiológica subgingival y la respuesta inmune del huésped a esta amenaza. El reto para los investigadores ha sido desarrollar un test que sea capaz

de identificar a los pacientes con riesgo de sufrir exacerbaciones de la enfermedad (periodos activos de la enfermedad) y que dientes/implantes experimentarán en un futuro próximo pérdida de los tejidos de inserción. Además de predecir el riesgo del paciente o del diente/implante de sufrir una recidiva en la actividad de la enfermedad. Los test diagnósticos evalúan la respuesta al tratamiento y permiten adaptar el plan de mantenimiento a las necesidades individuales del paciente. El test diagnóstico ideal en implantología debe ser además económico y fácil de usar en el gabinete odontológico.

5.1. Análisis del fluido crevicular periimplantario:

El fluido crevicular, un transudado sérico o exudado inflamatorio, puede recogerse del surco gingival o periimplantario. Este fluido está formado por diversos constituyentes séricos, productos derivados de la respuesta inflamatoria del periodonto y restos del tejido gingival del surco. El interés en estudiar el fluido crevicular se ha centrado en descifrar la patofisiología de la enfermedad periodontal, y en la identificación de potenciales test diagnósticos de la periodontitis/periimplantitis activa.

El fluido crevicular gingival se recoge de modo no invasivo mediante una tira de metilcelulosa que se introduce en el surco periimplantario. Estas tiras de papel absorben el fluido crevicular y se retiran después de un tiempo determinado. El volumen de fluido recogido se determina mediante un instrumento llamado "Periotron[®]" que mide los cambios en la capacitancia eléctrica, la cantidad de fluido crevicular normal varía entre menos de 0.1 y 2.0 microlitros. Los componentes del fluido crevicular son captados de la tira y analizados mediante inmunofluorescencia directa (ELISA) o mediante inmunoensayo a través de fluorescencia de concentración de partículas, de modo que se cuantifique la presencia de moléculas específicas en el fluido crevicular.

Diversos marcadores bioquímicos del fluido crevicular periodontal se han identificado como potenciales marcadores de la presencia y actividad de la enfermedad periodontal (72). Sólo algunos estudios han encontrado que exista una asociación estadística significativa entre los signos clínicos de inflamación periimplantaria y el aumento en los niveles creviculares de las moléculas bioquímicas mediadoras del proceso inflamatorio. Numerosas investigaciones han pretendido identificar potenciales marcadores bioquímicos de salud y enfermedad periimplantaria, centrándose en los

diversos mediadores presentes en el fluido crevicular, incluyendo la actividad de la proteasa, colagenasa, gelatinasa y elastasa; la aspartato aminotransferasa; glucosaminoglicanos y mediadores del proceso inflamatorio como la interleucina 1beta (IL 1- β) y prostaglandina E₂ (PGE₂).

Las citoquinas son moléculas que modulan la función de una gran variedad de células y están involucradas en la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria. Aunque existe un gran número de citoquinas, la más empleada en los test diagnósticos es la IL 1- β . (73, 74). La IL 1- β producida por una gran variedad de células, aunque el principal productor de IL 1- β en el tejido gingival es el macrófago. La IL 1- β posee muchos efectos biológicos, incluyendo la iniciación de la respuesta aguda a la infección. Sin embargo, en el tejido periodontal/periimplantario provoca la destrucción del tejido conectivo y reabsorción ósea por activación de la función de los osteoclastos. Kao y colaboradores (75) encontraron que los niveles de IL 1- β en el fluido crevicular periimplantario en los implantes con enfermedad eran tres veces superiores a los encontrados en implantes con salud de los tejidos circundantes, relacionando la presencia de esta citoquina catabólica con la destrucción ósea periimplantaria. Sin embargo, el uso de la IL 1- β en el gabinete odontológico es complicado porque este análisis requiere el uso de maquinaria costosa manejada por expertos. También se han encontrado niveles altos en fluido crevicular periimplantario de PGE₂ y factores de crecimiento derivados de plaquetas en implantes con fracaso secundario de la oseointegración. La elevación significativa de IL 1- β y PGE₂ tanto a nivel del fluido crevicular de implantes enfermos como de implantes con encía sana en un mismo paciente puede interpretarse como el resultado una respuesta local del huésped aumentada (76).

El hallazgo de que enzimas procedentes de los gránulos lisosomales de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) se encuentran aumentadas en los sitios con periimplantitis puede indicar que existe una actividad celular aumentada de los PMN. Los sitios con periimplantitis presentan aumento en la concentración crevicular de lactoferrina, alfa 2-macroglobulina, fosfatasa alcalina y elastasa que los sitios control, y además los niveles de estos marcadores se correlacionan con los signos clínicos de inflamación (77). Los niveles de estas enzimas se relacionan con el grado de inflamación aguda presente en el tejido periimplantario. Lamster y colaboradores (78), en un estudio multicéntrico, evaluaron si los niveles de β -glucoronidasa en el fluido

crevicular se correlacionan con la pérdida de inserción en los tres meses siguientes a la determinación. Encontraron que los pacientes con niveles altos de β -glucuronidasa tienen entre 6 y 14 veces más riesgo de sufrir pérdida de inserción de los tejidos periodontales que los pacientes que presentan niveles normales de β -glucuronidasa. Armitage y colaboradores (79) encontraron que la elastasa también se encuentra elevada en pacientes con enfermedad periodontal. Estas dos moléculas pueden medirse en el gabinete odontológico, permitiendo al paciente y al odontólogo beneficiarse de las implicaciones terapéuticas que tiene su determinación. Las metaloproteinasas (MMPs) liberadas por las células inflamatorias también se han empleado para diagnosticar la enfermedad periodontal. Azmak y colaboradores (80) estudiaron la utilidad de un test de uso odontológico para medir la MMP-8 en el fluido crevicular y concluyeron que es muy útil para evaluar la eficacia del tratamiento.

La aspartato aminotransferrasa (AST) es una enzima encontrada en el citoplasma celular y se su medición se realiza como marcador de muerte celular. Una vez que la célula muere y su membrana se rompe, la AST se libera al líquido intersticial. El concepto que subyace en el uso de la AST como test diagnóstico presupone que durante las fases de destrucción periodontal/periimplantaria una gran cantidad de células mueren, liberando AST al fluido crevicular. Chambers y colaboradores encontraron que niveles altos de AST en el fluido crevicular se asoció con un riesgo de entre 9 y 16 veces mayor de sufrir destrucción periodontal tisular (81). Otros marcadores de muerte celular como la lactato deshidrogenasa (LDH) no han mostrado correlación con la actividad de la enfermedad periodontal (82).

Las inmunoglobulinas se producen en los tejidos periodontales y por lo tanto se encuentran en el fluido crevicular. Los niveles de inmunoglobulina G (IgG) no ha demostrado una correlación significativa con la enfermedad periodontal, aunque algunos subtipos de IgG se identifican con pacientes de alto riesgo en presentar progresión de la enfermedad periodontal (83). Paradójicamente, la inmunoglobulina A (IgA) se encuentra elevada en sujetos sanos y en pacientes con bajo riesgo de presentar enfermedad periodontal activa, es por lo tanto un factor de protección (84, 85).

Otros estudios aportan resultados que revelan una fuerte correlación entre el volumen del fluido crevicular periimplantario y la formación de placa bacteriana, y también con el grado de inflamación de los tejidos blandos periimplantarios (86). En un

estudio longitudinal de 3 años, Behneke y colaboradores (87) encontraron una correlación positiva estadísticamente significativa entre el volumen del fluido crevicular periimplantario y la cantidad de reabsorción ósea periimplantaria; y en una segunda publicación que hicieron a los 5 años de seguimiento el número de sitios que mostraban esta correlación positiva aumentó de manera significativa (88).

En resumen, el análisis del fluido crevicular ha demostrado ser útil como predictor del riesgo de pérdida de inserción periodontal.

5.2. Pruebas diagnósticas microbiológicas en periodoncia e implantología:

Los análisis microbiológicos se emplean en odontología para medir el riesgo de caries, en implantología y en periodoncia. En implantología se sabe que las bacterias son necesarias para el desarrollo de la enfermedad periimplantaria, pero sólo un pequeño número de bacterias pertenecientes al complejo rojo de Socransky están relacionadas con la etiología y progresión de la enfermedad. Aunque no existe una relación-causa directa entre presencia de bacterias periodontopatógenas y enfermedad, sí existe evidencia importante que relaciona la progresión de la enfermedad periodontal con los organismos del “complejo rojo” de Haffajee y Socransky. Esto incluye a *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, y *Treponema denticola*. Además de estas bacterias, *Agregatibacter actinomycetemcomitans* se ha asociado con periodontitis agresiva. Aunque estas bacterias se han asociado con riesgo elevado de presentar progresión de la enfermedad periodontal, también se han aislado en numerosos pacientes que no presentaban periodontitis activa. (31,32).

Bacterias como *P. gingivalis* o *T. forsythia* aumentan el riesgo relativo de pérdida de inserción en un valor de entre un 1,59 y 2,45 respectivamente (89). En otro estudio, pacientes adultos con enfermedad periodontal refractaria fueron investigados clínica y microbiológicamente al inicio del tratamiento y a los 12 meses después. Las lesiones periodontales en las que no se detectaron *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* o *P. intermedia* no mostraron incrementos en la pérdida de inserción, mientras que el 20% de los sitios con niveles detectables de uno o varios de estos periodontopatógenos sufrieron una pérdida de inserción adicional de 2mm (90).

En un estudio longitudinal a 5 años, sólo las bolsas periodontales en las que no se identificaron *A. actinomycetemcomitans* o *P. gingivalis* y <5% *P.intermedia* permanecieron estables, mientras que el 67% de los sitios con test positivos para una o más de estas especies sufrieron pérdida de inserción (91). Estudios longitudinales y retrospectivos de varios centros investigadores también han indicado un aumento en el riesgo de fracaso periodontal en nichos con test positivos para periodontopatógenos específicos. (92-95). Uno de los criterios para suspender el tratamiento periodontal mecánico-quirúrgico es la supresión de determinados periodontopatógenos específicos por debajo de los niveles detectables en los test. La microbiología clínica periodontal y periimplantaria se fundamenta en su utilidad como herramienta para diseñar estrategias terapéuticas eficaces y en su capacidad para monitorizar la eficacia de los tratamientos realizados (96).

Existen dos métodos en la toma de muestras bacterianas de la placa dental. Una consiste en emplear una cureta para raspar la superficie del diente/implante. Esta técnica suele emplearse para obtener muestras de placa supragingival. Para la placa subgingival, la técnica de la cureta también se usa con frecuencia, pero existen dificultades técnicas que impiden insertar la cureta a más profundidad de 6mm. La alternativa consiste en usar una punta de papel estéril como las de endodoncia. La punta se introduce en la bolsa y absorbe el fluido crevicular que contiene a las bacterias. Una gran cantidad de bacterias se recogen con este sistema y además se consigue obtener material del fondo de bolsas de difícil acceso para la cureta. El inconveniente de esta técnica es que se obtiene una muestra bacteriana plactónica más que el masa bacteriana del propio biofilm que se recaba con la cureta. No existe evidencia que permita comparar la eficacia de estos dos métodos. (97).

Otra cuestión importante desde un punto de vista metodológico para la aplicación de las pruebas microbiológicas en periodoncia/implantología es determinar los sitios en los que deben tomar las muestras, y considerar si estos sitios son representativos del resto de los dientes/implantes. La estrategia empleada en la toma de muestras difiere mucho en los estudios. Tomar muestras de todos los nichos de la boca de un paciente no es viable clínica ni económicamente, por lo tanto se deben seleccionar los sitios de los que tomar las muestras. La mayoría de los clínicos tienden a seleccionar los sitios más afectados por la enfermedad, y emplean estos resultados para clasificar al paciente en una escala de riesgo de progresión de la enfermedad

periodontal/periimplantaria. Evidentemente, esta práctica desprecia el riesgo de que la muestra no sea representativa de la población bacteriana presente en el resto de los nichos, pero se justifica por los límites que se imponen en la toma de muestras. Un investigador puede tomar una muestra de un solo sitio, aleatorizar la toma de muestras en varios sitios de todos los posibles, recabar dos o tres muestras de sitios seleccionados (primeros molares o bolsas periodontales con determinadas características), tomar 28 muestras (una por cada diente incluidos los cordales), o tomar muestras de frotis o salivares. La estrategia empleada en la toma de muestras afecta de modo importante a los resultados de los estudios. Por ejemplo, es más probable detectar una especie determinada si se toman 28 muestras que si se toma una sola muestra del sitio más afectado.

Se ha puesto un interés especial en desarrollar métodos diagnósticos que identifiquen la presencia/ausencia de determinadas bacterias subgingivales. Todas estas pruebas pueden clasificarse en dos grandes grupos, aquellas que requieren cultivar el organismo, y las técnicas moleculares que no precisan mantener vivo a la bacteria. Durante las últimas dos décadas las técnicas moleculares han adquirido un papel predominante. También han supuesto la identificación de cientos de bacterias que todavía no son cultivables.

El descubrimiento de estas especies bacterianas, muchas de las cuales pueden desempeñar un papel importante en la salud-enfermedad del paciente, debe constituir un estímulo para el desarrollo de nuevos medios de cultivo que permitan comprender mejor la microbiología oral. Actualmente no existe una sola técnica que permita identificar la totalidad de las especies bacterianas (más de 700) que componen la comunidad microbiana oral. Así las cosas, una gran variedad de métodos han permitido componer el mapa de la comunidad bacteriana oral que hoy conocemos. Cada técnica posee sus propias ventajas, contraindicaciones y sesgos. Pero tanto las cultivables como las moleculares son necesarias para comprender la ecología de la microbiota oral.

La **microscopía de contraste de fase y de campo oscuro** valora la composición de la placa, las bacterias se identifican en base a su tamaño, forma y movilidad. Este método no identifica especies, no es posible dar nombres a las

bacterias por su morfología. Su uso como método para predecir la progresión de la enfermedad no está avalado (98).

Realizar un **cultivo bacteriano** requiere obtener una muestra bacteriana viva del paciente y transferirla al laboratorio. Se coge una muestra de placa subgingival del paciente con puntas de papel o curetas y se traslada en un medio de transporte específico TSBV (tripsina, bacitracina, vancomicina), después se dispersa la muestra y se cultiva en agar bajo condiciones aerobias o anaerobias. Una vez hecho esto, se subcultivan las especies individuales y se identifican en función de una serie de propiedades como son la morfología, afinidad por las tinciones, reacciones bioquímicas, patrones de fermentación, productos metabólicos, etc. expresando el resultado en unidades absolutas o en proporciones de especies dentro del conjunto de la placa (99).

La sensibilidad de los métodos de cultivo frente a bacterias estudiadas es de $10^4 - 10^5$ cuando se utilizan medios no selectivos, y de 10^3 cuando se utilizan medios selectivos. La necesidad de mantener a las bacterias vivas, la dificultad técnica que en ocasiones implica el mantener las condiciones de anaerobiosis y asegurar la presencia en la atmósfera de CO_2 , la necesidad de incubar la muestra a $37^\circ C$, y la existencia de organismos con requisitos nutricionales especiales hacen que no todas las bacterias sean cultivables. Todo esto implica la posibilidad de falsos negativos y lentitud en el procedimiento y constituyen las principales desventajas de esta técnica. Sin embargo, el cultivo y los test de sensibilidad son útiles para determinar las opciones terapéuticas antimicrobianas.(100).

Existen dos opciones a la hora de aplicar la asociación cultivo / antibiograma en la clínica. Una consiste en identificar mediante cultivo la mayoría de los gérmenes presentes y elegir un antibiótico que inhiba el mayor número de bacterias aisladas: con ello se puede eliminar gran parte de la flora con el antibiótico de primera elección; y se conocen además los antibióticos alternativos al elegido. Hoy en día no parece ser la opción ideal ya que el empleo de antibióticos de amplio espectro repercute en la ecología. El otro método se basa en identificar la flora predominante y elegir un antibiótico que inhiba a los aislados con mayor poder patogénico. En este caso las muestras obtenidas se procesan de forma que se eligen los patógenos con más influencia contrastada en la patogenia de la enfermedad

enfrentándolos con antibióticos diferentes. El más específico para eliminar el grupo estudiado se elige como antibiótico de primera elección, de esta forma es más fácil elegir un antibiótico sin que la elección recaiga en alguno de amplio espectro.

Mediante técnicas de **microscopía de inmunofluorescencia** se ha estudiado la asociación entre bacterias como *P. gingivalis* y *B. forsythus* y su relación con la profundidad de bolsa (101). Se trata de una prueba consistente en tomar una muestra de placa subgingival e incubarla con anticuerpos monoclonales, suero anti IgG y fluoresceína para la formación de complejos antígeno-anticuerpo, los cuales se detectan como positivos o negativos para las bacterias estudiadas mediante microscopía y un fluorómetro, cuantificando las especies individuales, consiguiendo niveles de detección bacteriana de 10^4 . Uno de los mayores problemas de esta técnica son las reacciones cruzadas entre bacterias específicas con bacterias no cultivables de las bolsas periodontales o con bacterias no orales.

La **aglutinación por látex** consiste en mezclar muestras de placa subgingival en una suspensión de partículas de látex recubiertas con anticuerpos específicos. Esto provoca una reacción con los antígenos bacterianos que resulta en una aglutinación evaluada visualmente en 2-5 min. Un prototipo de este sistema es la detección de antígenos de *P. gingivalis*; *A. actinomycetemcomitans* y *B. forsythus* en muestras de placa bacteriana.

ELISA es una técnica que depende de la disponibilidad de anticuerpos específicos que reaccionan con los antígenos seleccionados y que serán detectados mediante un anticuerpo primario directamente con un marcador fluorescente (inmunofluorescencia directa) o con un anticuerpo fluorescente secundario (inmunofluorescencia indirecta). En esta técnica el anticuerpo primario se detecta a través de una reacción colorimétrica catalizada por una enzima que usualmente es la peroxidasa del rábano o la fosfatasa alcalina unida al anticuerpo secundario. Estas técnicas pueden ser muy específicas si se realizan los controles adecuados para evitar las reacciones colorimétricas o fluorescentes inespecíficas. El principal problema es que sólo pueden detectarse aquellas especies para las que existen anticuerpos disponibles. Según estudios de Offenbacher, el ELISA parece ser válida para reflejar tanto exposiciones pasadas como niveles bacterianos presentes, pero tiene muy poco valor predictivo (102).

Otra técnica empleada para la identificación de periodontopatógenos específicos es el **inmunoensayo a través de fluorescencia de concentración de partículas**, que puede realizarse con gránulos de poliestireno que se recubren de anticuerpos específicos y son empleados como sustrato para reaccionar con la muestra de placa seleccionada. Mediante un fluorímetro se detecta una señal fluorescente que detecta el número relativo de bacterias presentes en las muestras. Una modificación del método anterior consiste en sustituir los gránulos de poliestireno por células bacterianas unidas a los diferentes anticuerpos monoclonales específicos frente a los lipopolisacáridos de las especies periodontales en estudio. Esta técnica presenta una sensibilidad del 97-100% y una especificidad del 57-92% dependiendo de la especie en estudio y un límite de detección de 10^4 en cultivos mixtos (103).

Un test de ELISA modificado es el **inmunoensayo de membranas** comercializado con el nombre de *Evalusite*[®] que detecta tres patógenos periodontales: *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *P. intermedia*. La muestra del paciente se enfrenta con los anticuerpos específicos de estas tres especies ubicados sobre la membrana de un pocillo, los complejos antígeno-anticuerpo se detectan por adición de un segundo anticuerpo marcado con un sustrato enzimático coloreado. Los punteados de los distintos pocillos nos indican la presencia de las tres especies diferentes, mientras que la intensidad del color indica el número relativo de las bacterias. El test nos indica resultados negativos o positivos y se puede realizar en 10 minutos. El límite de detección para las tres especies varía entre 10^4 y 10^5 células bacterianas(104,105).

Los test microbiológicos más frecuentemente empleados para identificar a los patógenos periodontales se basan en métodos de análisis del ADN bacteriano. Las **sondas de ADN** permiten identificar secuencias de nucleótidos específicos para especies bacterianas concretas. Son relativamente baratas y permiten detectar bacterias específicas de la placa subgingival en niveles de 10^3 . Las muestras subgingivales son sometidas a la digestión enzimática del ADN bacteriano, estos fragmentos desconocidos son expuestos a sondas marcadas complementarias y bajo determinadas condiciones de temperatura e ionización, se permite su hibridación en un sustrato de nitrocelulosa. El ADN puede ser detectado por radiomarcado o reacción calorimétrica y los test detectan tanto la presencia como el número aproximado de bacterias. Existen distintos tipos de sondas en función de su empleo: de ADN de ARN, o secuencias de oligonucleótidos sintéticos que se hibridan con ácidos nucleicos de

las bacterias diana (106). Comparado con el cultivo, es un método más simple, rápido, barato y a veces más sensible. Entre las desventajas se encuentra la imposibilidad de este método para identificar determinados patógenos, ya que existe un número limitado de sondas disponibles y tampoco dan información sobre la susceptibilidad de las bacterias frente a los distintos antibióticos ya que se trabaja con bacterias no viables. El análisis del ADN en las técnicas moleculares se realiza directamente de la muestra sin necesidad de cultivo; aunque esto elimina el sesgo del cultivo (sobrecrecimientos bacterianos selectivos), introduce el sesgo de la diferenciación del ADN de cientos de diferentes organismos en la muestra.

Las técnicas más poderosas para identificar bacterias se basan en la comparación de un gen esencial, el gen 16S ribosomal. Este gen codifica la producción de RNA presente en la subunidad pequeña ribosomal. Los ribosomas son la maquinaria encargada en transducir la secuencia de ADN en proteínas empleando el código genético universal. Como el mantenimiento y la fidelidad de esta transducción es crítica, algunas regiones del ADN_r se conservan de modo tan inalterado que sirven para alinear genes de organismos distintos. Otras regiones menos crítica para la transducción están sometidas a una menor presión y presentan variaciones en la secuencia que son únicas de cada especie bacteriana. Estas variaciones permiten distinguir bacterias similares. Actualmente se conoce la secuencia 16S de 125.000 bacterias y se encuentran en una base de datos pública GenBank del Proyecto de Datos Ribosomal. Una bacteria puede identificarse obteniendo su secuencia DNA del gen 16S y comparándola con las secuencias presentes en el GenBank mediante un sistema de búsqueda llamado BLAST. A este procedimiento se le ha llamado "BLASTing". La comparación de las secuencias del gen 16S permite más que la mera identificación bacteriana, la clasificación filogénica actual de las bacterias se basa en esta técnica (107).

Para extraer el ADN bacteriano de modo que se pueda analizar, es preciso romper la bacteria sin que se dañe el ADN. Existen varios métodos para lisar bacterias, cada uno puede resultar más eficaz en la recolección de ADN de determinadas bacterias que en otros grupos bacterianos. Se han desarrollado diversas herramientas comerciales (Kits) que lisan bacterias de modo específico. Un método habitual es usar detergente y proteinasa K para romper la pared celular. Esta técnica lisa una gran variedad de bacterias, pero existe evidencia que demuestra la resistencia de algunos

Gram + como los estreptococos a este método. Por este motivo esta técnica se emplea más con muestras subgingivales. En los últimos años se ha puesto de moda el uso proyectar mediante vibración diminutas partículas de vidrio contra las bacterias. La duración de la vibración y la composición de las partículas varía en función de que se desee un proceso más o menos agresivo. Este procedimiento lisa las bacterias más resistentes, pero en las más frágiles (como las espiroquetas) se puede dañar el ADN. Esta técnica se emplea habitualmente en muestras supragingivales, en las que se espera aislar una gran cantidad de estreptococos. Es probable que en poco tiempo se desarrollen nuevos métodos de lisis bacteriana que permitan obtener muestras más representativas del ADN presente en el complejo ecosistema bacteriano oral.

La **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** descrita por Kary Mullis (108) en 1985, se basa en sintetizar grandes cantidades de ADN in vitro de manera similar a como la célula lo realiza in vivo. Las regiones conservadas y las variables del gen 16S constituyen el objetivo de la PCR. El ADN 16S de todas las bacterias puede amplificarse usando primers (secuencias de nucleótidos) homólogos a la regiones conservadas del gen 16S como cebadores. Esto permite estudiar bacterias que no se habían identificado con anterioridad. Primers específicos para cada especie, basados en las regiones variables de la secuencia del gen 16S, pueden ser diseñados para permitir la identificación de bacterias específicas en una muestra. Estos primers se añaden a una solución que contiene ADN de doble cadena de la muestra del paciente; mediante calentamiento a 90-95°C se desnaturaliza el ADN de la muestra y se obtienen cadenas sencillas. Al enfriar la mezcla disminuyendo la temperatura a 40-60°C las cadenas sencillas se hibridan con los cebadores. Al elevar de nuevo la temperatura a 70-75°C la polimerasa comienza a extender a los cebadores usando como molde la cadena sencilla de ADN original, obteniéndose al final una cadena complementaria a la inicial. La presencia o ausencia de estas reacciones de hibridación se determina mediante una electroforesis en gel agarosa. Al poder ser utilizados los productos de un ciclo como moldes para el ciclo siguiente, el número de copias de ADN se dobla en cada ciclo, lo cual le hace uno de los métodos con mayor sensibilidad además de ser relativamente simple y rápido, capaz de detectar un solo microorganismo, lo cual lo avala como uno de los métodos más eficaces hoy en día en cuanto a diagnóstico periodontal (109).

Por todo ello la PCR ha demostrado ser superior a cultivo en términos de sensibilidad, especificidad y eficiencia, lo cual tiene un gran interés para la detección de microorganismos específicos en estudios epidemiológicos a gran escala (110, 111). Griffen aplicó la PCR para detectar *A. actinomycetemcomitans* usando primers entre las regiones 16S y 23S de los genes ribosomales (112). No sólo este método es capaz de detectar *A. actinomycetemcomitans* en proporciones muy pequeñas sino que mediante análisis de restricción de las regiones amplificadas podemos diferenciar cepas de este microorganismo para estudios epidemiológicos. También se han desarrollado sondas de PCR que no están basadas en el gen 16S sino en otros genes que codifican una propiedad singular de una bacteria; un ejemplo es el gen de la leucotoxina del *A. actinomycetemcomitans*. El mayor inconveniente de la PCR es su incapacidad para identificar la susceptibilidad frente a antibióticos, lo cual supone un serio inconveniente para monitorizar clínicamente los resultados de la terapia periodontal (113, 114).

Mediante la PCR convencional es difícil cuantificar adecuadamente el número de bacterias en una muestra puesto que el resultado es evaluable después de que la amplificación del gen ha sido completada. En la actualidad este inconveniente se ha solventado mediante la aplicación de la **PCR cuantitativa (qPCR) o PCR a tiempo real**. A finales de 1990 se desarrolla la técnica de la PCR a tiempo real, demostrándose que es un método muy sensible y rápido para la detección y cuantificación de especies microbianas (115-117). La PCR a tiempo real es una variante de la PCR convencional que se emplea para la cuantificación de ácidos nucleicos, tanto de ADN como de ARN mensajero en una muestra, de tal manera que se puede monitorizar el progreso de la PCR mientras ésta se sucede, de este modo los resultados son obtenidos a lo largo del proceso de la PCR mucho antes de que ésta termine, y no requiere de un análisis una vez finalizado el proceso. La PCR cuantitativa lleva los mismos reactivos que la PCR a tiempo final, más una sonda marcada con un fluorocromo que, en un termociclador equipado con sensores para detectar la fluorescencia emitida tras excitar el fluorocromo a la longitud de onda apropiada, permite ver la dinámica de las curvas de amplificación mediante un programa informático del propio termociclador de qPCR. La emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN que se va generando, permitiendo conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción

de amplificación. Así el análisis de los datos y cuantificación del producto se realiza en la fase exponencial de la PCR, donde exactamente el doble del producto se acumula en cada ciclo (precisamente cuando los componentes de la reacción aún no se han consumido). La reacción de PCR en la fase exponencial es muy específica y precisa, lo que la diferencia de lo que sucede en la fase lineal y de saturación, que es donde se analizan los productos de la PCR cualitativa en geles de agarosa con tinción de bromuro de etidio. En la PCR a tiempo real se emplean dos tipos de sistemas de detección por fluorescencia: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromos diseñadas de manera especial. Los agentes intercalantes son fluorocromos que aumentan notablemente la emisión de fluorescencia cuando se unen a una molécula de ADN de doble hélice. El más empleado es el SYBR green. La fluorescencia emitida se incrementa de forma proporcional al ADN que se forma en cada ciclo de PCR. Este sistema tiene la ventaja de ser más sencillo y barato que las sondas específicas. Sin embargo el principal inconveniente del SYBR green es su baja especificidad, puesto que se unen de manera indistinta a productos que se pueden generar inespecíficamente o a dímeros de los propios oligocebadores de la reacción. Por este motivo, en muestras complejas de ADN como las muestras de microbiota oral, se suelen emplear sondas de hibridación específicas. Son sondas (pequeños cebadores) marcadas con dos tipos de fluorocromos: uno donador y un aceptor. El proceso se basa en la transferencia de energía fluorescente mediante resonancia (FRET) entre las dos moléculas. Las más utilizadas son las sondas de hidrólisis, también conocidas como sondas TaqMan. Gracias a la alta especificidad de los cebadores y las sondas TaqMan es posible distinguir el patógeno de estudio entre las especies filogenéticamente más relacionadas en la cavidad bucal, por lo que su uso es el más extendido en la cuantificación de bacterias. Las sondas TaqMan son oligocebadores marcados con un fluorocromo donador en el extremo 5' que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor o apantallador en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia liberada por el donador (**Figura 17**). Esto ocurre mientras las moléculas donadora y aceptora están próximas, debido a que el espectro de emisión del primero se solapa con el espectro de absorción del segundo. Durante la amplificación del ADN diana la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la ADN polimerasa, que tiene actividad 5' exonucleasa, hidroliza

el extremo libre 5' de la sonda, produciéndose la liberación del fluorocromo donador. De este modo, al estar separados el fluorocromo del apantallador (quencher) se incrementa la señal fluorescente del primero, la cual es captada por el lector del termociclador (118).

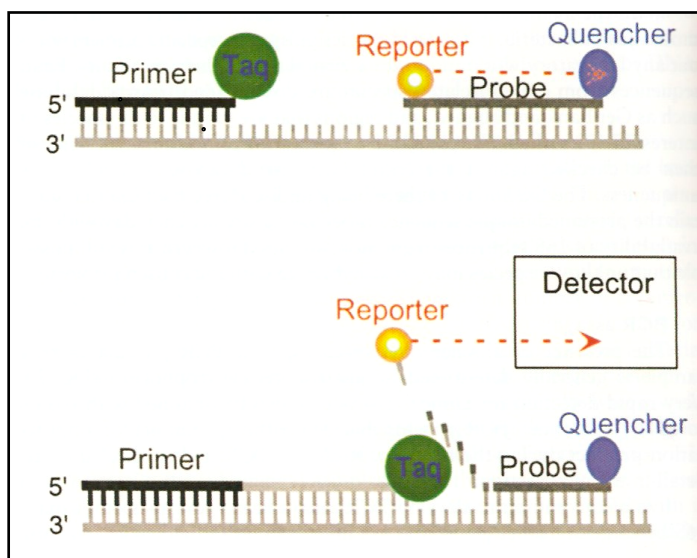


Figura 17. Método TaqMan para la PCR en tiempo real (119).

¿Cómo se cuantifica? En los termocicladores de qPCR el programa informático va registrando el incremento de fluorescencia, que es proporcional al incremento del ácido nucleico en cada ciclo, y esta información se refleja gráficamente en curvas de cinética de la reacción o de amplificación (amplification Plot). Por tanto es posible registrar la amplificación en los primeros ciclos de la reacción. La detección en estos ciclos iniciales es importante porque la concentración de los reactivos todavía no es limitante y el efecto de la variabilidad en la eficiencia de amplificación es menos importante (120). El análisis cuantitativo de los datos se traduce en la evaluación de las curvas de cinética de la reacción, en las que se representa la fluorescencia detectada versus el número de ciclos de PCR.

Para cada muestra, el número de ciclos necesarios para interceptar el valor umbral se llama "ciclo umbral" o "threshold cycle" (Ct). El número de ciclos que se precisan para que la fluorescencia supere el Ct es directamente proporcional a la cantidad de ADN presente en el estándar (Figura 18). El Ct es inversamente proporcional al número de copias iniciales del ADN muestra. Por tanto, cuando realizamos una cuantificación absoluta y representamos gráficamente el logaritmo de

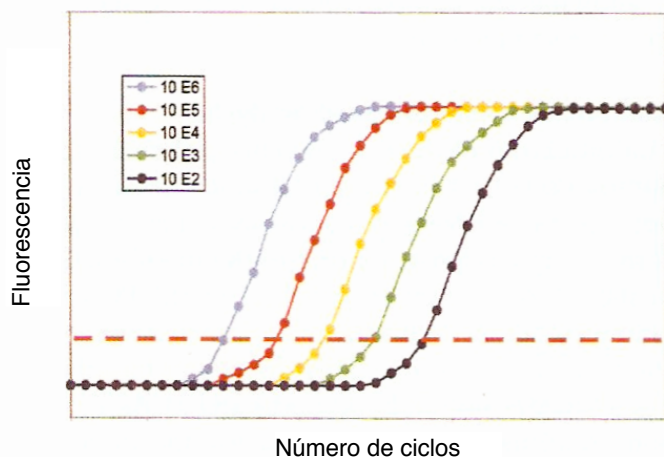


Figura 18. Mediciones de la fluorescencia de la PCR en tiempo real. (119)

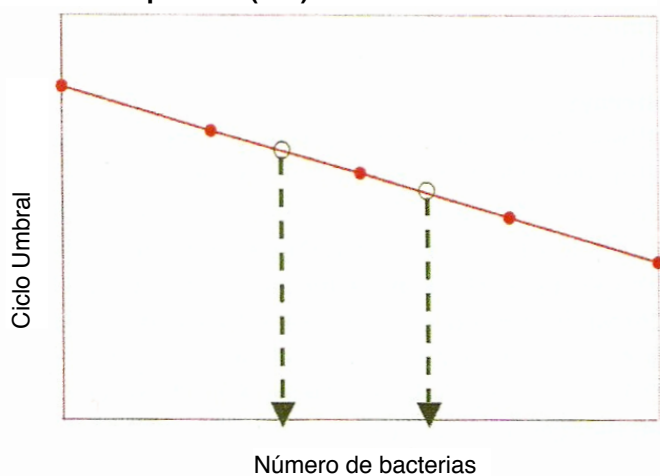


Figura 19. Diagrama del número de bacterias frente al "threshold cycle" de la figura anterior.(119)

la cantidad inicial de ADN de estándares de concentración conocida versus el Ct, el resultado es una línea recta. Se pueden analizar diferentes diluciones decimales del mismo estándar, preferentemente en triplicado, de esta manera construiremos una recta patrón para luego determinar la cantidad de ADN de cualquier muestra problema (Figura 19).

Otro método de cuantificación es la cuantificación relativa, que nos permite determinar cuantas veces (de modo aproximado) de ácido nucleico de una muestra hay con respecto a un tejido o muestra de referencia, así los resultados son expresados de manera relativa y no se necesita de una curva de calibración.

¿Por qué cuantificar las especies

microbianas subgingivales? La presencia o ausencia de la bacteria puede no ser suficiente para evaluar los efectos terapéuticos de algún tratamiento por lo que la cuantificación de los niveles o proporciones de las especies en el biofilm proporciona un mejor resultado. La ventaja de cuantificar las concentraciones de las especies sobre la información acerca de su presencia o ausencia, ha sido evidenciada por autores como Haffajee y Socransky (32). Estos autores describieron el impacto de las concentraciones de los agentes patógenos periodontales, tales como *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* serotipo b, concluyendo que el riesgo de progresión de la enfermedad aumentaba notablemente en zonas donde la concentración de estas bacterias era mayor de 10^5 o 10^6 .

En la figura 20 se muestran los recuentos de la media aritmética de las especies bacterianas aisladas en 189 sujetos sanos y 635 con periodontitis crónica. La media se calculó promediando las 28 muestras que se obtuvieron de cada sujeto participante en

el estudio. La significación estadística entre los dos grupos (sanos y enfermos) se calculó usando el test no paramétrico de Mann-Whitney ajustado para comparaciones múltiples. Los datos demuestran una fuerte asociación de *P. gingivalis* y *T. forsythia* con la periodontitis crónica. Además, la mayoría de los patógenos periodontales oportunistas se encuentran en mayor concentración en los sujetos enfermos que en los sanos (32).

Con el empleo de la PCR a tiempo real y utilizando una sola copia de los genes por célula se puede medir una buena correlación entre la señal fluorescente y el número de células. Morillo y colaboradores realizaron un ensayo de qPCR basado en un gen de una sola copia para cuantificar Aa y Pg en muestras subgingivales (121). Estos experimentos demostraron un alto grado de especificidad, reproducibilidad y consistencia del método para cuantificar estas especies bacterianas. Cabe señalar que uno de los principales inconvenientes de la qPCR es el coste que conlleva,

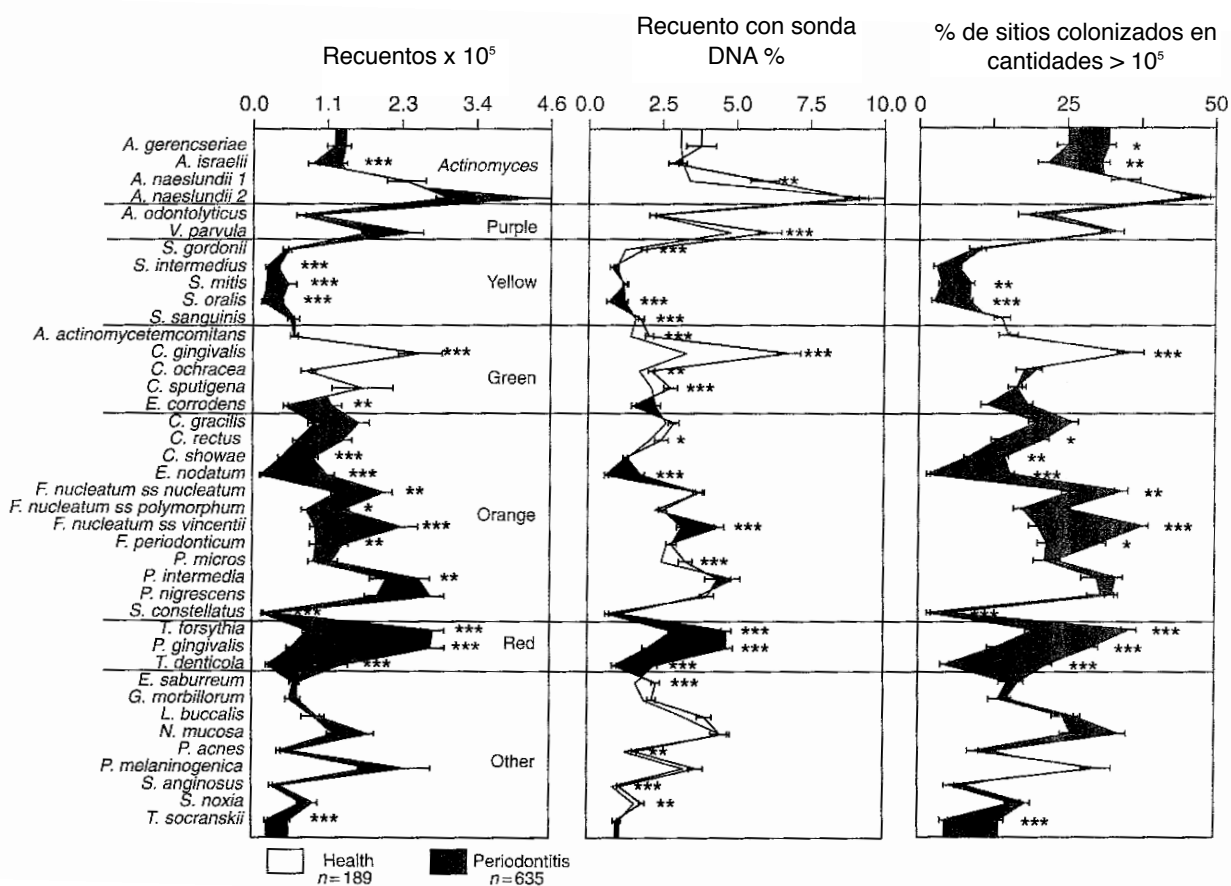


Figura 20. Socransky (32)

sobre todo cuando se utilizan sondas TaqMan, ya que requiere sintetizar diferentes sondas para las distintas secuencias, lo que encarece el coste del análisis.

En adición a los métodos de análisis del ADN también existen otros **métodos enzimáticos para la detección de patógenos**. En general estos métodos no detectan especies específicas de bacterias sino que indican la presencia de enzimas con potencial destructivo del tejido periodontal producidas por un grupo de bacterias periodontopatógenas. Las enzimas utilizadas incluyen colagenasas, peptidasas, enzimas tripsínicas, proteasas y elastasas. Las colagenasas por ejemplo las producen una gran variedad de bacterias además del huésped.

En aplicación periodontal, las colagenasas bacterianas pueden diferenciarse de las colagenasas originadas por las células del huésped mediante electroforesis, aunque su aplicación clínica es limitada. Para la detección de la actividad de enzimas tripsínicas se comercializó un test, el *Perioscan*[®] con capacidad para medir la actividad proteolítica de enzimas similares a la tripsina para degradar un sustrato sintético conocido como Bana (n- benzoil -dL-arginina - 2 naftilamida), actividad aparentemente específica para tres microorganismos: *P. gingivalis*, *B. forsythus* y *T. denticola*. Esta degradación se puede medir por un método colorimétrico mediante la reacción de la β naftilamida con el negro de Evans, los diferentes tonos de azul indican la presencia bacteriana en la muestra. La intensidad de la reacción colorimétrica es proporcional a la concentración de esas especies bacterianas en la muestra. Este método ha demostrado una concordancia en 55-73% con el ELISA para *P. gingivalis* y *T. denticola* y el 51-70% de concordancia con mediciones clínicas de enfermedad periodontal tales como sangrado al sondaje o profundidad de sondaje. (98, 122).

Entre las ventajas de este test figura el ser una prueba rápida, sencilla y barata. Como inconveniente destaca el que no se puede hacer un diagnóstico microbiológico específico. Por otra parte cabe la posibilidad de que el test de positivo en localizaciones sanas si estas albergan alguna especie Bana positiva en número suficiente, además sólo detecta un número limitado de patógenos periodontales y no da información acerca de la sensibilidad de la flora frente a antibióticos. Este test resulta más interesante para detectar la presencia de bacterias más que para interpretar marcadores de virulencia.

5.3. SITUACIÓN ACTUAL DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN PERIODONCIA / IMPLANTOLOGÍA

Una cuestión importante en relación con las pruebas diagnósticas en periodoncia/implantología es determinar cuando deben realizarse. En principio, surgieron como herramientas diagnósticas que se empleaban antes del inicio de la terapia periodontal/periimplantaria. Un exhaustivo examen clínico del paciente y una anamnesis del estado de salud general del paciente aportan abundante información que permiten al clínico determinar el riesgo de progresión de la enfermedad periodontal/periimplantaria en el futuro. La realización de pruebas diagnósticas inmunológicas y/o microbiológicas se justifican en este momento como elementos objetivos que sirven de referencia en la cuantificación de los cambios en el estado de salud provocados por el tratamiento. (98).

Además de diagnosticar una enfermedad, las pruebas diagnósticas pueden determinar cuando una enfermedad crónica y recidivante ha sido correctamente tratada, estableciendo un punto de final de tratamiento. Actualmente el final del tratamiento mecánico-quirúrgico periodontal y periimplantario viene marcado por la reducción de la profundidad de sondaje y de la inflamación gingival. Sin embargo, disponemos de medidas más sensibles de la infección periodontal/periimplantaria, como son el análisis post-tratamiento de los niveles de patógenos periodontales/periimplantarios y la reducción de la respuesta inmune del huésped a estos patógenos. Por ejemplo, en pacientes en los que persisten niveles elevados de periodontopatógenos o con niveles altos de mediadores inflamatorios en el fluido crevicular pueden recibir tratamiento adicional al mecánico-quirúrgico, como puede ser la antibioterapia. Actualmente prevalece el concepto de que el objetivo de la terapia periodontal/periimplantaria a nivel microbiológico es el restablecimiento de una microbiota similar a la que se encuentra en situación de salud. No se trata de eliminar completamente la presencia de periodontopatógenos del complejo rojo, sino de conseguir una reducción cuantitativa de su presencia subgingival que redunde en la eficacia terapéutica (32).

Sin embargo, para poder interpretar correctamente el resultado de estas pruebas diagnósticas y monitorizar la eficacia del tratamiento es preciso disponer de pruebas diagnósticas pretratamiento que sirvan de referencia. El empleo de estas pruebas diagnósticas como criterio para fijar el final del tratamiento de la enfermedad puede conllevar un descenso en la tasa de recidivas de la enfermedad. A pesar de los numerosos métodos que han demostrado predecir el riesgo de progresión de la enfermedad, ninguna de estas pruebas diagnósticas se ha implantado en la práctica odontológica habitual. Algunas causas que pueden justificar este hecho son que los seguros médicos no cubren la realización de estas pruebas, el alto coste que tiene para las empresas de biotecnología el desarrollo y aprobación por las autoridades sanitarias de los dispositivos diagnósticos de uso odontológico, y la falta de interés por parte de los clínicos en la realización de pruebas de laboratorio. Para que la actitud de los clínicos cambie, es necesario que comprendan la relación entre las pruebas de diagnóstico periodontal/periimplantario y las decisiones terapéuticas, así como apreciar el beneficio que su realización aportaría al paciente en salud y al profesional en términos económicos debido al tiempo que le consumiría su realización.

6. SUPURACIÓN.

Numerosos estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos de los tejidos que rodean a los implantes con evidentes signos clínicos de inflamación y avanzada pérdida ósea demuestran la presencia de un importante infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo periimplantario que se extiende hasta el propio hueso crestral (123). Este infiltrado inflamatorio está compuesto por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas (124). Los implantes con periimplantitis presentan un infiltrado inflamatorio mucho más rico en linfocitos-B y polimorfonucleares que los implantes con mucositis (125). Así las cosas, el hecho de que una gran cantidad de células inflamatorias, incluidos los polimorfonucleares, constituyan el infiltrado inflamatorio del tejido conectivo periimplantario puede explicar la presencia de supuración en los surcos de los implantes con enfermedad periimplantaria avanzada.

7. EVALUACIÓN DE LA UNIÓN HUESO-IMPLANTE.

Conseguir una buena estabilidad primaria del implante durante la fase quirúrgica es un requisito indispensable para alcanzar la oseointegración. Que se establezca y mantenga un contacto directo entre hueso e implante es necesario para el éxito a largo plazo del tratamiento. La movilidad implantaria es un indicador de fracaso en la oseointegración. Incluso en lesiones periimplantarias muy avanzadas los implantes pueden permanecer inmóviles como consecuencia de un contacto directo hueso-implante residual en el ápice. Por lo tanto, la movilidad del implante es un parámetro muy específico pero poco sensible para determinar el fracaso de la oseointegración. El dolor y las molestias que en ocasiones refiere el paciente con un fracaso de la oseointegración están asociadas a un aumento en la movilidad del implante, y pueden constituir el primer signo que revele el fracaso implantario. En ocasiones estas molestias anteceden incluso a los cambios radiológicos (126-128).

La evaluación de la movilidad implantaria durante las visitas de mantenimiento sólo pueden realizarse en las prótesis atornilladas (y por tanto fácilmente desmontables), y no en las cementadas o en las restauraciones implante-diente. Un aparato electrónico, el "Periotest®", se ha empleado para monitorizar la movilidad horizontal de los implantes. Sin embargo, los valores de movilidad detectados por el periotest están influenciados por el tipo de maxilar en que se sitúa el implante (superior/inferior); la longitud del implante y del aditamento protésico, la situación de los tejidos periimplantarios y la densidad ósea (129,130). Los valores del "Periotest®" son poco sensibles en el diagnóstico de la enfermedad y están muy condicionados por el operador.

Un método alternativo consiste en hacer un análisis de la frecuencia de resonancia del implante y relacionarla con la estabilidad primaria del implante, monitorizando esta estabilidad a lo largo del tiempo. El aparato electrónico que analiza la frecuencia de resonancia se llama "Osstell®". Un cociente de estabilidad implantaria (Implant stability quotient - ISQ) cuantifica la frecuencia de resonancia de los implantes (que varía entre 3500 Hz y 8500 Hz) en un valor numérico de 1 a 100 que se muestra en la pantalla del "Osstell®". Diversos estudios indican que valores de ISQ inferiores a 47 se correlacionan con baja probabilidad de oseointegración primaria, y que el valor ISQ aumenta con el paso del tiempo en los implantes oseointegrados, lo cual sugiere

un aumento en el área de contacto hueso-implante. La pérdida de hueso crestral también se asocia con disminución en el valor ISQ. (131-132).

8. EVALUACIÓN RADIOGRÁFICA.

Uno de los principales criterios diagnósticos que definen el éxito implantario es el mantenimiento de la altura del hueso crestral. Albrektsson(54) consideró como criterio de éxito una pérdida de hueso crestral media $\leq 1,5\text{mm}$ en el primer tras la carga del implante y $\leq 0,2\text{mm/año}$ durante el resto de la vida del implante . Estos criterios han sido cuestionados recientemente a la luz de estudios longitudinales que aportan evidencia de que la pérdida de hueso crestral periimplantaria es mínima en pacientes que realizan un buen mantenimiento de los implantes (133-135).

Las radiografías periapicales convencionales constituyen una técnica ampliamente aceptada para la evaluación a largo plazo de los cambios en el hueso marginal interproximal de los implantes oseointegrados, si bien su utilidad se ha visto incrementada con el uso de la radiología digital. Las radiografías suelen realizarse empleando la técnica de paralelización con cono largo y posicionadores bucales. Es importante destacar que las radiografías presentan un alto índice de falsos negativos, presentando por tanto una baja sensibilidad en el diagnóstico de los estadios iniciales de la enfermedad. La exploración radiográfica posee una alta especificidad, empleándose más como método confirmatorio más que exploratorio, debe interpretarse como el grado de lesión alcanzado y en conjunto con el resto de parámetros clínicos que indican el grado de actividad de la enfermedad. Sin embargo, la distancia desde un punto del implante (eg. el hombro de la plataforma del implante) hasta el margen crestral del hueso alveolar representa un parámetro clínico fiable para monitorizar la salud periimplantaria muy utilizado en la práctica clínica. (136,137).

Conviene resaltar el hecho de que un contacto hueso-implante a nivel radiográfico no implica necesariamente oseointegración a nivel histológico; ni tampoco la situación inversa, la ausencia de contacto hueso-implante a nivel radiográfico no implica necesariamente ausencia de oseointegración histológica. El empleo de la radiografía digital ha aumentado la precisión diagnóstica al poseer más resolución de

imagen y por tanto aportar una mayor sensibilidad a la técnica diagnóstica radiográfica. Así las cosas, el empleo de la radiología digital se ha extendido en la implantología de cara a monitorizar el remodelado óseo secundario al trauma quirúrgico tras la colocación de los implantes y el aumento o pérdida de densidad ósea alveolar.

BIOMATERIALES EMERGENTES EN EL CONTROL DE LA ENFERMERDAD PERIIMPLANTARIA

1. ESTUDIOS EXPERIMENTALES ANIMALES

“La medicina del mañana se basa en la investigación de hoy, en la que es esencial la experimentación animal” (John Vane, Premio Nobel de Medicina 1982).

El empleo de animales para la experimentación es un “mal necesario”. Existe una tendencia a sustituir los modelos animales por modelos experimentales in vitro, pero desgraciadamente en muchos casos no existen modelos in vitro que reproduzcan las condiciones biológicas de manera tan precisa como la experimentación animal.

Afortunadamente, los experimentos con animales no pueden realizarse de modo indiscriminado y cualquier tipo de trabajo experimental con animales está debidamente sometido a unas estrictas normas legislativas. Actualmente la normativa española incluye tanto la norma europea y nacional como las de las comunidades autónomas. La legislación también incluye una normativa relativa a la seguridad de las personas que trabajan con animales, ya que en ocasiones estos también pueden transmitirnos enfermedades. Recomendamos contactar con el Centro de Cirugía Mínimamente Invasiva Jesús Usón (Cáceres, España) antes de investigar con animales, ya que no sólo darán soporte a cualquier duda relacionada con la legislación vigente, si no que disponen de un personal altamente cualificado y unas instalaciones modernas que ofrecen con creces todas las garantías exigibles en este ámbito.

Antes de iniciar el trabajo hay que presentar un proyecto en el que se justifique debidamente la necesidad de recurrir al modelo animal y las posibles alternativas, se detallan todos los procedimientos, se indique y justifique el tipo de animal y el tamaño muestral necesario, se prevean todos los acontecimientos susceptibles de provocar sufrimiento a los animales y se garanticen todas las medidas necesarias para prevenirlo y tratarlo, y se detalles los supuestos en los que se suspendería si fuera

necesario el experimento por causa del sufrimiento animal incontrolado. La memoria también debe abordar y justificar el destino que tendrá el animal una vez finalizado el experimento.

Normalmente en los primeros ensayos de experimentación animal se emplean los animales considerados “inferiores” (eg. ratón, rata). Superada esta fase de investigación animal inicial, siendo necesario comprobar el resultado de la experimentación en un animal que reproduzca las condiciones biológicas de manera más aproximada a las humanas, se recurre al empleo de animales “superiores” (cerdo, perro, oveja, primates...). En nuestro estudio elegimos el perro por estar el modelo de inducción de enfermedad periodontal descrito en perros y en primates, y ser más sencillo el trabajo con perros. El perro tiene 280 enfermedades congénitas similares a las del hombre.

La raza utilizada tiene que ser lo más pura posible, en el caso de la enfermedad periodontal los más utilizados son los “beagles” o los “labradores”. La procedencia de los animales debe estar perfectamente documentada y cumplir con la normativa al respecto, de modo que deben haber nacido en un centro autorizado de cría de animales de experimentación y mantener unas condiciones de estabulación determinadas durante toda su vida.

La presencia de un biofilm a nivel submarginal induce una reacción inflamatoria de los tejidos duros y blandos periimplantarios que resulta en una pérdida del soporte óseo. Los resultados de estudios realizados en perros y monos demuestran que la formación de placa, inducida mediante la colocación de ligaduras a nivel submarginal, causa destrucción de los tejidos periimplantarios (138).

La progresión de la periimplantitis, cuando se deja que la placa se acumule, es más pronunciada en materiales con superficies rugosa que en implantes con superficies pulidas, esto se debe a que la formación de placa es más proclive cuando existe una superficie rugosa. Es destacable el papel que las bacterias tienen en la iniciación y progreso de la enfermedad periimplantaria (139).

Durante los últimos años se han desarrollado distintas estrategias que pretenden evitar el establecimiento de la enfermedad periimplantaria: Por un lado, se han realizado esfuerzos por prevenir la pérdida de hueso al rededor de los implantes - se han introducido modificaciones en los diseños de los implantes que pretenden minimizar la remodelación ósea periimplantaria que sigue a la oseointegración, y se

han introducido conexiones entre los implantes y los pilares (como la conexión cono morse) que minimizan las filtraciones bacterianas- aunque como la absoluta abolición de la contaminación bacteriana es una quimera, la formación de biofilm subgingival es todavía un problema que a menudo resulta en periimplantitis (140).

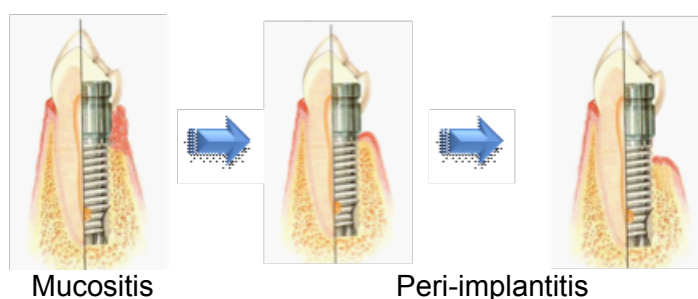
Por otro lado, el tratamiento de la enfermedad periimplantaria continúa basándose en el desbridamiento mecánico y químico, en el empleo de antibióticos tópicos o sistémicos, y en la regeneración tisular guiada cuando es posible. Sin embargo, resulta evidente que la erradicación de resistencias es imposible y que el desarrollo de nuevas resistencias a cualquier antibiótico concreto parece inevitable.

La infección periimplantaria constituye un motivo de preocupación creciente en la investigación clínica. Se han realizado importantes avances en los últimos años, debido especialmente al reconocimiento de que el desarrollo de nuevos materiales, diseños y superficies de los implantes es un factor determinante para alcanzar un tratamiento exitoso. Los implantes optimizados en este sentido pueden acortar los periodos de cicatrización y aumentar los porcentajes de éxito, lo cual es especialmente importante en los casos de carga inmediata. Sin embargo el empleo clínico de recubrimientos biocidas todavía no está generalizado. Los estudios in vivo acerca de estos dispositivos médicos son escasos. Existe consenso en destacar la importancia de mantener un equilibrio inmune adecuado alrededor de los implantes como medio de prevenir la pérdida de hueso y la infección. Por lo tanto, cómo mejorar la oseointegración y la situación inmune alrededor de los implantes es de la máxima importancia para prevenir la infección. En el futuro, superficies que posean tanto una capacidad excelente de oseointegración como buenas propiedades antibacterianas serán investigadas con más protagonismo. (141,142).

2. ESTUDIOS EXPERIMENTALES IN VITRO

Siempre se ha buscado un material biocompatible, y desde que Branemark descubrió que el titanio es uno de ellos, el tratamiento con implantes dentales se ha desarrollado y extendido a la práctica diaria. La industria comenzó por desarrollar nuevas y mejores superficies e introdujo los implantes texturizados, con diferentes grados de rugosidad, con la intención de mejorar la interacción con el hueso y acelerar

el proceso de oseointegración. Estas superficies rugosas y también su energía libre de superficie desafortunadamente atraen con mayor facilidad a las bacterias, favoreciendo la formación de biofilm en los implantes y los pilares protésicos. Las modificaciones químicas en la superficie implantaria y las mejoras en los diseños de las conexiones implato-protésicas también juegan un papel importante en la formación de placa. Con el paso del tiempo se produce una bolsa periimplantaria y se pierde hueso, de modo que la superficie del implante queda al descubierto permitiendo una mayor colonización bacteriana, proceso que termina en la pérdida del implante (139).



Debido a su mayor dureza y superior resistencia a la fractura y la fatiga, los materiales metálicos como los basados en aleaciones de titanio, aleaciones de cromo-cobalto, o en acero inoxidable son considerados actualmente como los de primera elección para soportar cargas en los dispositivos implantológicos. Sin embargo, los implantes metálicos precisan de un proceso de oseointegración que no siempre está exento de complicaciones, y carecen de la capacidad de reparación y de adaptación a los cambios fisiológicos que presenta el hueso natural.

El aumento en la prevalencia de infecciones postquirúrgicas en reposiciones completas de prótesis de rodilla o cadera exige la utilización de antimicrobianos de última generación, de manera especial en la terapia profiláctica prequirúrgica.

La plata se ha usado en el tratamiento de las infecciones desde hace cientos de años y se considera no tóxica para los tejidos humanos. Los iones de plata son capaces de destruir una gran variedad de microorganismos entre los que se encuentran las bacterias Gram+ y Gram- más comúnmente aisladas en las artroplastias, incluyendo al *Staphylococcus aureus* meticilín resistente (MRSA) y otras bacterias con perfiles de resistencia alta a los antimicrobianos (143-145).

Sorprendentemente, la secuencia de acontecimientos y el mecanismo exacto mediante el cual los iones de plata ocasionan la muerte bacteriana respetando a la célula humana no están completamente aclarados. Existen pocos artículos científicos que describan el uso de recubrimientos biocidas de plata en implantes para aumentar el efecto antimicrobiano, y la mayor parte de los que estudian el uso de plata se refiere al empleo de rellenos óseos con carga de iones de plata (146).

Los implantes dentales de titanio se usan de modo habitual en la implantología odontológica por su excelente biocompatibilidad y sus conocidas propiedades mecánicas. La exposición del implante al medio bucal constituye una superficie única con la cual las bacterias del huésped interactúan, de modo que se forma un biofilm. El desarrollo de nuevos materiales con la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano ha tenido un énfasis especial durante los últimos años. Los materiales antimicrobianos inorgánicos presentan varias ventajas sobre los agentes antimicrobianos orgánicos tradicionales, tales como su estabilidad química, su resistencia térmica, su seguridad, su largo tiempo de acción, etc... Los materiales inorgánicos generalmente basan su efecto antibacteriano en las propiedades antibacterianas de los iones metálicos, tales como la plata o el cobre, que se pueden cargar como relleno en matrices cerámicas. Para reducir la carga total de plata o cobre y mejorar la biocompatibilidad, varios investigadores están desarrollando actualmente materiales nanoestructurados que contienen nanopartículas de plata, cobre o zinc (147).

El principal problema a solucionar es la prevención de la formación de biofilm sobre la superficie de los implantes y los aditamentos protésicos. Por ello se hace necesario descubrir y evaluar inhibidores de la formación de biofilm que se puedan incorporar como recubrimientos.

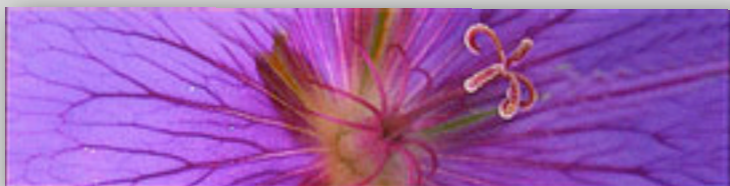
Los métodos eficaces para prevenir la colonización y la adhesión bacteriana mediante recubrimientos implantarios se basan en la incorporación de iones con propiedades antibacterianas (cobre, plata, zinc) y/o incorporar antibióticos o agentes antibacterianos:

- Recubrimientos con antimicrobianos
- Recubrimientos con agentes antimicrobianos orgánicos no antibióticos
- Recubrimientos con agentes antimicrobianos inorgánicos
- Recubrimientos resistentes a la adhesión

- Biofuncionalización con polímeros bioactivos antibacterianos
- Recubrimientos liberadores de monóxido de nitrógeno (NO)

En atención al modo en que se libera el agente antibacteriano, los recubrimientos se clasifican en activos o pasivos. Los recubrimientos pasivos no liberan agentes bactericidas a los tejidos circundantes. Por el contrario, ellos sólo inhiben la adhesión bacteriana y/o matan a la bacteria que entra en contacto directo con el recubrimiento. El mecanismo típico consiste en modificar las propiedades físico-químicas de la superficie tales como la capacidad hidrofílica y la estructura cristalina. Estos recubrimientos son preferidos en tanto en cuanto sus propiedades antibacterianas son suficientes para prevenir la formación de biofilm, y pueden situarse en el interior del organismo durante un periodo de tiempo relativamente largo sin que existan efectos locales o sistémicos derivados de su actividad bactericida mantenida(141). Por el contrario los recubrimientos activos liberan agentes bactericidas preincorporados tales como antibióticos, antisépticos, plata y NO. La ventaja más interesante es su evidente efecto bactericida. Sin embargo, la seguridad biológica de estos recubrimientos es motivo de preocupación, y además estos dispositivos sólo liberan el agente biocida durante un periodo determinado de tiempo después de su implantación. Esto es especialmente cierto en los recubrimientos que liberan antibióticos, antisépticos y NO, y de hecho la liberación del bactericida sólo puede mantenerse en concentraciones eficaces durante varios días (142).

Así las cosas, estos dispositivo sólo pueden prevenir las infecciones postquirúrgicas causadas por la contaminación durante el acto quirúrgico. Para la prevención de las infecciones más tardías debidas a bacterias que colonizan la prótesis vía hemática o por extensión directa o continua, estos recubrimientos activos no son eficaces. Más aún, cómo fabricar un recubrimiento que libere bactericida en cantidad suficiente y de un modo controlado a lo largo de la vida útil del implante es todavía una cuestión problemática. El desarrollo de recubrimientos que liberen agentes bactericidas sólo cuando suceda la invasión bacteriana puede ser una línea de investigación futura.



Justificación del trabajo

Hipótesis y Objetivos

Justificación del trabajo

Las medidas de frecuencia de enfermedad constituyen valiosas herramientas para definir la importancia de una patología y planificar el diseño de estudios que aborden el problema. La prevalencia se define como el número total de casos entre el total de la población, es un dato básico en la medida de una enfermedad y además condiciona los valores predictivos de los test diagnósticos, los cuales afectan a la eficacia de una prueba diagnóstica. Existen numerosos estudios que aportan datos acerca de la enfermedad periimplantaria. Sin embargo estos datos difieren enormemente de unos estudios a otros. Esto se debe en parte, a que el objetivo principal de muchos estudios es identificar las distintas causas de fracaso y las complicaciones en implantología, y sólo de manera tangencial aportan datos sobre la enfermedad periimplantaria; de este modo adolecen de un diseño adecuado para medir objetivos planteados de modo terciario en el estudio. Además en odontología abundan los trabajos científicos con tamaños muestrales pequeños, y los estudios que superan los requisitos planteados en las revisiones sistemáticas presentan métodos y materiales que no están al alcance del odontólogo clínico.

Así las cosas, en febrero de 2008 se plantea en la Sociedad Española de Implantología (SEI) la necesidad de realizar un estudio que evalúe específicamente la enfermedad periimplantaria, con las herramientas disponibles en la práctica clínica diaria y desde una perspectiva epidemiológica. Y es la propia SEI quien en su labor científica asume el reto y cataliza el esfuerzo investigador de sus socios, de modo que se organiza un grupo de trabajo en enfermedad periimplantaria. Supuso un enorme estímulo que en septiembre, y con la fase de recogida de datos a punto de comenzar, el sexto “European Workshop On Periodontology” (6 EWP, 2008) señalara entre sus conclusiones los siguientes puntos:

- ❖ Con el fin de proporcionar suficiente información sobre la prevalencia de la enfermedad periimplantaria, se recomienda un enfoque epidemiológico.
- ❖ Utilizando un diseño transversal y una muestra de estudio con un tamaño adecuado, y recogiendo datos clínicos y radiológicos.
- ❖ Idealmente, el estudio debe realizarse en clínicas dentales privadas o públicas, en lugar de clínicas universitarias y, por tanto, proporcionar

información sobre la “eficacia” en lugar de la “eficiencia” en la terapia de implantes.

Por otro lado, las soluciones actuales son limitadas y no pueden prevenir completamente la enfermedad periimplantaria. Una nueva aproximación a las infecciones de los dispositivos biomédicos se basa en el estudio de los materiales con propiedades biocidas. En esta tesis se presentan estudios que pretenden desarrollar recubrimientos de vidrio con efecto biocida que inhiben la formación de biofilm, y también la tecnología que permite su fabricación. Estos recubrimientos se aplican en materiales existentes así como en nuevas cerámicas en desarrollo.

La plata, como agente biocida inespecífico, es capaz de actuar de modo muy eficaz frente a un amplio espectro de especies bacterianas y fúngicas, incluyendo cepas con resistencias antibióticas. Se cree que las nanopartículas de plata son más activas que el propio metal en su forma metálica bruta debido al mayor número de sitios activos que resultan del aumento de superficie activa, que es inversamente proporcional al tamaño de la partícula. Este hecho facilita su aplicación en biomedicina.

Este trabajo también explora la viabilidad de usar un vidrio, combinado con nanopartículas de plata distribuidas de manera uniforme, como un nuevo recubrimiento biocida sobre implantes de titanio. Este recubrimiento de vidrio y plata se compone de una matriz de vidrio soda-lima en la que se introducen nanopartículas de plata en tres concentraciones: 2.6, 10, y 20% del peso. Los experimentos se diseñaron para evaluar la actividad biocida de estos recubrimientos, determinar sus propiedades mecánicas (adhesión al Ti6Al4V), y optimizar la composición del vidrio-plata.

Hipótesis y objetivos

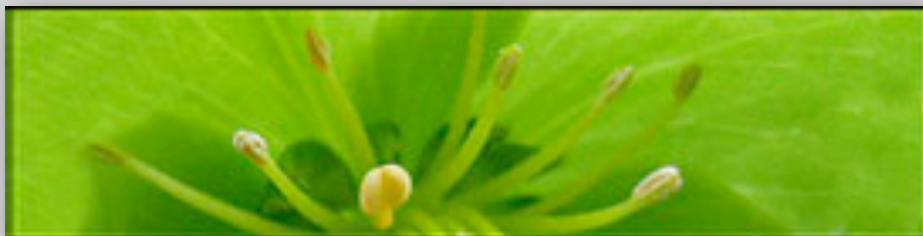
En tanto en cuanto los parámetros clínicos empleados para el diagnóstico de la enfermedad periodontal son los mismos que en la enfermedad periimplantaria, y considerando que los periodontopatógenos aislados son los mismos en ambas enfermedades, cabe suponer que ambas enfermedades puedan también compartir factores de riesgo y que incluso se trate de la misma enfermedad pero manifestada en el implante en vez de en el diente. Si así fueran las cosas, la existencia de enfermedad periodontal estaría relacionada con el riesgo de desarrollar enfermedad periimplantaria, al compartir factores de riesgo, etiología y patogenia; y determinados parámetros periodontales podrían estar asociados estadísticamente y predecir el riesgo de enfermedad periimplantaria.

El desarrollo emergente de materiales biocidas nos permitiría abordar el problema de las infecciones de los dispositivos médicos mediante una estrategia innovadora. Evaluar su biocompatibilidad y su eficacia biocida, tanto in vitro como en modelos animales, debe constituir la antesala de su implementación en la clínica diaria.

Los objetivos planteados en el presente estudios son:

- 1.a. Evaluar la salud periimplantaria después de 4-5 años tras la inserción de los implantes.
- 1.b. Explorar si existe alguna relación entre la salud periimplantaria y la situación y/o evolución periodontal del paciente.
- 1.c. Explorar qué factores de riesgo se asocian a la enfermedad periimplantaria.
- 1.d. Estudiar la distribución de los fracasos implantarios y su posible asociación a algún factor de riesgo.
- 1.e. Determinar los parámetros clínicos que más se relacionan con la periimplantitis.
- 1.f. Estimar la prevalencia/incidencia de enfermedad periimplantaria a los 4-5 años de inserción de los implantes.
2. Evaluar radiológicamente la pérdida de hueso en implantes con pilares recubiertos de vidrio biocida (estudio experimental en perros).
3. Exponer un método viable para combinar un vidrio biocida con nanopartícula de plata con una aleación de titanio y evaluar su actividad biocida.

4. Evaluar el efecto de un vidrio biocida con nanopartícula de plata sobre la viabilidad de un biofilm de *Streptococcus oralis* in vitro.



Material y Métodos

Estudio clínico retrospectivo

En febrero de 2008 se propuso a la Sociedad Española de Implantología (SEI) el desarrollo de un estudio epidemiológico sobre periimplantitis. La SEI asumió el reto con entusiasmo y se organizó un grupo de trabajo en periimplantitis cuya constitución se recoge en “Resultados”, del cual fui nombrado coordinador. Se consideró importante que los datos se recabasen en distintos centros de España de modo que la muestra fuese lo más representativa posible, y que la mayoría de los participantes en el estudio realizasen una labor asistencial privada, incluyendo tan sólo un centro participante con actividad docente universitaria, de modo que la muestra de los centros participantes fuese coherente con la asistencia dental en nuestro país.

Se mantuvieron varias reuniones con distintos participantes en el estudio para consensuar una hoja de recogida de datos (Anexo 1). Esta hoja de recogida incluye datos referentes al momento de colocación del implante (2004) recogidos en la historia clínica, y datos recabados en la visita programada del estudio para la valoración del estado de salud a los 4-5 años. La hoja de recogida de datos incluye aspectos demográficos del paciente, condiciones generales de salud y presencia/ausencia de alteraciones sistémicas que puedan afectar a la salud periimplantaria, la presencia de hábitos (bruxismo, tabaquismo, consumo de alcohol), y se incluyó la anotación de si el paciente acude a las visitas de revisión programadas o no. Por supuesto también se consensuaron los parámetros que se recogerían a la hora de evaluar la salud periodontal y periimplantaria de los pacientes. Existía el deseo de incluir muchos otros aspectos en la hoja de recogida de datos, pero para hacer viable el estudio se limitó a aquellos datos que se consideraban imprescindibles, dejando el resto para futuros estudios.

También se configuró una hoja de control de participantes para el investigador. Esta hoja recaba la fecha de colocación del implante, el número de historia clínica del paciente según el registro del centro investigador, el nombre del paciente, la fecha de la llamada telefónica y si el paciente acude o no a revisiones. Se obligó a registrar a todos los pacientes telefoneados para que quedase constancia del número de pacientes a los que se intentó contactar sin éxito y comprobar que estos datos eran congruentes entre todos los investigadores, de modo que el supervisor del estudio pudiese evaluar de algún modo el esfuerzo realizado en la localización de los pacientes.

Una vez que toda la documentación de los investigadores estaba elaborada, se mantuvo una reunión con todos los responsables de los centros participantes en el estudio para explicar cada aspecto de las hojas de recogida de datos elaboradas y unificar los criterios de actuación.

Con la intención de disminuir sesgos en la selección de los pacientes, en cada centro se seleccionó al primer paciente de cada mes (excepto agosto) rehabilitado con implantes. A los pacientes seleccionados se les llamó por teléfono solicitando que acudiesen a la consulta para una revisión gratuita que incluía pruebas radiológicas. Si el primer paciente no era localizable se recurría al segundo paciente que recibió tratamiento implantológico en ese mismo mes. Se presentó la particularidad de que dos de los doctores participantes en el estudio desarrollan su labor en el mismo centro asistencial, por lo que en este caso se asignó a uno de estos doctores un método de selección de pacientes inverso al establecido e igualmente aleatorio, el cual consistió en seleccionar al último paciente implantado de cada mes y en caso de no localizarlo seleccionar al paciente inmediatamente anterior.

Para valorar la situación periodontal del paciente en 2004, debido a que no todos los pacientes disponen de un periodontograma previo a la inserción de los implantes, se utilizó un método basado en la radiografía panorámica. Este método consiste en medir a nivel mesial y distal de todos los dientes presentes la distancia que hay desde la línea amelocementaria (LAC) hasta la posición más coronal del hueso de soporte, esta distancia se mide en milímetros y se calcula empleando una regla de acetato transparente y con el grado de magnificación que presente la ortopantomografía. Se define la posición más coronal del hueso de soporte como aquella en la que el ligamento periodontal conserva su anchura normal. Cuando la LAC se encuentra enmascarada por la presencia de una corona, su posición se estima mediante una línea que una las LAC de los dientes adyacentes. Todas las medidas son realizadas por el mismo examinador. De este modo se selecciona una pieza por cuadrante, la pieza que presenta una mayor pérdida de hueso y en la que se registrarán los parámetros periodontales en la visita de valoración y recogida de datos para el estudio en 2009.

Los datos que se recogieron de los dientes seleccionados por cuadrante y de los implantes colocados en 2004 consistieron en: índice de placa modificado de Mombelli; profundidad de bolsa, movilidad, sangrado al sondaje (índice de sangrado modificado), dolor y supuración. Para el registro de estos datos se empleó la sonda que habitualmente utiliza cada profesional, puesto que uno de los objetivos es recabar datos en condiciones clínicas reales. En 9 de los 11 investigadores se emplea una sonda manual, de modo que tan sólo en dos centros se utilizó una sonda calibrada a una fuerza de 0,25N. En todos los casos se realizó un sondaje a seis puntos: vestíbulo-mesial; vestibular; disto-vestibular; mesio-lingual, lingual y disto-lingual.

En el caso de los implantes se recogieron también datos relativos a su posición, características del implante (marca y modelo, diámetro, longitud) y si fue necesario el empleo de técnicas regenerativas en el momento de la inserción del implante. El nivel de hueso crestal distal y mesial en cada implante se determinó mediante la realización de una radiografía periapical con la técnica de cono largo y el uso de paralelizadores. De este modo se determinó a nivel mesial y distal la distancia entre la plataforma del implante (conexión implante-pilar) y el hueso marginal en contacto con el implante, tanto en 2004 (radiografía de comprobación de ajuste de prótesis) como en la visita de control de 2009. La diferencia entre la distancia plataforma-hueso de 2009 y 2004, tanto a nivel mesial como distal, constituye la pérdida de hueso implantaria mesial y distal que experimenta cada implante en esos 5 años. También se registró si el paciente acudía a las revisiones programadas o si por el contrario no había seguido control alguno durante los 5 años de evolución del tratamiento.

También se registró el tipo de rehabilitación protésica que soportaban los implantes, así como el tipo de muñón con el que se confeccionó la prótesis y el tipo de retención protésica empleado. Así mismo se dejó constancia en la hoja de recogida de datos de la necesidad de recabar el empleo de técnicas regenerativas durante la colocación de los implantes, o si estos se realizaron de modo inmediato a la extracción, de manera que se pudiese estudiar si estos factores se relacionan de algún modo con la salud a largo plazo de los implantes.

Las hojas de recogida de datos se enviaron por correo al centro de procesamiento de datos, al que se le enmascaró el centro de procedencia de los datos mediante un código asignado a cada centro. Los datos se introducen en una base de datos de entrada doble mediante el SPSS v.14 (SPSS Inc., Chicago, Il., USA). La

comparación entre las variables cuantitativas se realizó mediante el t-test o el test ANOVA, empleándose el test de Tuckey para la comparación de ambos grupos. Las correlaciones entre las variables cuantitativas se calcularon mediante el test de correlación de Spearman (no paramétrico). Las variables cualitativas se compararon mediante el test de la Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher en su caso. El análisis de multivariantes se realizó mediante múltiples líneas de regresión que expliquen la pérdida de hueso como variable cuantitativa tanto en implantes ($\leq 1\text{mm}$; $>1- <2\text{mm}$ y $\geq 2\text{mm}$) como en dientes ($<3\text{mm}$, $3-5\text{mm}$ y $>5\text{mm}$); y el índice de placa (categorizado como no placa, placa presente al sondaje, y placa visible) en relación a la profundidad de sondaje como variable dependiente. Se realizó un análisis independiente para cada una de las seis medidas, tanto en dientes como en implantes. Con objeto de evitar falsas asociaciones debido a las múltiples comparaciones que se establecen, se consideró como significativa una $p < 0,01$.

Estudio experimental in vivo

Cinco perros “beagle” se usaron en el experimento, a cada uno de los cuales se les extrajeron los premolares y primer molar mandibulares para posteriormente insertar tres implantes en cada hemiarcada mandibular hasta sumar un total de 30 implantes. Tras el periodo de oseointegración se conectaron a los implantes pilares de titanio recubiertos con vidrio biocida con nanopartícula de plata. Se mantuvo un programa de higiene bucal para garantizar la correcta cicatrización gingival y seguidamente a este periodo se insertaron ligaduras de algodón a nivel submarginal y se sometió a los animales a una dieta formadora de placa con el objetivo de inducirles enfermedad. Tras 15 semanas de inducción de enfermedad los animales fueron sacrificados.

La fabricación y caracterización del vidrio con nanopartícula de plata empleado como recubrimiento de los pilares de titanio se realizó según el método descrito en nuestro artículo de Esteban-Tejeda (164).

Todos los procedimientos del estudio fueron aprobados por el Comité Etico de Bienestar Animal del Centro de Cirugía Mínimamente Invasiva Jesús Usón, Cáceres (España). El diagrama del estudio se presenta en la **figura 21**. La presencia de veterinarios durante todos los procedimientos era obligatoria.

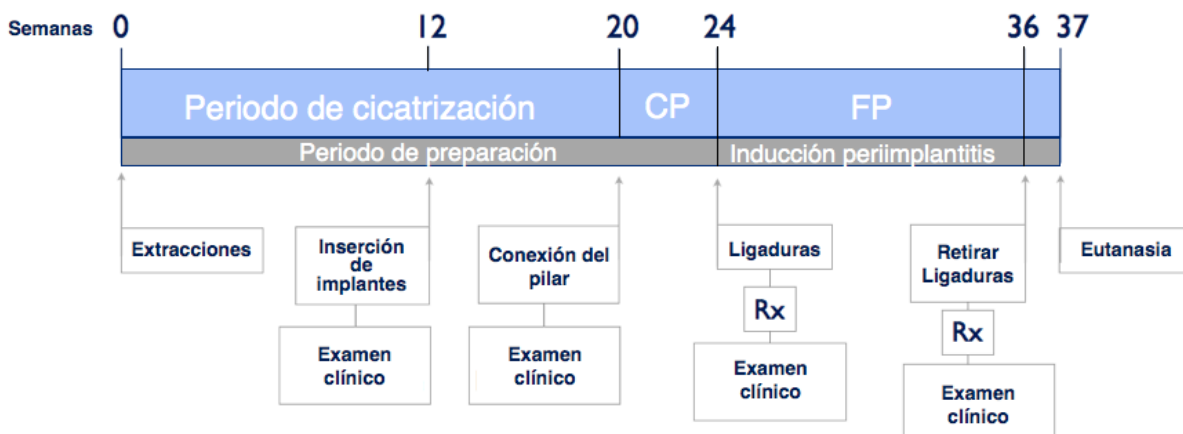


Figura 21. Diagrama del estudio. (CP- Control de placa; FP - Formación de placa).

La ligaduras se colocaron alrededor del cuello de los implantes en una posición submarginal según la técnica descrita por Ericson (148) y Lindhe (149). Una vez finalizado el programa de control de placa se permitió que la placa se acumulara durante el transcurso de los siguientes tres meses.

Se obtuvieron radiografías digitales de todos los implantes tanto al principio como al final del periodo de inducción experimental de la periimplantitis. Se utilizó un paralelizador que permitiese reproducir con exactitud las radiografías de manera fácil y precisa, de tal modo que las mediciones pudieran ser comparadas con fiabilidad.

Cuando se procedió a la eutanasia de los animales las muestras mandibulares se embebieron en metil-metacrilato y fueron teñidas con una combinación de fucsina básica y azul de toluidina. Se realizaron cortes transversos perpendiculares a los bloques mandibulares de un grosor de 15 μ m para su estudio histológico por el Dr. Malpartida (Universidad de Santiago de Compostela). Las muestras se examinaron con un microscopio de luz (Optiphot, Nikon, Japan) equipado con cámara digital (DP-12, Olympus, Japan).

En el análisis estadístico se calcularon las medias de todas las variables tanto a nivel mesial como distal de cada implante. Las comparaciones se hicieron entre valores absolutos (pérdida de hueso inicial y final) y relativos ($(\text{inicial-final})/\text{inicial}$). Las diferencias se analizaron mediante test no paramétricos (Mann-Whitney). La hipótesis nula fue rechazada con una $p \leq 0.05$.

Estudio experimental in vitro: Efectos antimicrobianos de una aleación de titanio recubierta de vidrio biocida con nanopartícula de plata

Se partió de un vidrio comercial de soda lima del sistema $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-K}_2\text{O-CaO-MgO-B}_2\text{O}_3$ con la siguiente composición química (wt%): 72.79 SiO_2 , 15.8 Na_2O , 7.10 CaO , 3.20 MgO 1.06, B_2O_3 y 0.05 K_2O con un punto de deformación $\sim 668^\circ\text{C}$ y (ii) vitellinate/nAg (ARGENOL S.A. Batch n° 127).

Para evaluar el modo en que la nanopartícula de plata afecta a la humectabilidad del la gota de vidrio, vidrios sin plata pero con óxido de sodio a concentraciones iguales a las correspondientes a las matrices de vidrio con plata se prepararon como se describe en nuestro artículo de Esteban-Tejada et al (164).

Los recubrimientos consisten en polvo de vidrio que contiene nanopartícula de plata en diferentes cantidades (2.6, 10, 20 wt.%), para la fabricación de los recubrimientos se sigue el procedimiento descrito en nuestro artículo de Esteban-Tejada et al (164).

Los efectos antimicrobianos de los recubrimientos fueron evaluados frente a tres microorganismos: *Escherichia coli* JM110 (bacteria Gram-negativa); *Micrococcus luteus* (bacteria Gram-positiva) y *Issatchenkia orientalis* (hongo) como se describe en nuestro artículo de Esteban-Tejada et al (164).

Estudio experimental in vitro: Efecto inhibitorio de un vidrio sola-lima con nanopartícula de plata sobre la formación de biofilm de *Streptococcus oralis*.

Para una descripción detallada del procedimiento seguido para fabricar los recubrimientos sobre aleación de titanio y también sus propiedades físicas remito al lector a nuestro estudio experimental in vitro previo.

La morfología del recubrimiento de vidrio con nanopartícula de plata decantado sobre un disco de aleación de titanio se estudió antes y después de inducir la formación de biofilm mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (Hitachi S-4300).

Para determinar la rugosidad de la superficie las muestras fueron analizadas con un perfilómetro (Talysurf CLI 500, Tylor Hobson, Leicester, UK) que topografía de manera tridimensional la superficie mediante un puntero en contacto con la muestra, con una precisión de $0.01\ \mu\text{m}$ y una velocidad de lectura de 0.1mm/s . Para el estudio se utilizaron tres cepas bacterianas de *Streptococcus oralis*, la cepa ATCC 35037 se utilizó como control, y dos cepas aisladas clínicamente (CI-1 y CI-2) de una colección de patógenos periodontales (Departamento Microbiología I. Facultad de Medicina. UCM).

Las colonias de *S. oralis* se cultivaron durante la noche en una placa agar de Columbia (Difco). Todos los discos de titanio, tanto los que tienen recubrimiento como los controles de titanio pulido por mecanizado, se situaron en placas de cultivo a las que se les introdujo un inóculo de $100\ \mu\text{l}$ en suspensión en $900\ \mu\text{l}$ (dilución al 1:10) de THY-glucosa. Las placas se incubaron a 37°C en presencia de CO_2 al 5% durante 24 horas en una cámara húmeda.

Para cuantificar la formación de biofilm se utilizaron dos métodos: (i) tinción en cristal de violeta al 1% (Química Clínica Aplicada, Tarragona, España) para medir la absorbancia mediante un espectrofotómetro a una densidad óptica de 570nm ; (ii) cuantificación de las colonias viables obtenidas de las bacterias plantónicas y adheridas a los discos de titanio, el límite detectado fue de 2.5×10^2 CFU.

Todos los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el test de la t-Student para muestras no pareadas.

Para cuantificar la cantidad de plata lixiviada por el recubrimiento de vidrio soda-lima con nanopartícula de plata depositado en los discos de titanio se seleccionaron de modo randomizado un total de 5 discos que fueron estudiados durante 7 días. La cantidad de plata lixiviada se determinó mediante plasma inductivo (ICP Perkin Elmer mod. Optima 2100 DV).



Resultados

Estudio clínico retrospectivo

El número total de centros participantes fue de once, diez con práctica asistencial privada y uno con práctica docente universitaria. Los centros participantes en la recogida de datos fueron:

- Clínica del Dr. J.C. Asurmendi (Madrid).
- Clínica del Dr. A. Bowen (Madrid).
- Clínica del Dr. R. Carroquino (Melilla).
- Clínica de la Dra. A. Morales: Investigadora Dra. C. del Val (Madrid).
- Clínica del Dr. I. Corral (Madrid).
- Clínica del Dr. P. Fernández-Palacios (Madrid).
- Clínica del Dr. López Píriz (Madrid).
- Clínica de la Dra. A. Morales: Investigadora Dra. A. Morales (Madrid).
- Clínica de la Universidad Alfonso X: Investigador Dr. J.R. Maestre (Madrid).
- Clínica del Dr. E. Padullés (Barcelona).
- Clínica del Dr. F. Torres (Zaragoza).

En el estudio se incluyeron un total de 117 pacientes, los cuales presentaron una edad media de 56.3 ± 11.8 años y una proporción de varones del 37.6%. El porcentaje de fumadores es del 37.6%, el 17.1% son ex-fumadores y el 26.5% refieren una ingesta media/moderada de alcohol. El 24,9% presentan el hábito del bruxismo, en un 6% de los casos padecen diabetes, y manifiestan antecedentes de enfermedades cardiovasculares el 4.3% de los pacientes. Un total de 64 pacientes (el 54.7%) acudía a las revisiones programadas por su implantólogo.

En 2004, el 84.6% de los pacientes presentaba al menos un diente en todos cuatro cuadrantes, el 1.7% los conservaba en tres de los cuadrantes, el 4.3% en dos cuadrantes, el 0.9% en un cuadrante y el 8.5% eran pacientes completamente edéntulos (**Figura 22**).



Figura 22.
Presencia de dientes en 2004.

Pérdida de dientes durante el periodo del estudio

En las radiografías panorámicas realizadas en 2004 para la planificación del tratamiento implantológico se identificaron 408 dientes como aquellos que presentaban mayor pérdida de hueso por cuadrante: el 30.1% correspondían a segundos molares (posición 7); el 21.6% se ubicaban en la posición 6 (primeros molares), el 13% eran segundos premolares (posición 5); y el 35.3% corresponden a otras posiciones. Existe una correlación significativa entre la pérdida ósea mesial y distal determinada para los dientes en la ortopantomografía, tanto globalmente como por cuadrante ($r^2 \geq 0.73$; $p \leq 0.01$). También existe una correlación significativa entre la pérdida ósea mesial de los dientes en los cuatro cuadrantes ($r^2 \geq 0.63$; $p \leq 0.01$), y en el mismo sentido a nivel distal ($r^2 \geq 0.55$; $p \leq 0.01$). Globalmente, los valores de pérdida ósea distal fueron mayores que los encontrados a nivel mesial de los dientes (3.77 ± 2.04 vs. 3.61 ± 2.07), aunque estas diferencias solo tienden a ser significativas en los cuadrantes superiores ($p=0.003$ en el cuadrante 1, y $p=0.005$ en el cuadrante 2). De los 408 dientes seleccionados en las ortopantomografías de 2004 para el estudio, 73 no estaban presentes en la exploración realizada en 2009, de modo que el 17.9% se perdieron en

los 4-5 años siguientes al tratamiento implantológico. Se encontró una relación estadística entre la pérdida de dientes con menor soporte óseo y la presencia de bruxismo, en tanto en cuanto la mayoría de los pacientes que sufrieron la pérdida dental estaban diagnosticados como bruxópatas (40.5% vs. 17.7%; $p=0.012$). No se encontró relación estadística alguna entre la pérdida dental y ninguna otra característica demográfica o de salud.

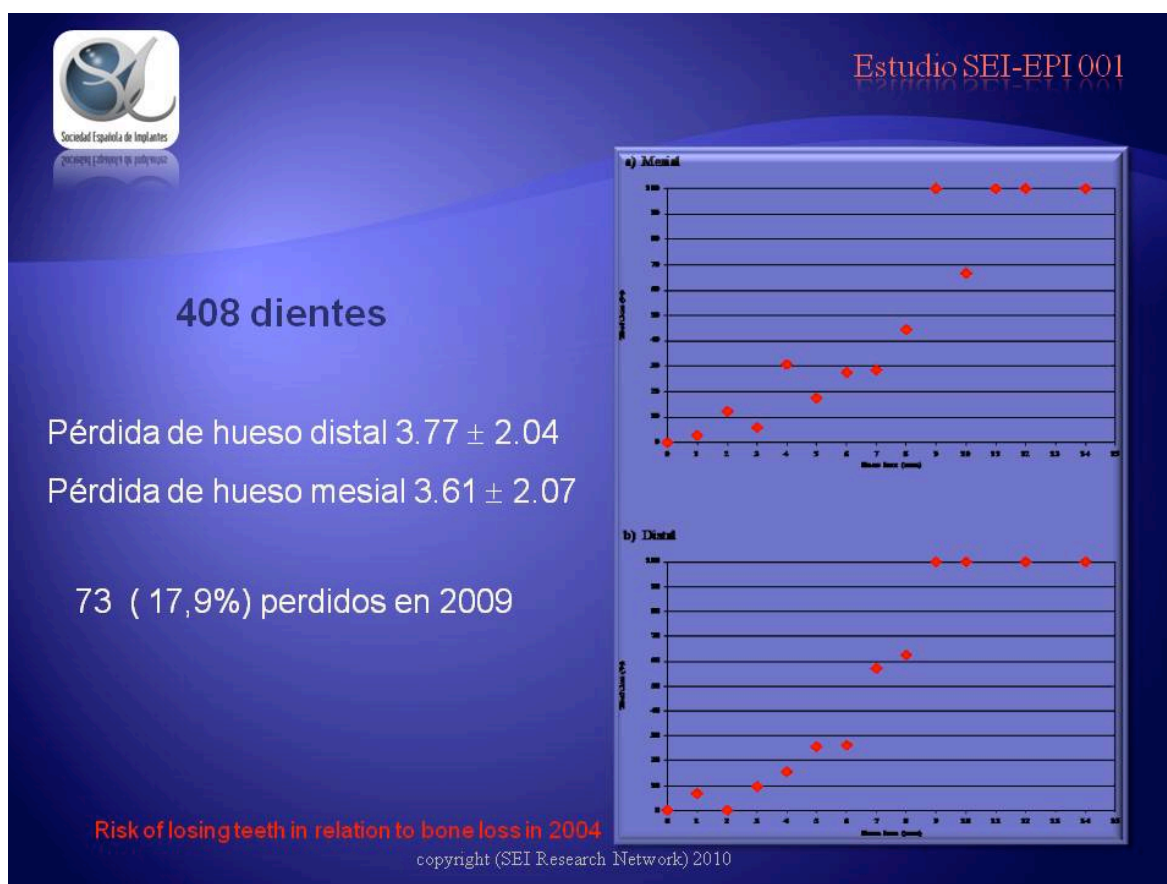


Figura 23. La gráfica representa el riesgo de pérdida dental en función de la pérdida de hueso determinada en 2004.

La **figura 23** muestra el porcentaje de dientes perdidos en relación con la pérdida de hueso mesial y distal que presentaban en la ortopantomografía de 2004. La odds ratio ajustada para la pérdida dental por cada milímetro de hueso perdido en la panorámica es de 1.77 (95% CI = 1.5-2.08) para la vertiente distal, y de 1.56 (95% CI = 1.3-1.79) para la pérdida ósea mesial. Como puede apreciarse en la figura, el riesgo de perder el diente es mayor del 50% cuando la pérdida ósea distal es ≥ 7 mm. Se encontró

una correlación estadísticamente significativa ($r^2 \geq 0.47$; $p \leq 0.001$) entre la pérdida dental y la pérdida de hueso determinada en la panorámica en el caso de los dientes presentes en los cuadrantes superiores y siempre que se consideren los valores de pérdida ósea de la vertiente distal ($r^2 = 0.50$; $p \leq 0.001$ en el cuadrante 1; y $r^2 = 0.48$; $p \leq 0.001$ en el cuadrante 2). Las correlaciones halladas fueron menores cuando se consideraron los cuadrantes inferiores o los valores de pérdida ósea a nivel mesial ($r^2 = 0.25-0.42$), aunque también resultaron significativas desde un punto de vista estadístico ($p \leq 0.008$).

Pérdida de implantes durante el periodo del estudio.

Durante 2004, en los 117 incluidos en el estudio se colocaron un total de 295 implantes (**Figura 24**). Al 36.8% de los pacientes se les instaló un solo implante, al 24.8% se les colocaron dos implantes, el 12.8% tenían tres, al 13.7% se les pusieron cuatro, al 4.3% cinco, y al 7.7% se les puso al menos seis implantes. De los 295 implantes colocados, el 30.5% ocuparon posiciones en el cuadrante primero (Q1), 24.7% en el cuadrante 2 (Q2), 19.7% en el cuadrante 3 (Q3), y el 25.1% en el cuadrante 4 (Q4). Los implantes se insertaron con mayor frecuencia en las posiciones 5 y 6 (segundo premolar y primer molar), de modo que estas posiciones se ubicaron el 45.1% de todos los implantes. Un total de 31 implantes de los 295 colocados en 2004, esto es el 10.5%, fueron implantes inmediatos postextracción. Fueron necesarias técnicas de regeneración en el 17.3% de los casos (51 de los 295 implantes). Los pacientes fueron rehabilitados con una prótesis de arcada completa en el 27.4% de los casos, y se optó por rehabilitaciones fijas en el 90.4% de los implantes. El sistema de retención de la prótesis fue por fricción en el 9.9% de los implantes, cementada en el 32.5 de los implantes y atornillada en el 57.5% de los implantes. En la confección de las prótesis se emplearon pilares calcinables en el 43.2% de los implantes, pilares mecanizados e titanio en el 35% de los implantes, y pilares mecanizados para sobrecolado en el 21.8% de los implantes (**Figura 25**).

Figura 24. Distribución de los implantes en la muestra.



Figura 25. Distribución de los tipos de prótesis y muñones en la muestra.



En la revisión de 2009, 8 de 117 pacientes (6.8%) habían sufrido alguna explantación: cuatro pacientes perdieron un implante, tres pacientes perdieron dos implantes, y un paciente perdió tres implantes (**Figura 26**). Las trece explantaciones representan el 34.2% de los 38 implantes colocados en estos ocho pacientes durante 2004. Todos los pacientes que perdieron algún implante habían recibido tratamiento consistente en la inserción de entre tres y seis implantes. Tomando como elemento de referencia al paciente, existió una tendencia significativa a un mayor porcentaje de pérdida

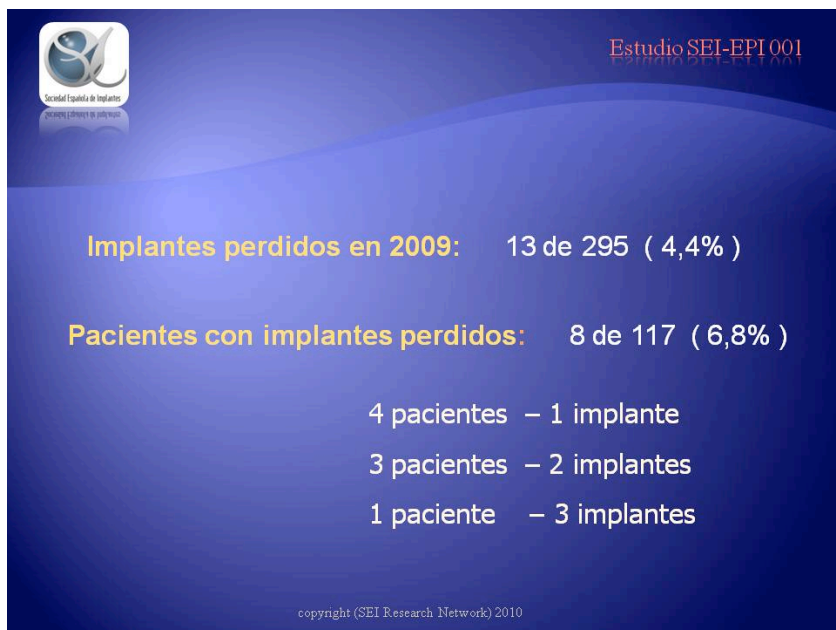


Figura 26. Distribución de los implantes perdidos entre 2004 y 2009.

implantaria en los pacientes que fueron sometidos a la colocación de varios implantes (8 de los 74 pacientes) frente a los pacientes en los que se les insertó un solo implante (ninguno de los 43 pacientes experimentó pérdida implantaria): 10.8% vs. 0% ($p=0.026$). Esta tendencia no se mantiene con significación estadística ($p=0.600$) cuando se toma como unidad de estudio al implante: cero explantaciones en los 43 pacientes a los que solo se puso un implante, frente al 5.15% (13 implantes de 252) que es el porcentaje de fracasos implantarios en los pacientes con más de un implante instalado en 2004.

De los trece implantes fracasados (el 4,4% de los 295 implantes colocados en 2004), las posiciones 5 y 6 fueron las más frecuentemente afectadas, el 24.5% de los fracasos interesan a la posición 6 y el 19.9% a la posición 5. El 8.2% de los implantes perdidos se ubican en Q2, el 6.3% en Q3, el 2.7% en Q4 y el 1.1% en Q1.

Relación entre dientes y pérdida de implantes

Si consideramos sólo los cuadrantes edéntulos en 2004, el porcentaje de fracasos implantarios es de 1.4% (1 implante de 73 que se colocaron en cuadrantes sin dientes). Este porcentaje de pérdida implantaria aumenta hasta un 3.6% (6 implantes de 168) cuando consideramos exclusivamente los cuadrantes con dientes en 2004

pero sin pérdida de dientes durante estos 5 años de evolución. El porcentaje de pérdida implantaria mantiene esta tendencia al alza y alcanza el 11.1% (6 implantes de 54) cuando consideramos los cuadrantes con dientes en 2004 pero que experimentan pérdida de dientes durante los 5 años de evolución del tratamiento.

Cuando se relaciona la pérdida/mantenimiento del implante en boca con la pérdida de hueso calculada en la ortopantomografía de 2004 para los dientes presentes en el mismo cuadrante que los implantes, no se encuentran diferencias entre la pérdida ósea media de los dientes presentes en cuadrantes con fracaso implantario y la pérdida ósea media de los dientes situados en cuadrantes sin pérdida de implantes: 3.4 ± 1.7 mm vs. 3.9 ± 2.4 mm ($p=0.49$) para los valores mesiales y 3.6 ± 1.9 mm vs. 3.9 ± 2.4 mm ($p=0.61$) para los valores distales.

Salud periodontal de los dientes en 2009

En los 335 dientes incluidos en el estudio (los seleccionados por cuadrante al ser identificados en la ortopantomografía de 2004 como los de mayor pérdida de hueso y que aún permanecen en boca en la exploración de 2009) la profundidad de sondaje media fue: 3.4 ± 1.7 mm a nivel mesiovestibular; 2.8 ± 1.6 mm a nivel vestibular; 3.6 ± 1.7 mm a nivel distovestibular; 3.3 ± 1.6 mm a nivel mesiolingual; 2.8 ± 1.6 mm a nivel lingual; y 3.5 ± 1.6 mm a nivel distolingual, sin que se observen diferencias entre los distintos cuadrantes. Sí existe una correlación significativa estadística entre los valores de profundidad de sondaje medidos en los seis puntos ($r^2 \geq 0.71$; $p \leq 0.001$). Se identificó la presencia de placa visible en el 35.3% de los dientes (85 de 335), con un nivel significativamente menor de placa visible en los cuadrantes superiores que en los inferiores (19.3% vs. 32.4%; $p=0.006$). Se encontró movilidad en el 24.8% de los dientes, sangrado al sondaje en el 59.7% y supuración en el 2.7%.

La tabla 1 del Anexo 3 muestra las variables clínicas de los dientes presentes en 2009 distribuidas según el índice de placa. Los dientes con placa presentan mayor pérdida de hueso distal y mesial (con una significación estadística de $p < 0.001$) en la ortopantomografía de 2004 y mayor profundidad de sondaje en la exploración de 2009 en los 6 sitios sondados ($p < 0.001$). La tabla 2 del Anexo 3 muestra las determinaciones clínicas en los dientes seleccionados presentes en boca durante la visita de evaluación realizada en 2009 con motivo del estudio. Estas determinaciones clínicas de la tabla 2

(Anexo 3) se encuentran distribuidas según el nivel de pérdida ósea que presentaban los dientes en su vertiente distal en 2004.

La presencia de placa dental visible fue significativamente ($p < 0.001$) más frecuente en los dientes que presentaban una distancia entre su LAC y el hueso ≥ 5 mm en la ortopantomografía de 2004; este grupo de dientes también presentó de modo significativo ($p < 0.001$) las mayores profundidades de bolsa durante la exploración realizada en 2009. De hecho, los valores medios de profundidad de bolsa encontrados en los dientes con pérdida ósea ≥ 5 mm duplican (en los 6 puntos sondados) a los valores medios determinados en diente que en 2004 presentaban una pérdida ósea < 3 mm. El nivel de pérdida de hueso experimentado por los dientes en 2004 -tanto en su vertiente mesial como distal- muestra una correlación significativa desde un punto de vista estadístico ($r^2 \geq 0.50$; $p < 0.001$) con la profundidad de sondaje que presentaron los dientes en la exploración de 2009, independientemente del punto de sondaje que se considere.

Salud periimplantaria de los implantes presentes en 2009

De los 282 implantes que permanecen en función en 2009 (95.6% de los 295 colocados durante 2004), tan solo se pudo recabar la información clínica relativa a 268 implantes. El valor medio de la *pérdida de hueso periimplantaria* (considerada como la diferencia entre el nivel de hueso presente en la radiografía periapical realizada como control de ajuste de prótesis en 2004, y el nivel de hueso en la radiografía periapical de la visita de control de 2009) es de 0.9 ± 1.1 mm en mesial y 1.0 ± 1.2 en el aspecto distal de los implantes; con unos valores significativamente ($p < 0.001$) menores en las vertientes distales de los cuadrantes derechos (0.8 ± 0.9 mm en Q1 + Q4 vs. 1.2 ± 1.3 mm en Q2 + Q3). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los cuadrantes superiores con los inferiores.

La profundidad de sondaje periimplantario fue de: 2.6 ± 1.5 mm en mesiovestibular; 2.1 ± 1.2 mm en vestibular; 2.6 ± 1.4 mm en disto-vestibular; 2.6 ± 1.4 mm en mesioligual; 2.2 ± 1.3 mm en lingual; y 2.6 ± 1.4 en distolingual. Se encontró una correlación significativa entre los valores medios de profundidad de sondaje periimplantario en todos los puntos medidos ($r^2 \geq 0.68$; $p < 0.001$). Los valores de profundidad de sondaje periimplantario tendieron a presentar valores más altos en en

los cuadrantes derechos que en los izquierdos a nivel mesiovestibular (2.7 ± 1.3 mm vs. 2.3 ± 1.4 mm; $p=0.028$).

El índice de placa modificado de Mombelli (55) obtuvo una puntuación de 2 (placa visible) en el 13.4% de los implantes (36 de 268), con menor porcentaje de implantes clasificados en esta categoría en los cuadrantes derechos que en los izquierdos (9.5% vs. 17.8%; $p=0.04$). El sangrado con el sondaje periimplantario se produjo en el 54.9% de los implantes. La tabla 3 del Anexo 3 muestra los valores de los parámetros clínicos de los implantes distribuidos en función del índice de placa (IPm) que presentaron en la exploración de 2009. Los implantes con placa (puntuación 1 y 2 del IPm) presentan una pérdida de hueso periimplantaria mesial y distal significativamente mayor ($p<0.001$), mayor profundidad de sondaje en cualquiera de los 6 puntos ($p<0.001$), y mayor porcentaje de sangrado al sondaje.

La tabla 4 del anexo 3 presenta los valores de los parámetros clínicos de los implantes distribuidos en función de la pérdida de hueso periimplantario. Solo 15 implantes (5.6%) sufrieron una pérdida de hueso distal ≥ 3 mm. Los implantes que experimentaron una pérdida de hueso de 2 ó ≥ 3 mm presentan un mayor índice de placa ($p<0.001$), mayor frecuencia de sangrado al sondaje y los mayores valores de profundidad de sondaje ($p<0.001$). Existe una correlación débil aunque significativa ($r^2 \geq 0.34$; $p<0.001$) entre la pérdida de hueso periimplantaria (a nivel mesial y distal) y la profundidad de sondaje (sólo con los valores distovestibulares).

No se encontraron diferencias entre la profundidad de sondaje media de los implantes con pérdida de hueso ≤ 1 mm y los implantes con pérdida de hueso $>1- <2$ mm, independientemente del punto de sondaje que se considere. Sí se encontraron diferencias entre los valores medios de profundidad de sondaje de los implantes con pérdida ósea ≤ 1 mm en la vertiente distal y los implantes con pérdida ósea de 2 mm (en los puntos distovestibular, mesiovestibular, lingual y distolingual) o los implantes con ≥ 3 mm de pérdida ósea(en todos los puntos). La profundidad de sondaje de los implantes con 2 mm de pérdida de hueso es estadísticamente distinta de la de los implantes con ≥ 3 mm de pérdida de hueso, esto se cumple en todos los puntos de medición de la profundidad de sondaje salvo en el punto lingual.

Comparaciones entre los parámetros clínicos de dientes e implantes

Los dientes presentaron un índice de placa significativamente mayor que los implantes : agrupando los niveles 1 y 2 del IPm la comparación es del 65.1% vs. 45.9% , $p < 0.001$ (Tablas 1 y 3 del Anexo 3); si solo consideramos la presencia de placa visible (nivel 2 del IPm) la comparación resulta un 25.4% vs. 13.4%; $p < 0.001$. También los dientes presentaron con significación estadística ($p < 0.001$) un nivel mayor de pérdida de hueso (mesial y distal) y profundidad de sondaje (en todos los puntos) que los implantes. Mientras que la profundidad de sondaje (independientemente del punto) fue similar tanto en dientes como en implantes sin placa (nivel 0 del IPm) (tablas 1 y 3 del Anexo 3), la profundidad de sondaje fue significativamente mayor en los dientes con placa visible (nivel 2 del IPm) que en los implantes con esta misma categoría del índice de placa modificado de Mombelli ($p < 0.001$).

Del mismo modo, no se encuentran diferencias entre los valores de la profundidad de sondaje de dientes e implantes cuando se comparan las categorías con menor pérdida de hueso (independientemente del punto de sondaje que se considere) (tablas 2 y 4 del Anexo 3); sin embargo, la profundidad de sondaje es significativamente ($p < 0.001$) mayor en dientes con una pérdida de hueso ≥ 5 mm que en los implantes con un nivel de pérdida ósea de ≥ 2 - < 3 mm, pero no se mantiene esta relación en implantes con pérdida de hueso ≥ 3 mm ($p > 0.06$).

Existe una correlación significativa ($p < 0.001$) entre la profundidad de sondaje de los dientes e implantes situados en un mismo cuadrante: $r^2 = 0.35$ en mesiovestibular, $r^2 = 0.55$ en vestibular; $r^2 = 0.36$ en distovestibular; $r^2 = 0.40$ en mesiolingual; $r^2 = 0.47$ en lingual; y $r^2 = 0.36$ en distolingual.

Análisis multivariante

En los dientes, el análisis multivariante resultó significativo desde un punto de vista estadístico ($p < 0.001$), con una r^2 comprendida entre 0.35 y 0.47 en función de la profundidad de sondaje del punto considerado concretamente. La profundidad de sondaje se correlaciona de un modo significativo con el índice de placa (β de 0.118 a 0.227 -en función del punto de sondaje-; $p < 0.001$) y con la pérdida de hueso (en mm; β entre 0.512 y 0.598 -en función de la vertiente considerada-; $p < 0.001$).

Estudio experimental in vivo

En la **figura 27** se muestra una imagen SEM del corte del pilar con el recubrimiento. Durante el calentamiento a 980°C el vidrio soda-lima con nanopartícula de plata ha mojado la superficie metálica estableciendo una unión sólida con el pilar de titanio. El tamaño de las nanopartículas varían entre 20-90 nm aunque se aprecian también algunos aglomerados (0.5-8 μm). El grosor del recubrimiento fue de $\approx 30 \mu\text{m}$. Algunos defectos y despegamientos son apreciables.

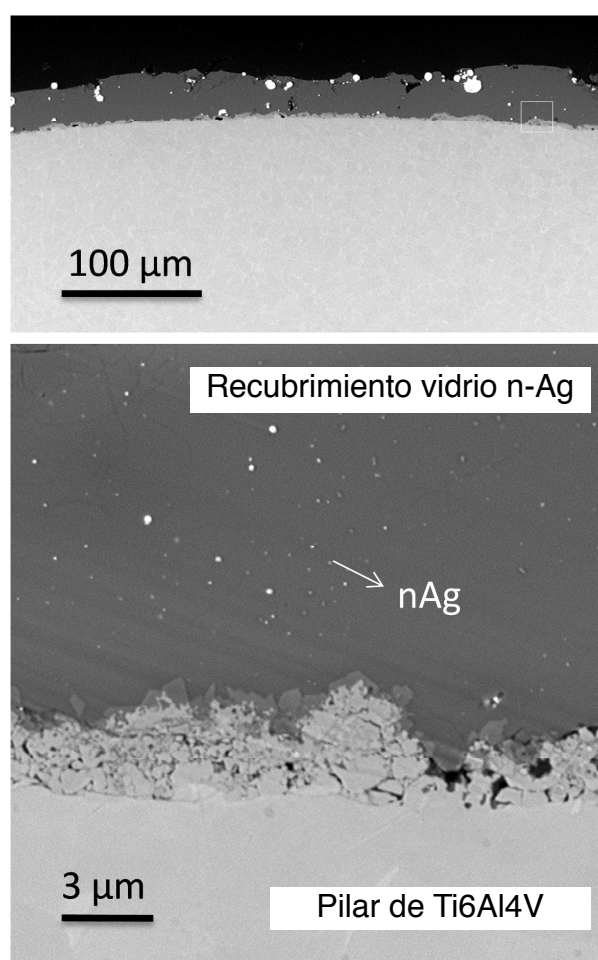


Figura 27. Imágenes SEM del pilar con recubrimiento biocida.

Al realizar la segunda fase quirúrgica se evidenció que uno de los implantes destinado a soportar un pilar con recubrimiento no se había oseointegrado (perro

microchip 794). Por lo tanto un total del 29 implantes se oseointegraron adecuadamente. Los exámenes clínicos realizados en las primeras semanas del periodo de inducción experimental de la periimplantitis revelaron la existencia de una importante inflamación gingival alrededor de los pilares con recubrimiento de vidrio soda-lima con nanopartícula de plata. Estas observaciones fueron cambiando progresivamente con el tiempo hasta el punto de que al final del experimento la situación era exactamente la contraria, los implantes control presentaban una importante inflamación periimplantaria mientras que en los pilares con recubrimiento tan sólo se apreciaba un leve cambio de coloración en la encía marginal. Abundante placa se depositó en los pilares de titanio liso pulido mientras que en los pilares con recubrimiento la placa se limitaba prácticamente a la ligadura, a pesar de la rugosidad marcada del recubrimiento (**Figura 28**).

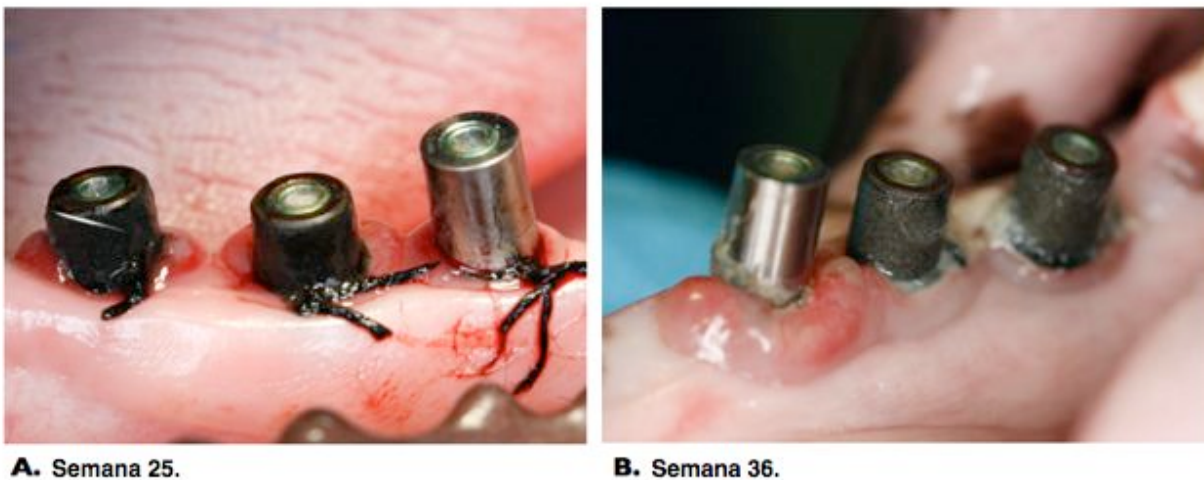


Figura 28. Imágenes clínicas de los implantes en los perros.

La pérdida media de hueso que aconteció durante el periodo preparatorio (inserción del implante - colocación de la ligadura) fue de $1.03 \text{ mm} \pm 0.388$ en la vertiente distal y de 1.08 ± 0.416 en la vertiente mesial de los implantes con recubrimiento; y 0.781 ± 0.343 a nivel distal y 0.815 ± 0.347 a nivel mesial de los implantes control (**Tabla 1**). No existen diferencias significativas en la pérdida de hueso que experimentaron los implantes durante el periodo preparatorio inicial ($p = 0.062$ para distal y $p = 0.085$ para mesial, Mann-Whitney).

	Implante*	N	Media	DS	Mann-Whitney
Inicio distal	1	19	1,0374	,38824	0,062
	0	10	,7810	,34301	
Inicio mesial	1	19	1,0868	,41696	0,085
	0	10	,8150	,37456	
Cambio distal	1	19	-,90158	,509327	<0,001
	0	10	-1,92400	,777435	
Cambio mesial	1	19	-1,13000	,563462	0,045
	0	10	-1,82300	,894738	
Reducción distal	1	19	-1,32531	1,558999	0,006
	0	10	-3,47447	3,077830	
Reducción mesial	1	19	-2,04426	3,723847	0,031
	0	10	-3,73327	4,545198	

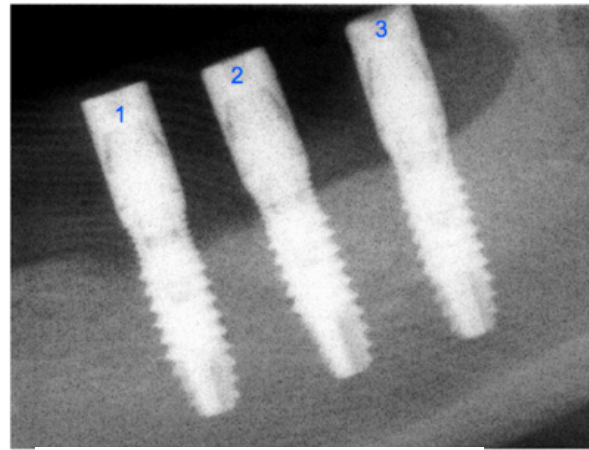
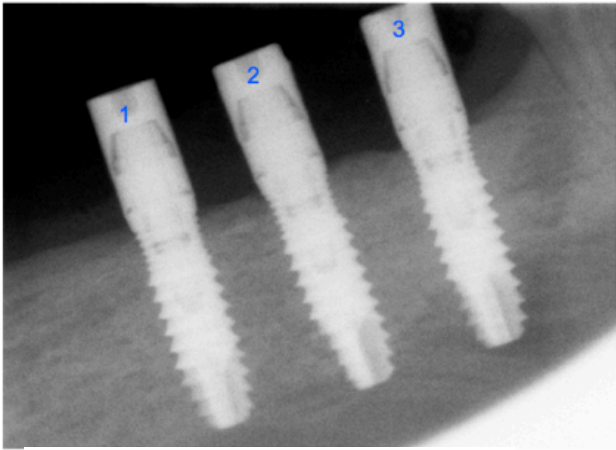
Implante: 1= caso; 0=control.

Variable cambio(distal o mesial)= Valor medio inicial-valor medio final.

Variable reducción(distal o mesial)= (valor medio inicial-valor medio final)/valor medio inicial.

Tabla 1.

Durante el periodo de inducción de enfermedad (inducción experimental de peri-implantitis mediante ligaduras) sobrevino una pérdida adicional de hueso alrededor de los implantes (**Figura 29**). Esta pérdida adicional de hueso varió considerablemente entre los implantes control y los que tenían recubrimiento con vidrio soda-lima con nanopartícula de plata (Tabla 1). En una escala absoluta, la variable cambio (valor medio inicial - valor medio final) muestra una importante pérdida de hueso adicional en los implantes control a nivel distal ($p < 0.001$) y mesial ($p = 0.45$). Si analizamos la variable relativa ((inicial - final) / inicial) para cuantificar la pérdida de hueso adicional experimentada durante el periodo de inducción de enfermedad se encuentra que el porcentaje de cambio es del 347% a nivel distal y del 373% a nivel mesial. Los implantes con pilares recubiertos de vidrio con nanopartícula de plata experimentaron una pérdida de hueso tres veces menor ($p < 0.006$ para distal; y $p < 0.031$ para mesial) que los controles, como se muestra en la tabla 1.



A. Radiografía inicial (semana 24).

B. Radiografía final (semana 36).

Figura 29. 1 = implante control. 2 y 3 = implantes caso.

La fracción de hueso observada en los cortes histológicos correspondientes a los mismos implantes muestran resultados muy parecidos a los demostrados en las radiografías digitales (**Figura 30**). Un estudio histomorfológico e histométrico completo derivado del análisis de todos los cortes realizados a los implantes se está realizando actualmente.

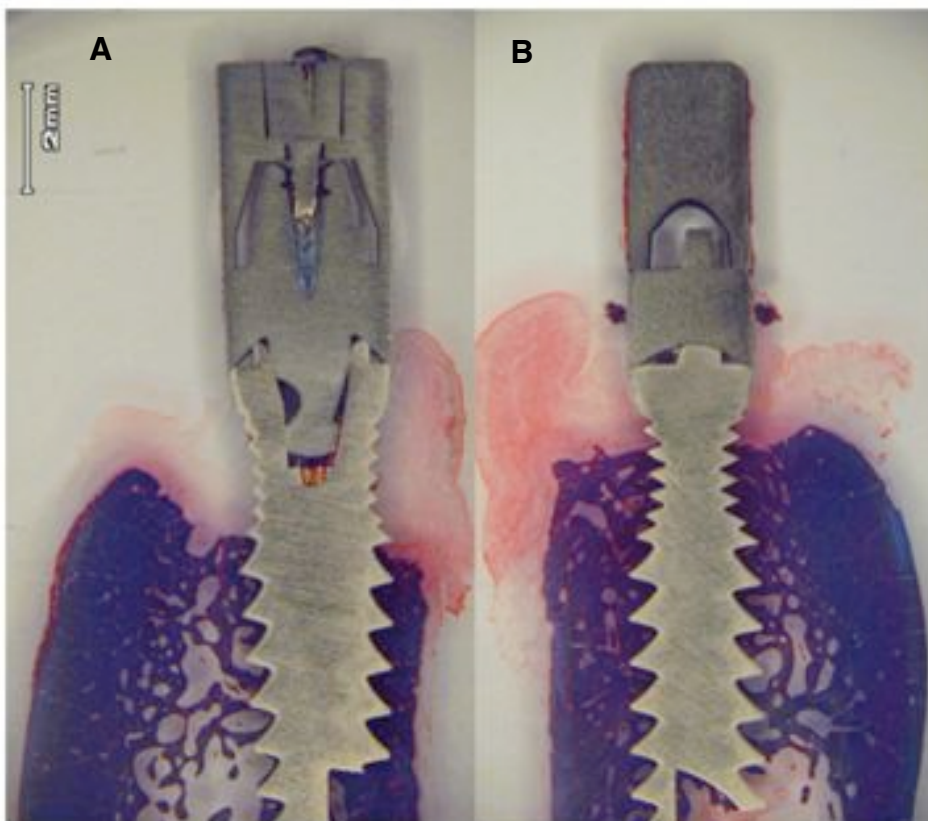


Figura 30. Estudio histológico de implante control (A) y caso con vidrio biocida (B).

Estudio experimental in vitro: Efectos antimicrobianos de una aleación de titanio recubierta de vidrio biocida con nanopartícula de plata

Se obtuvieron nanopartículas de plata de un tamaño que variaba entre los 3 y los 50 nm, las cuales se distribuyen homogéneamente en la matriz de vidrio. Tanto los ángulos de humectabilidad del vidrio con nanopartícula de plata (2.6, 10, y 20 wt.% nAg) sobre los discos de titanio, como los de la matriz vítrea correspondiente, fueron estudiados por el método de la gota sésil (Figura 31).

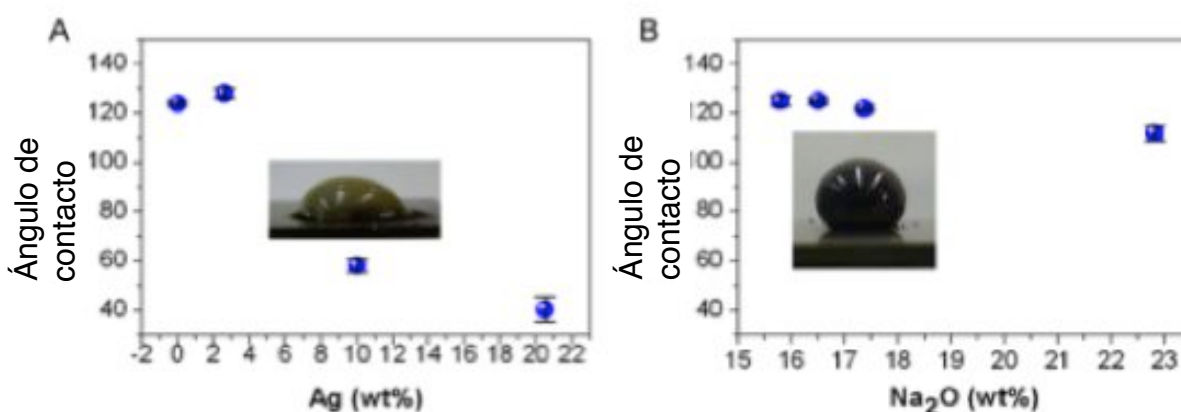


Figura 31. Angulo de contacto según el contenido de (A) plata y (B) óxido de sodio en el vidrio matriz sobre el disco de aleación de titanio a 980 °C durante 1 hora en atmósfera de argón. Las imágenes corresponden a una gota sésil de vidrio n-Ag (10 wt.% nAg) (A), y un vidrio sin plata con una concentración de Na₂O (i.e., 17.5 wt.%) equivalente a la matriz vítrea de la composición anterior.

Para determinar el porcentaje de fase β y la estabilidad mecánica de la aleación de titanio, los discos de titanio se sometieron a diferentes tratamientos térmicos a 980 °C, 1190 °C, y 1215 °C durante una hora en una atmósfera de argón. Después del tratamiento térmico el porcentaje de fase β se determinó mediante difracción de rayos X. La cantidad de fase β en relación a la temperatura del tratamiento térmico se muestra en la figura 32.

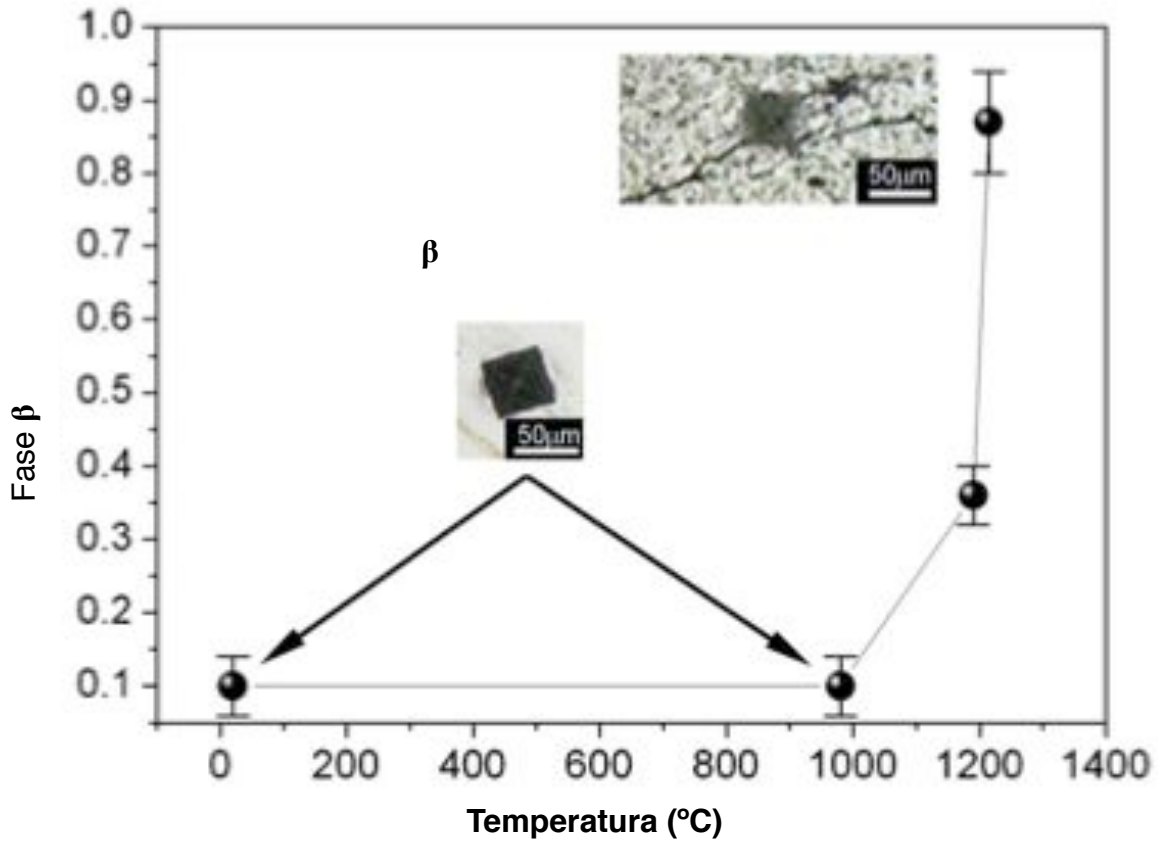


Figura 32. Gráfica de la transformación de fase del titanio en función de la temperatura.

Para evaluar la efectividad del agente biocida se utilizó el logaritmo de reducción ($\log \eta$): $\log \eta = \log A - \log B$, donde A es la media del número de células viables del inóculo control tras 24 horas de incubación, y B es la media del número de células viables de la muestra después de 24 horas. De todos los recubrimientos fabricados, sólo el que contiene un 20 wt.% de nanopartícula de plata fue eficaz frente a los tres microorganismos testados, considerando una reducción logarítmica mayor de 5 equivalente a una completa desinfección.

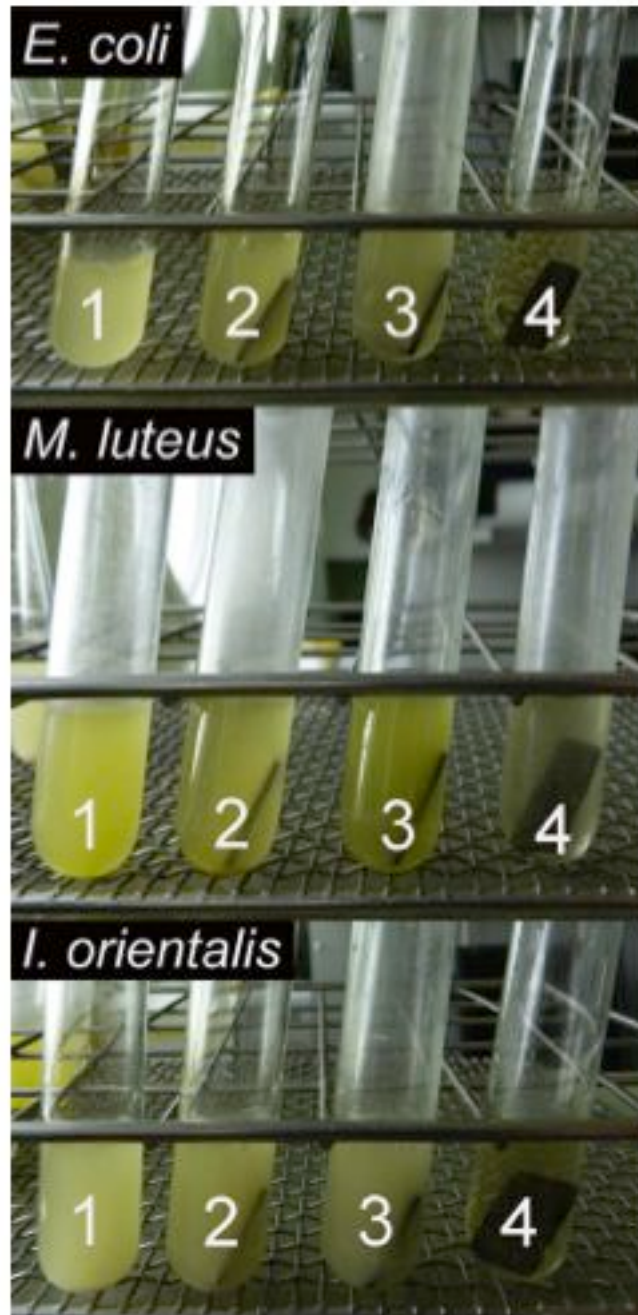


Figura 33. Efecto biocida a las 24 horas.

En la **Figura 33** se muestran las imágenes del efecto biocida a las 24 horas. Los tubos marcados con el número 1 corresponden al cultivo control compuesto de microorganismos y nutrientes. Los tubos que llevan el número 2 corresponden al cultivo control con los discos de titanio sin recubrimiento. Los tubos 3 corresponden a los discos de titanio con un recubrimiento de vidrio soda-lima. Los tubos con el número 4 corresponden a los discos de titanio con recubrimiento de vidrio soda-lima con nanopartícula de plata 20 wt.% (puede apreciarse la translucidez del líquido).

Estudio experimental in vitro: Efecto inhibitorio de un vidrio sola-lima con nanopartícula de plata sobre la formación de biofilm de *Streptococcus oralis*.

La microestructura del recubrimiento de vidrio soda-lima con nanopartícula de plata decantado sobre los discos de titanio fue similar a la mostrada en la **figura 27**. Las nanopartículas de plata se distribuyeron por la matriz de vidrio en un tamaño que oscila entre los 20-90 nm aunque también se formaron algunos aglomerados.

La topografía de la superficie se muestra de modo tridimensional en la **figura 34**, con su correspondiente perfilometría. Se puede apreciar claramente como el recubrimiento presenta una rugosidad micrométrica, mientras que el titanio liso pulido tiene una rugosidad en escala nanométrica. Los valores medios de Ra en los discos con recubrimiento (3.12 ± 0.43) fueron significativamente superiores a los de los discos de titanio liso pulido (0.08 ± 0.03). La misma tendencia se observa cuando analizamos los valores de un área específica (Aspec). Siempre se encuentran valores superiores a la unidad, sin embargo, en el caso de los discos con recubrimiento el valor encontrado (1.8 ± 0.2) casi duplica al de los discos de titanio liso pulido (1.2 ± 0.01). Estos datos evidencian una mayor rugosidad y superficie activa en los recubrimientos en comparación al titanio liso pulido.

La **figura 35** muestra la masa total de biofilm cuantificada mediante tinción de cristal de violeta. Los valores de absorbancia de los discos de titanio liso pulido fueron significativamente mayores ($p < 0.01$) que los de los discos con recubrimiento, en todas las cepas utilizadas.

La **figura 36** muestra la adherencia de las colonias viables de *S. oralis* (\log_{10} CFU/mm²) tanto al titanio liso pulido como al recubrimiento. El número de colonias fue significativamente mayor ($p < 0.0001$) en los discos de titanio liso pulido que en los discos con recubrimiento de vidrio con nanopartícula de plata para todas las cepas de *S. oralis*. El recubrimiento decantado sobre disco de titanio redujo de manera especialmente significativa la adherencia de las cepas *S. oralis* ATCC 35037, CI-1, y CI-2 con respecto a los discos de titanio liso pulido en un 99.8, 99.7, y 99.9 % a las 24 horas, respectivamente.

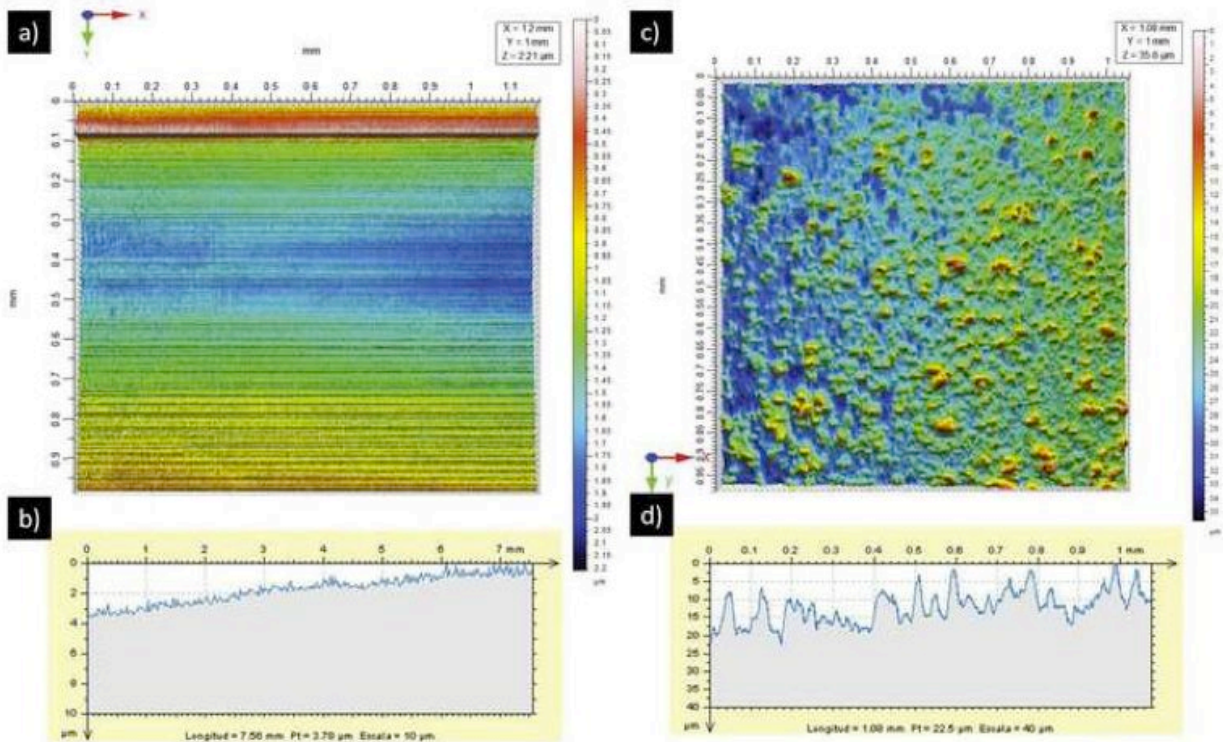


Figura 34. Topografía de superficie y perfilometría del titanio liso (a y b) y del recubrimiento biocida (c y d).

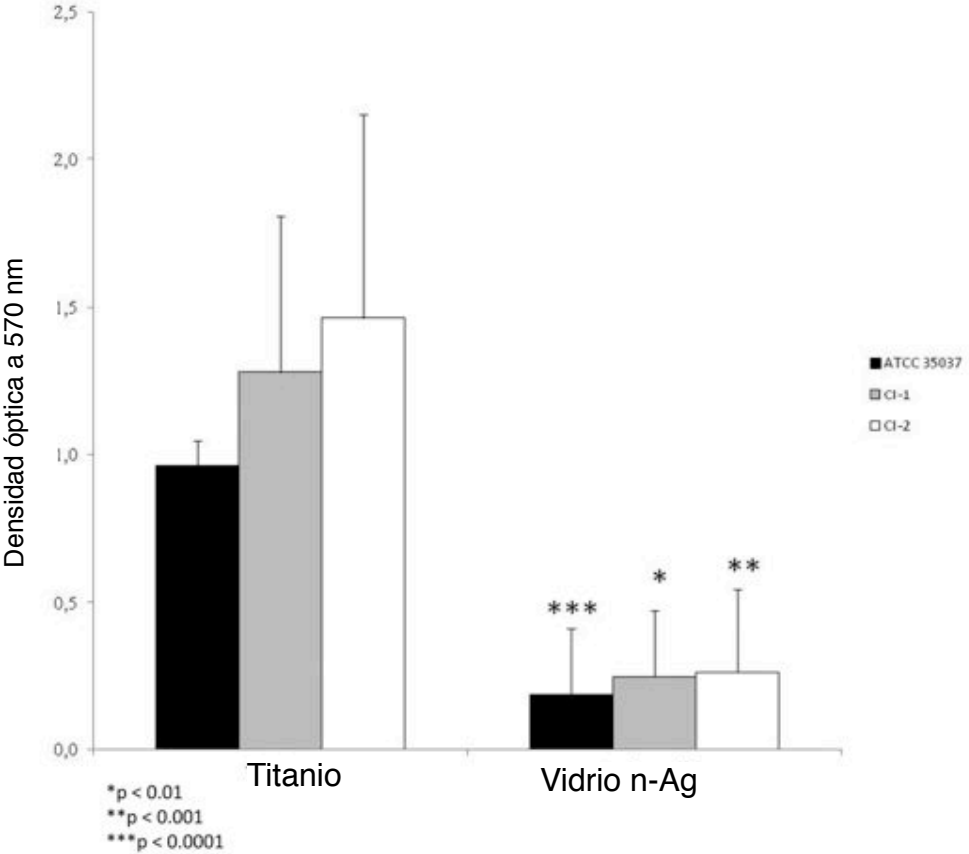


Figura 35. Masa total de biofilm cuantificada mediante tinción de violeta.

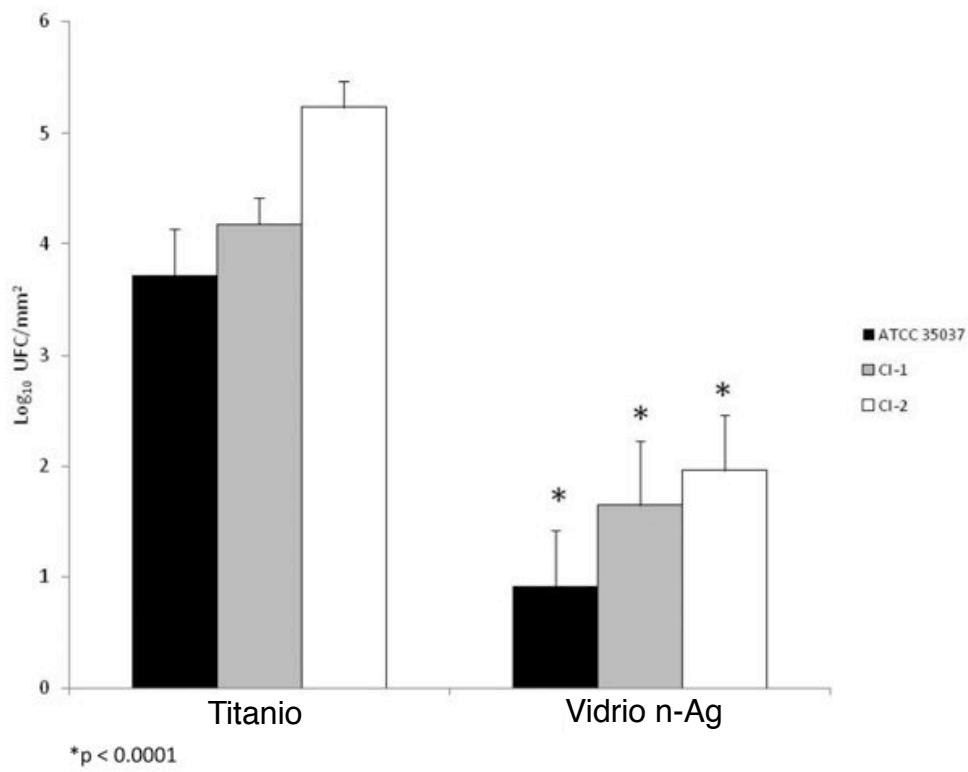


Figura 36. Adherencia de las colonias viables de *S. oralis*.

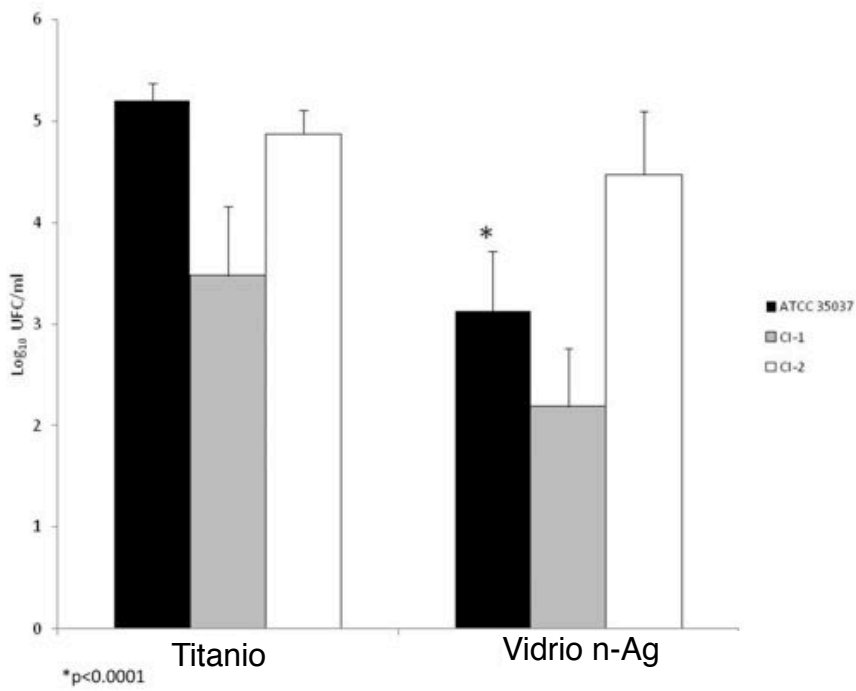


Figura 37. Células planctónicas viables de las cepas de *S. oralis*.

En la **figura 37** se muestran las células planctónicas viables de las cepas de *S. oralis* (\log_{10} CFU/mL) después de su incubación durante 24 horas en THY-glucosa, tanto de los discos de titanio como de los recubrimientos. El recuento de colonias de las células planctónicas cultivadas a partir de los discos de titanio liso pulido sólo fue significativamente superior respecto a los discos con recubrimiento en el caso de *S. oralis* ATCC 35037. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las cepas CI-1 y CI-2.

Mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) se estudió la formación y el desarrollo del biofilm tanto en los discos con recubrimiento como en los controles (**Figura 38**. A y B titanio liso pulido, C y D recubrimiento. *S. oralis* Cepa CI-1).

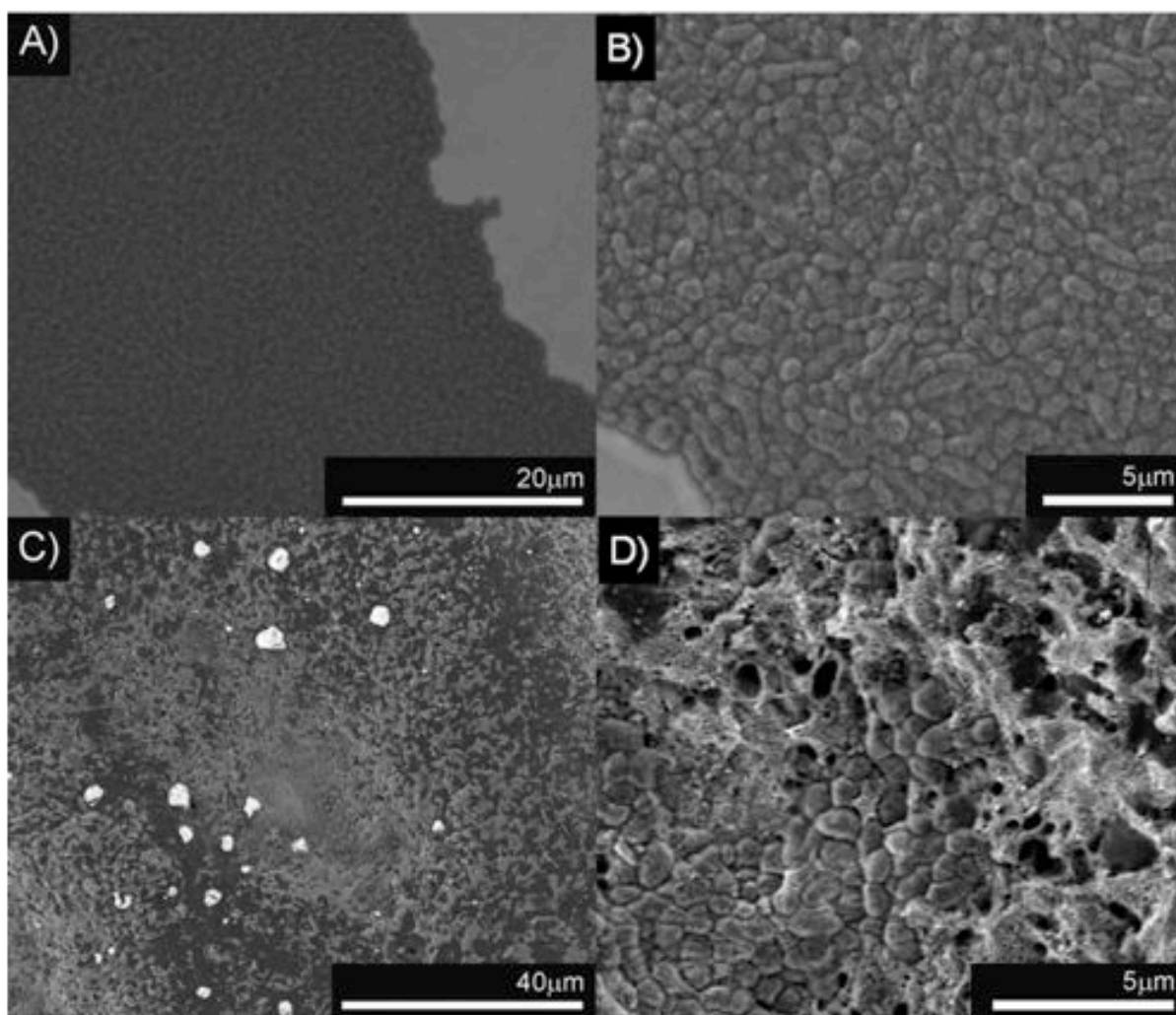


Figura 38. SEM: A y B titanio liso pulido; C y D recubrimiento. *S. oralis* Cepa CI-1

La cantidad de plata lixiviada en el sobrenadante a partir de los recubrimientos se cuantificó en diferentes momentos durante 7 días. La media de los resultados obtenidos se muestra en la **figura 39**. Como puede observarse con claridad, la cantidad de plata liberada es proporcional al tiempo de inmersión. El rango de liberación fue de $0.09 \mu\text{g h}^{-1}$, calculado a partir de una línea que atraviese el valor medio de los datos.

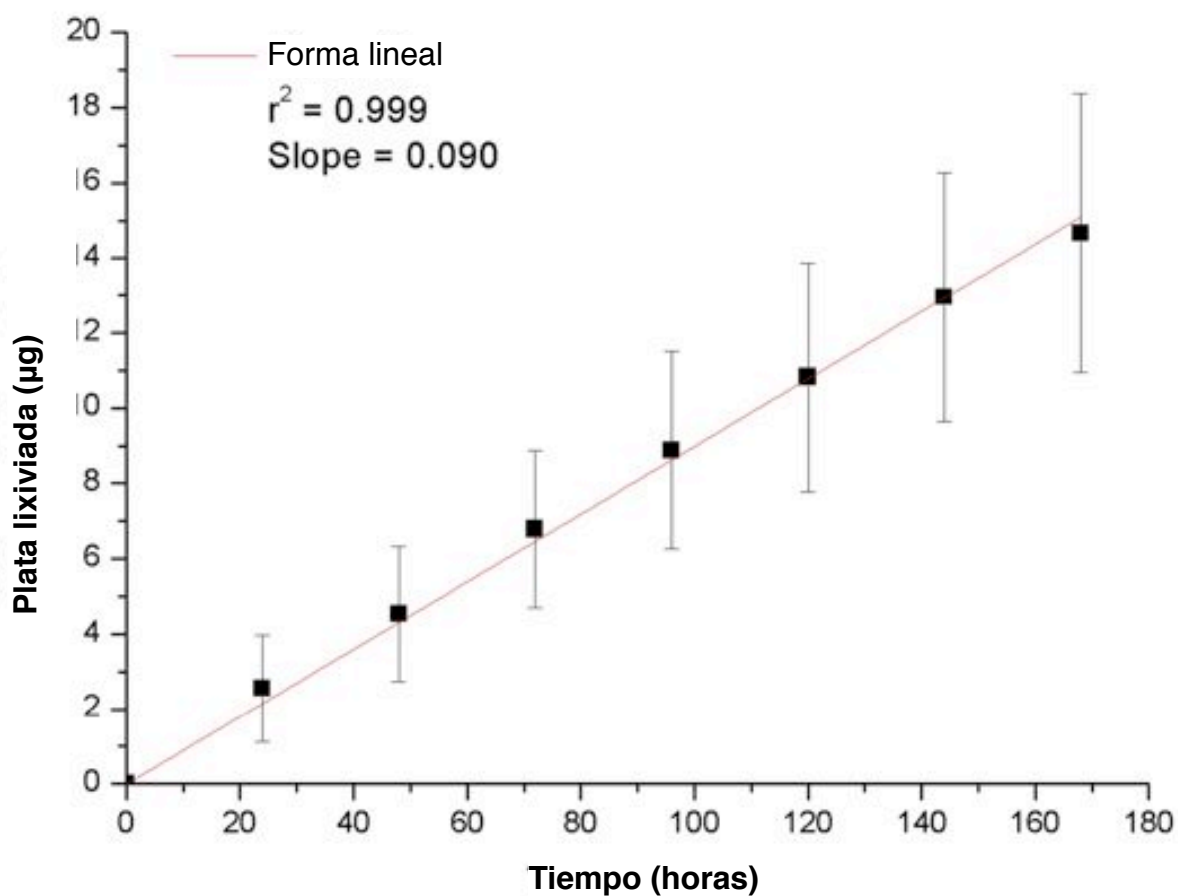


Figura 39. Cantidad de nAg lixiviada en función del tiempo.



Discusión

Estudio clínico retrospectivo

La enfermedad perimplantaria es una enfermedad infecciosa que no cumple los principios clásicos de Koch, de modo que la mera presencia del agente infeccioso no basta para diagnosticar la enfermedad. Así las cosas, el diagnóstico de la enfermedad periimplantaria no está determinado por una decisión dicotómica -presencia/ausencia de enfermedad- sino que se basa en la continua evaluación de una serie de parámetros clínicos, que comparados de manera continuada y sistemática a lo largo del tiempo en las visitas de mantenimiento y control, permite determinar la cantidad de hueso reabsorbido periimplantario y el grado de salud de los tejidos que rodean al implante. La cuestión radica en identificar qué cantidad de cambios en los tejidos periimplantarios se considera compatible con una situación de salud (establecimiento de la anchura biológica; merma de los tejidos fisiológica propia del envejecimiento; etc..) y qué cambios o grado de reabsorción se consideran patognomónicos de enfermedad.

Para complicar más las cosas, estos criterios deben estar referidos a un tiempo de evolución, puesto que un implante que sufra periimplantitis y sea tratado con éxito, puede mantener un estado de salud de los tejidos periimplantarios indefinidamente tras el tratamiento. La pérdida de hueso alrededor del implante puede ser una secuela de la enfermedad sin que por ello deban considerarse enfermos los tejidos periimplantarios (¿un paciente con cicatrices pulmonares por tuberculosis es un tuberculoso?). De manera aislada la pérdida de hueso no indica enfermedad perimplantaria, sino que ésta debe producirse en un tiempo conocido y en una cantidad suficiente, ambos establecidos de modo convencional.

La investigación acerca de la enfermedad periimplantaria se encuentra limitada por la ausencia de unos criterios definidores de enfermedad aceptados como válidos de manera universal; esto implica que las comparaciones entre los resultados de las investigaciones sea difícil porque los autores no consideran los mismos criterios para diagnosticar los casos, y que exista un creciente interés por desarrollar nuevas escalas o parámetros clínicos que predigan la evolución de la enfermedad (51).

En el presente estudio, la evaluación de la salud periodontal de los pacientes muestra una correlación significativa por cuadrante y entre los cuadrantes, tanto a nivel distal como mesial, y existe también una correlación significativa entre las distintas

determinaciones de profundidad de bolsa al sondaje. Todo ello es compatible con la existencia de una situación de salud / enfermedad generalizada en los pacientes del estudio, y puede ser interpretado en el sentido de que los pacientes enfermos presentaban una periodontitis crónica generalizada.

La correlación significativa y bidireccional entre el índice de placa y la pérdida de hueso, y entre el índice de placa y la pérdida de hueso con la profundidad de sondaje, demuestra la interrelación que existe entre los distintos parámetros empleados para evaluar la salud periodontal en la práctica clínica diaria. Sin embargo, puede resultar del máximo interés conocer qué parámetro o signo clínico puede considerarse como el mejor predictor de la enfermedad y de su evolución.

En este estudio la existencia de una pérdida de hueso ≥ 5 mm en la radiografía panorámica realizada para la planificación de la cirugía de implantes en 2004 se asoció con un mayor nivel en el índice de placa, con mayor profundidad de bolsa en todos los puntos medidos, mayor índice de sangrado con el sondaje y mayor movilidad dental en la evaluación realizada en 2009. Se demuestra una asociación significativa entre los valores más altos de los parámetros clínicos usados para medir la enfermedad periodontal. Y más aún, la pérdida de hueso experimentada por los dientes hasta 2004 se relaciona con el riesgo de pérdida dental, con un riesgo mayor del 50% para los dientes que presentaron ≥ 7 mm de pérdida ósea distal, y una odds ratio de 1.60 por cada milímetro de hueso perdido.

A la luz de estos datos cabe preguntarse si la experiencia de un grado avanzado de enfermedad conlleva un difícil control de la higiene bucal; y también debemos considerar el grado de eficacia que tenemos en modificar los hábitos de higiene de nuestros pacientes. Muchos de los pacientes que solicitan rehabilitación con implantes padecen una enfermedad periodontal crónica que les ha causado pérdida de algunos dientes, que permanece activa en los dientes remanentes, y que puede afectar a la salud de los implantes nuevos. Habida cuenta de que la mayoría de estos pacientes son sospechosos de mantener una higiene bucal defectuosa o presentar hábitos poco saludables (tabaquismo), al planificar el tratamiento de implantes debemos considerar a estos pacientes como pacientes de riesgo para la salud periimplantaria. Es importante incidir en la necesidad de un cambio en los hábitos de salud de los pacientes periodontales y en la importancia de una correcta planificación del tratamiento que estime de un modo real el grado de control de la enfermedad

periodontal; en este sentido, cabe considerar a los dientes con alto riesgo de pérdida o con una situación periodontal que dificulte la higiene correcta del diente como candidatos a ser incluidos en el tratamiento de implantes, con objeto de que se pueda asegurar una higiene bucal adecuada y se evite el contagio bacteriano entre los dientes más enfermos y los implantes recién puestos (7).

Algunos autores (6,26,33-36), basándose en las similitudes existentes en la patogenia de la enfermedad periodontal y periimplantaria, han relacionado con un cierto nivel de evidencia científica a la periodontitis con una mayor probabilidad de pérdida implantaria respecto de los pacientes con salud periodontal. La colonización bacteriana del surco periimplantario sucede de forma precoz en los implantes recién insertados, y las bolsas periodontales de los dientes remanentes enfermos pueden actuar como reservorios de los microorganismos que colonizan las nuevas fijaciones implantadas. Aunque el número de implantes perdidos en este estudio es pequeño (dentro del rango de fracaso aceptado estadísticamente como normal) y por lo tanto los datos deben interpretarse con cautela, los resultados muestran una tendencia hacia una menor probabilidad de pérdida de implantes en los cuadrantes edéntulos respecto de los cuadrantes en los que existen dientes que potencialmente pueden actuar como reservorios de los microorganismos (OR 2.5); los cuadrantes en los que se se experimentó alguna pérdida dental entre 2004 y 2009 son los que presentaron el mayor índice de pérdida implantaria (OR 7.9), lo cual concuerda con lo anteriormente dicho si consideramos a los dientes perdidos como aquellos que presentaban una situación periodontal más comprometida.

Sin embargo, si consideramos a la pérdida ósea dental en la ortopantomografía de 2004 como parámetro capaz de medir el riesgo de pérdida implantaria, encontramos que la pérdida ósea media de los dientes presentes en los cuadrantes en los que se produjeron pérdidas de implantes no es superior a los valores medios globales de pérdida de hueso dental determinada en 2004, tanto a nivel mesial como distal. Es difícil encontrar un sólo parámetro que prediga la probabilidad de fracaso implantario si tenemos presente que el fracaso primario y secundario obedecen a distintas causas, y que en ambos casos las causas son variadas.

La profundidad de bolsa periimplantaria, otro parámetro que se determinó en el estudio para valorar la salud de los implantes, muestra una correlación estadísticamente significativa ($p < 0.001$) entre todos los implantes y entre los implantes

y los dientes presentes en el mismo cuadrante (intracuadrante). Aunque los valores medios globales de pérdida ósea (tanto a nivel mesial como distal) y de profundidad de bolsa al sondaje (en todos los puntos medidos) fueron mayores en dientes que en implantes, la profundidad de bolsa al sondaje fue similar en implantes con ≥ 3 mm de pérdida ósea distal y dientes con ≥ 5 mm de pérdida ósea distal, con valores altos de profundidad de bolsa en ambos casos, y con una correlación significativa entre todos los puntos medidos en dientes e implantes.

Este hecho refuerza desde un punto de vista clínico la hipótesis de que la patogenia de la enfermedad periodontal y la periimplantaria es similar. También sugiere que el grado de lesión ósea marginal presente en los dientes en 2004 se relaciona con el grado de lesión periimplantaria determinado en 2009. Para un valor determinado de profundidad de bolsa, el mismo en dientes e implantes, se encontró una pérdida de hueso menor en los implantes que en los dientes (≥ 3 mm vs. ≥ 5 mm) (Tablas 2 y 3 del Anexo 3). Estos datos sugieren la existencia de una mayor debilidad de los tejidos blandos que rodean al implante respecto al diente, determinada por una disposición histológica de los tejidos menos resistente a la invasión microbiana. Esta disposición repercute en una mayor laxitud de los tejidos blandos y por tanto en una mayor penetración de la sonda en el surco periimplantario que en el surco periodontal. El hecho de que los tejidos periodontales sean más débiles a la invasión bacteriana que los dentarios también conlleva que la lesión periimplantaria progrese más rápidamente que la periodontal. Esta afirmación se avala por la correlación existente entre la pérdida de hueso periimplantaria y la dental dentro del mismo cuadrante, especialmente si consideramos que la pérdida ósea dental se ha producido durante muchos años y la periimplantaria durante los cinco años transcurridos desde la inserción de los implantes.

Como en el caso de los dientes, en los implantes también encontramos: a) una relación significativa bidireccional entre el índice de placa y la pérdida de hueso, b) una relación significativa entre ambos parámetros y la profundidad de bolsa al sondaje (con profundidades de bolsa significativamente mayor cuando la pérdida de hueso periimplantaria es ≥ 3 mm) y c) una correlación significativa entre todos los valores de profundidad de bolsa con independencia del punto medido. Estas asociaciones indican que en los implantes también existe una interdependencia entre los parámetros empleados para evaluar su salud.

Otro dato a destacar es que tomando como unidad de estudio al paciente, existe una tendencia significativa a la pérdida de implantes en aquellos paciente en los que se insertaron múltiples fijaciones frente a los que solo se les colocó un implante (10.8% vs. 0%). Independientemente de que las causas de fracaso implantario son diversas y del factor de confusión que supone el hecho de que recibir más implantes supone por sí mismo un incremento en la la probabilidad de pérdida de algún implante, resulta plausible considerar que los pacientes que requieren mayor reposición dental acusan un peor mantenimiento de su salud bucal. Por lo tanto pueden presentar una situación periodontal más comprometida. Esta premisa concuerda con los datos científicos que avalan una analogía entre la patogénesis de la enfermedad periodontal y la periimplantaria (38,41-45,123). Sin embargo, esta tendencia desaparece cuando consideramos al implante como unidad de estudio, de modo que no se aprecian diferencias entre los fracasos de implantes colocados de modo aislado (0%) frente a los implantes que fueron insertados junto con otros implantes (4.4%).

Puede considerarse que el fracaso durante los primeros años de evolución del tratamiento implantario está más condicionado por factores ajenos a la enfermedad periimplantaria. Después de un periodo medio de evolución (5-10 años) es cuando se alcanzan grados de enfermedad periimplantaria que inducen a la pérdida de implantes. En este sentido cabe esperar que el resultado del análisis que toma como base de estudio al implante sea significativo si se analizasen las pérdidas a diez años en vez de a los cinco, mientras que la tendencia tomando como base de estudio al paciente se mantendría significativa pero con un mayor nivel de significancia.

El hecho de que las pérdidas implantarias se concentren en un reducido número de pacientes (6.8%) y que la mitad de estos pacientes sufra más del 50% de las pérdidas sugiere que existen factores dependientes del paciente, y por tanto ajenos al profesional o al propio implante, que influyen de manera importante en el fracaso del implante (11,12,126).

En la literatura existen diversas definiciones de enfermedad periimplantaria (2,39, 51, 126). Si consideramos que el sangrado con el sondaje (sin que se identifique pérdida de hueso en la radiografía) es un signo clínico de mucositis periimplantaria, nuestros datos revelan una prevalencia de mucositis del 39.8% (con el implante como unidad de estudio), puesto que este es el porcentaje de implantes que presentaron sangrado al sondaje y ≤ 1 mm de pérdida de hueso durante el periodo de estudio. Este

dato es inferior al 50% encontrado por otros autores que también analizaban la prevalencia de mucositis empleando como base de estudio el implante (6,11,127).

Las definiciones de periimplantitis están menos consensuadas en la literatura. Albrektsson e Isidor (50) definen la periimplantitis como una inflamación con pérdida de hueso alrededor de un implante en función. Según esta definición, cualquier signo de pérdida de hueso (incluso <0.2 mm/año) con inflamación (sangrado al sondaje) puede ser interpretada como patognomónica de periimplantitis; sin embargo es de destacar que los mismos autores en el mismo artículo señalan como aceptable una pérdida de hueso de 1.5 mm (calculada como media estadística) durante el primer año de función del implante y de 0.2 mm durante cada año sucesivo (también como valor medio). Para estos autores estos son criterios de éxito implantario. Según estos criterios, que han sido ampliamente aceptados durante muchos años, es aceptable que un implante que se ha colocado de modo aislado presente una pérdida de hueso de 2.5 mm a los 6 años y de 4.5 a los 16 años.

También es un éxito que en el caso de inserciones múltiples se pierda algún implante siempre que la media aritmética no supere los valores indicados. Aplicando los criterios de Albrektsson (50) al presente estudio, es aceptable que a los 4-5 años los implantes presenten una pérdida de hueso media de entre 1.1 y 1.3 mm, y deberían considerarse como implantes con periimplantitis aquellos con sangrado al sondaje y pérdida ósea ≥ 1.1 mm. Como se muestra en la tabla 4 del Anexo 3, 150 de los 268 (56.0%) de los implantes presentaron pérdida de hueso >1 mm, asociándose 95 de ellos con sangrado durante el sondaje. Así las cosas, podemos estimar la prevalencia de periimplantitis en un 35.4% (95 de 268) si consideramos los criterios de Albrektsson, lo cual se encuentra dentro del rango de prevalencia de enfermedad encontrado por otros autores en implantes con al menos 5 años de función.

Para Frasson cualquier reabsorción posterior al primer año de función del implante es sinónimo de periimplantitis (53).

Parece existir acuerdo en que durante el primer año de función del implante cierto grado de reabsorción ósea puede interpretarse como propia del establecimiento de la anchura biológica y por tanto no necesariamente indicadora de enfermedad, aunque las casas comerciales aseguran que la ausencia absoluta de reabsorción ósea es predecible gracias a los recientes cambios introducidos en los diseños de implantes y en las conexiones implante-pilar, y para ello aportan estudios con escaso tamaño

muestral o series de casos clínicos. Sin embargo, desde el momento en que aceptamos que la enfermedad periodontal es una enfermedad tratable (y según algunos estudios incluso reversible mediante técnicas de regeneración ósea en algunos casos), debería considerarse la posibilidad de que la pérdida ósea que manifiesta un implante no indica por sí misma la existencia de enfermedad puesto que puede ser una secuela (63,128).

Por tanto la pérdida ósea debe acotarse respecto a un tiempo conocido y además asociarse a la presencia de otros signos clínicos como el sangrado o la supuración. En este sentido para Roos-Jansåker (6) el diagnóstico de periimplantitis requiere de sangrado o supuración con el sondaje combinado con una pérdida de hueso total de 1.8 mm durante los 8-13 años siguientes al primer año de función del implante. Cuando consideramos los parámetros clínicos empleados en la práctica diaria de la clínica para determinar la salud de los implantes (índice de placa, medición de la profundidad de bolsa en seis puntos, y sangrado con el sondaje) (tabla 4 del anexo 3) se aprecia que los implantes con una pérdida de hueso comprendida entre >1 - <2 mm son similares a los valores encontrados en los mismos parámetros clínicos determinados en implantes con reabsorción ósea ≤ 1 mm, y difieren significativamente de los valores hallados en implantes con ≥ 3 mm de pérdida de hueso, los cuales presentaron valores mucho mayores (profundidad de sondaje media de 4mm, IPm grado 3 en le 60% de los implantes y 86.7% de sangrado con el sondaje).

Si tenemos presentes estos datos, la existencia de los dos primeros milímetros de pérdida ósea periimplantaria a los 5 años puede atribuirse al establecimiento de una anchura biológica, sin que necesariamente deba establecerse el diagnóstico de enfermedad si no existen otros parámetros clínicos alterados; y puede establecerse como punto de corte diagnóstico de enfermedad la pérdida de al menos 3 mm de hueso alrededor del implante, habida cuenta que la asociación que hemos demostrado de este nivel de reabsorción ósea periimplantaria con la alteración de otros parámetros clínicos que se encuentran en estos casos así lo sugiere. Según estos criterios, la prevalencia de periimplantitis (implantes con ≥ 3 mm de pérdida ósea y con sangrado al sondaje) en el presente estudio es de 4.9% (13 de los 268 implantes) a los 4-5 años de inserción de los implantes.

La influencia de las cargas oclusales sobre el desarrollo de la periimplantitis es motivo de controversia (9,45). Se realizó un análisis multivariante para intentar explicar

la importancia de la pérdida de hueso y el índice de placa (como variables independientes) sobre la profundidad de bolsa al sondaje (como variable dependiente) tanto en dientes como en implantes. Se encontraron correlaciones significativas para ambas variables independientes y la profundidad de sondaje en dientes, pero en implantes sólo se encontró correlación entre la pérdida de hueso y la profundidad de sondaje. Esta discusión entre la influencia relativa del factor microbiológico o el factor mecánico es más un asunto académico que clínico, puesto que como se demuestra en este estudio, la pérdida de hueso provocada por factores mecánicos supone la creación de un nicho en el que las condiciones de anaerobiosis favorece la colonización de bacterias periodontopatógenas presentes en otros nichos bucales. Esta superinfección contribuye a una mayor pérdida de hueso, aunque este extremo requiere de más estudios que aporten suficiente evidencia.

Estudio experimental in vivo

En este estudio se pretende medir la pérdida de hueso periimplantaria que sufrieron los implantes sometidos a inducción experimental de enfermedad mediante ligaduras. La pérdida de hueso experimentada se relacionó con los distintos tipos de pilares utilizados en el estudio, de titanio liso pulido o con recubrimiento de vidrio soda-lima con nanopartícula de plata. La progresión de la enfermedad fue más pronunciada en los implantes con pilares de titanio liso pulido (implantes control) que en los implantes con pilares recubiertos de vidrio con nanopartícula de plata (implantes caso).

Para la inducción de la periimplantitis experimental se utilizó el modelo clásico descrito por Ericsson (148). Por lo tanto las ligaduras de algodón se introdujeron en el surco gingival periimplantario entre el implante y la mucosa, en una posición apical al margen gingival. Como se ha demostrado en otros estudios (149,150), el trauma mecánico producido por la propia ligadura y el acúmulo de placa que provoca resultó en el establecimiento de una importante reacción inflamatoria en los tejidos adyacentes al implante y en una pérdida de hueso considerable, pero con diferencias muy significativas entre los casos y los controles.

En este estudio, los controles desarrollaron una importante reacción inflamatoria en los tejidos blandos circundantes, en contraste con la leve inflamación que

presentaron los casos al inicio de la inducción de enfermedad (**Figura 28**). Los cambios inflamatorios que se produjeron en los casos estuvieron en relación con un hecho importante: para asegurar el contacto del recubrimiento con la encía, dada la escasa altura gingival que presentaba la mucosa de los perros, se retiró el pilar transmucoso de titanio liso pulido destinado a acoger el establecimiento de la anchura biológica periimplantaria. Así las cosas, al introducir el recubrimiento hasta la misma plataforma del implante se sacrificó la anchura biológica que existía porque se consideró un mal menor con tal de asegurar la acción del recubrimiento en el lugar de enfermedad.

Unas semanas después de este procedimiento, la inflamación que presentaron los casos remitió, mientras que los controles la inflamación aumentaba semanalmente. La inflamación que experimentaron los casos al inicio del periodo de inducción de enfermedad está más relacionada con el insulto gingival que provocó retirar el pilar transgingival, y el consecuente establecimiento de una nueva anchura biológica, que con la colocación de las ligaduras, sobretodo si tenemos en cuenta que las mismas ligaduras se colocaron en los pilares control y no fueron causa de inflamación alguna en las semanas iniciales de inducción de enfermedad. Parece razonable que el establecimiento de una nueva anchura biológica en los casos conllevó la resolución de la inflamación inicial, especialmente si tenemos en cuenta que las ligaduras causaron una inflamación progresivamente mayor en los controles. Podemos afirmar que el recubrimiento con nanopartícula de plata previene la inflamación gingival.

Berglundh (139) demostró que los implantes con superficies rugosas experimentan una progresión mayor de enfermedad periimplantaria que los implantes con superficie lisa. Para nuestro estudio se utilizaron los mismos implantes en todas las localizaciones, pero existía una importante diferencia en la rugosidad superficial de los implantes con pilares control y los implantes con pilares recubiertos de vidrio biocida (**figuras 28 y 34**). Los valores Ra de los pilares con recubrimiento ($1 \pm 0.2 \mu\text{m}$) es aproximadamente el doble del valor que tienen los pilares control de titanio liso pulido ($0.5 \pm 0.3 \mu\text{m}$). Aunque esto evidencia una clara desventaja para los casos, los resultados de nuestro estudio no son los que cabría esperar de los datos que aportan los estudios que analizan la influencia de la rugosidad en el progreso de la periimplantitis. Esto se debe al efecto biocida del recubrimiento de vidrio soda-lima con nanopartícula de plata, el cual evita la formación de biofilm en su superficie como se demuestra en los estudios in vitro (141).

En el estudio no se encontraron diferencias significativas en la remodelación ósea que experimentaron casos y controles durante el periodo de preparación ($p < 0.062$ y $p < 0.085$ en distal y mesial respectivamente). Pero al final del periodo de inducción de enfermedad sí que se observaron diferencias muy significativas entre los casos y los controles, tanto en mesial como en distal, y considerando no sólo variables absolutas sino también el porcentaje de cambio experimentado (**Tabla 1, Figuras 29 y 30**). Este estudio demuestra claramente que los recubrimientos de vidrio biocida reducen de manera significativa la pérdida de hueso periimplantaria.

Las diferencias resultaron más marcadas a nivel distal que en mesial. Los motivos que justifican este hallazgo no están del todo aclarados. Merece una consideración especial resaltar el daño provocado a la anchura biológica de los casos en la semana 24, puesto que ello explicaría el establecimiento de una nueva anchura biológica y consecuentemente una remodelación ósea no debida a la inserción de las ligaduras. Aunque este hecho perjudica a los casos frente a los controles, las diferencias estadísticas encontradas y su nivel de significancia son lo suficientemente importantes como para demostrar que, pese a la mayor rugosidad del recubrimiento y al daño ocasionado a la anchura biológica, el recubrimiento de nanopartícula de plata reduce la pérdida de hueso periimplantaria. Existen evidencias suficientes para creer que si se respetase la anchura biológica de los casos no se produciría ninguna pérdida ósea en los implantes con vidrio biocida.

Estudio experimental in vitro: Efectos antimicrobianos de una aleación de titanio recubierta de vidrio biocida con nanopartícula de plata

Para evaluar la idoneidad del vidrio como recubrimiento sobre el titanio, medimos los ángulos de contacto en función de la composición del vidrio y el contenido de plata. La existencia de un ángulo de contacto menor conlleva la formación de un recubrimiento más fino, homogéneo y estable. Los aumentos en el contenido de sodio del vidrio ocasionan un efecto pernicioso sobre la humectabilidad (151) (**Figura 31,B**). Sin embargo, la nanopartícula de plata provoca un efecto muy marcado y en una concentración de 10 wt.% Ag, el ángulo de contacto disminuye a la mitad, a 60° (**Figura**

31, A). Este hecho sólo puede atribuirse a la migración que la nanopartícula de plata experimenta hacia la interfase vidrio/titanio, en donde se mezcla con el metal.

Todos los recubrimientos se fabricaron a una temperatura de 980 °C, nivel térmico en el que no se espera ninguna transformación de fase del titanio (**Figura 32**) que modifique sus propiedades mecánicas. A esta temperatura las nanopartículas de plata se derriten y se agrupan formando microesferas. El ángulo de contacto de la plata derretida sobre óxido es relativamente alto ($>90^\circ$) (152), de modo que durante la densificación del recubrimiento y mientras se mantiene derretido el mismo, existe una inestabilidad espacial en los poros debido al alto ángulo de contacto y la nanopartícula de plata exuda hacia las superficies de contacto sólido-líquido y líquido-gas (153).

La plata derretida que migra hacia la interfase líquido-sólido se mezcla con el titanio, mientras que el vidrio también reacciona formando silicatos. Según los diagramas de fase del Ti-Ag y Ti-Si-Ag (154,155), a una temperatura de 980 °C, el β -Ti (ss), Ti_3Si y el TiAg son compuestos estables en fase sólida, que se pueden formar a nivel de la interfase. Esta interfase presenta buenas propiedades de adhesión, y como consecuencia se obtiene una buena unión entre el vidrio y el titanio (151)(**Figura 27**).

La cantidad de plata liberada está directamente relacionada con la degradación del vidrio. En este sentido, una lixiviación exagerada debe ser evitada para no provocar efectos tóxicos. La concentración de plata en los sobrenadantes de los test biocidas fue de ≈ 10 ppm en todos los casos. Este valor es sensiblemente inferior a la concentración considerada tóxica para los osteoclastos (≈ 30 ppm) (156), lo cual es de la máxima importancia en caso de que el recubrimiento se emplee en implantes ortopédicos. Si la plata no se libera de modo controlado, la cantidad total de plata no estaría dentro del rango aceptado de cito/biocompatibilidad. Algunos ejemplos de citotoxicidad se han descrito en la literatura, e.g. Zhao et al (142) introdujeron diferentes cantidades de nanopartícula de plata en nanotubos de titanio. Como resultado de su estudio encontraron que las muestras causan cierto grado de citotoxicidad y que debían realizarse más estudios que controlasen la lixiviación de la plata. Song et al demostraron que los recubrimientos con altas concentraciones de nanopartícula de plata (0.21 -0.45 wt.%) presentan citotoxicidad si no se controla la lixiviación de la misma.

Los resultados que se obtuvieron en los test biocidas demuestran que sólo el recubrimiento con nAg 20 wt.% es activo frente a los tres microorganismos testados, considerando que una reducción logarítmica mayor de 5 es una desinfección completa.

Estudio experimental in vitro: Efecto inhibitorio de un vidrio sola-lima con nanopartícula de plata sobre la formación de biofilm de *Streptococcus oralis*.

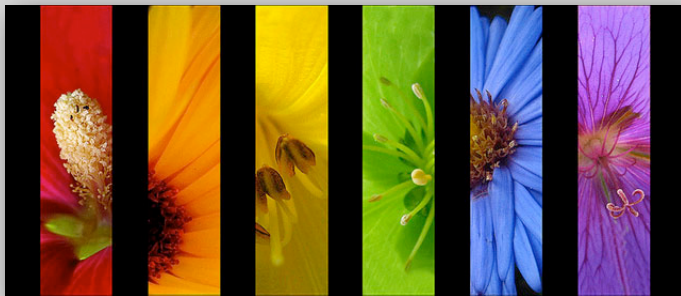
Las características físico-químicas de la superficie de los materiales desempeñan un papel crucial en el proceso de adhesión bacteriana. Las superficies rugosas facilitan la adhesión bacteriana y la formación de biofilm de manera mucho más marcada que las superficies lisas (139,158). Esto se debe a que la rugosidad aumenta la superficie de contacto y a que las depresiones e irregularidades facilitan la colonización. En nuestro estudio, a pesar de que los recubrimientos tienen una rugosidad mayor (Ra 3.12 μm) y una superficie de contacto dos veces superior a la del titanio liso pulido mecanizado (Ra 0.08 μm), la cantidad de *S. oralis* adherida a los recubrimientos fue significativamente inferior, tanto en la cuantificación realizada mediante tinción de cristal de violeta como en la cuantificación mediante recuento de colonias. Estos resultados demuestran que la formación de biofilm es inhibida de manera importante por el recubrimiento de vidrio con nanopartícula de plata.

La capacidad del recubrimiento de nAg para reducir la colonización de bacterias viables y prevenir la formación de biofilm se verifica también en la microscopía electrónica de barrido. En la **figura 38** se muestran imágenes SEM de discos de titanio liso y recubierto con vidrio nAg tras 24 horas de incubación con la cepa CI-1. Se puede apreciar la enorme densidad bacteriana que presenta el disco de titanio liso pulido (Figura 38, A y B). Por el contrario en los discos recubiertos con el vidrio biocida nAg la adhesión bacteriana es ínfima y tan sólo se puede apreciar algún microorganismo acantonado en alguna porosidad (Figura 38, C y D). Estos datos claramente demuestran que el recubrimiento con vidrio biocida reduce la adhesión bacteriana, y por lo tanto la formación de biofilm, lo cual es consistente con los datos aportados en la cuantificación bacteriana del biofilm. Se obtuvieron resultados similares con las cepas ATCC y CI-2 (datos no ilustrados).

La acción biocida de las nanopartículas de plata también se refleja en las células planctónicas. Todas las cepas, y especialmente a cepa control, presentaron disminución significativa en el recuento de colonias después de entrar en contacto con los discos con recubrimiento biocida (**Figura 37**).

Por otro lado, es importante controlar la cantidad de plata lixiviada con objeto de evitar cualquier posible efecto tóxico a nivel local o sistémico. La concentración de plata en el sobrenadante nunca superó las 7 ppm, lo cual está muy por debajo del nivel considerado como tóxico en fibroblastos humanos (30 ppm) (156). Este perfil de lixiviación demuestra que el vidrio biocida libera la nAg de forma absolutamente controlada. Teniendo en cuenta que la nAg se encuentra distribuida homogéneamente en la matriz de vidrio (**Figura 27**), su perfil de lixiviación está directamente relacionado con la degradación del vidrio. La disolución del vidrio normalmente se produce mediante dos tipos de reacciones químicas en función de si el catión ocupa o modifica un sitio de su estructura. Durante la primera fase del proceso, conocida como disolución selectiva o de separación, los cationes modificadores (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) son selectivamente extraídos de la superficie del vidrio. Esta reacción acontece mediante una relación de tipo parabólico entre la pérdida de peso y el tiempo. En la siguiente fase, conocida como fase de disolución o grabado, los cationes que forman la estructura (Si^{4+} , B^{3+} , Al^{3+}) se disuelven en la solución acuosa como resultado del desmoronamiento de la estructura vítrea a nivel de la interfase en donde acontece la fase de separación. Esta reacción sucede mediante una relación lineal entre la pérdida de peso y el tiempo (159).

El vidrio soda-lima que usamos como matriz para la nAg presenta una resistencia a la solución hidrolítica conocida ($\leq 2 [\text{g} \cdot (\text{cm}^2 \cdot \text{s})^{-1} \times 10^{-8}]$). La pérdida de peso durante la inmersión en agua del vidrio resulta ser proporcional al tiempo, presentando un ritmo de disolución constante (160-163). Este comportamiento del vidrio demuestra claramente que el principal método de disolución que experimenta el vidrio es el de desmoronamiento completo de su estructura de forma no selectiva. Así las cosas, podemos afirmar que este recubrimiento es adecuado para dispositivos médicos que requieran un largo tiempo de uso, como es el caso de los implantes dentales. No sólo garantiza una liberación controlada si no también un periodo de acción duradero en el tiempo.



Conclusiones




1. El pronóstico depende de múltiples factores en distinto grado por lo que la identificación de los más importantes se muestra útil para predecir la supervivencia dentaria y sirve para evaluar la salud periimplantaria.
2. La asociación encontrada en nuestra tesis entre los parámetros clínicos de dientes e implantes demuestra la existencia de una patogenia similar de ambas enfermedades. Se precisan más investigaciones a este respecto para relacionar la evidencia encontrada en este estudio.
3. Los pacientes parcialmente edéntulos presentan mayor riesgo de pérdida implantaria, especialmente si existen antecedentes de periodontitis y los implantes se ubican en cuadrantes con dientes.
4. Los fracasos implantarios se concentran en un pequeño porcentaje de pacientes, lo cual indica una importante influencia de factores dependientes del paciente en la supervivencia implantaria.
5. El progreso en implantología exige una definición universal de periimplantitis. Nosotros defendemos el criterio clínico basado en una pérdida de hueso periimplantario > 3 mm de modo espontáneo como definitorio de periimplantitis.
6. La existencia de una pérdida de hueso periimplantario < 3 mm a los 4-5 años de función de los implantes se asocia a parámetros clínicos compatibles con un estado de salud. Según este criterio, la prevalencia de periimplantitis en la población española es del 4.9%.
7. Los recubrimientos biocidas con vidrio de soda-lima con nanopartícula de plata reducen la pérdida de hueso en la periimplantitis. Resulta evidente a la luz de los resultados, que los recubrimientos biocidas con nAg emergen como una innovadora y prometedora aportación en la prevención de la periimplantitis.
8. Es posible obtener un recubrimiento (~ 25 μm de grosor) de vidrio soda-lima con nAg (20 wt.%) sobre Ti-6Al-4V que lixivie la nanopartícula de modo controlado a una

concentración de ~10 ppm. Este recubrimiento ha demostrado una excelente actividad biocida ($\log \eta > 5$) frente a bacterias Gram+, Gram-, y hongos.

9. En este estudio, el recubrimiento de vidrio soda-lima con nanopartícula de plata demostró inhibir de manera efectiva la formación in vitro de biofilm de *Streptococcus oralis*. Las imágenes(SEM) constituyen el método ideal de verificación y evaluación de la eficacia de los recubrimientos. Demostramos la inhibición de formación de biofilm y la disolución de n-Ag lixiviada de modo lineal y controlado. Los recubrimientos constituyen una prometedora innovación en la fabricación de superficies biocidas de larga duración.

ANEXO 1

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

			SEI-EPI-001	Centro <input type="checkbox"/>	Paciente <input type="checkbox"/>	Fecha de revisión <input type="checkbox"/>	Pag 1
---	---	---	-------------	---------------------------------	-----------------------------------	--	-------

Fecha de la colocación del(los) implante(s) N° de implantes colocados (en la fecha indicada):

DATOS DEL PACIENTE

Edad <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Sexo M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	Acude a revisiones <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
--	--	---

DATOS CLINICOS EN EL MOMENTO DE LA COLOCACIÓN DEL IMPLANTE

Diabetes <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	Hábitos
↓ Insulino-dependiente <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	Tabaco <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO N° cigarrillos/día: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
↓ Años de evolución: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Ex - fumador <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> No aplicable
Enf. cardiovasculares <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	Alcohol <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
↓ Immunodepresión <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	↓ <input type="checkbox"/> Bajo <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Alto
↓ Especificar:	Bruxopatía <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Consumo de bifosfonatos <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	

DATOS ACTUALES

¿Se han producido cambios relevantes en la salud/hábitos del paciente? SI NO

En caso afirmativo especificar:

Considerando la Rx panorámica realizada para la colocación del implante, seleccionar la pieza dental por cuadrante que presentaba la mayor pérdida de hueso (distancia en mm desde cresta ósea hasta línea amelocementaria (LAC)*). Referir todos los datos de salud periodontal a esas cuatro piezas dentales. * Si restitución protésica, considerar LAC de pieza adyacente, o en su defecto, LAC promedio de piezas remanentes

LOCALIZACIÓN DE LAS PIEZAS SELECCIONADAS

: :

NIVEL OSEO (indicar en mm la pérdida de hueso periodontal en la placa realizada en la fecha de colocación del implante; M= mesial; D= distal)

M	D	M	D	M	D	M	D
---	---	---	---	---	---	---	---

SALUD PERIODONTAL EN EL MOMENTO ACTUAL




Registrar las piezas dentales seleccionadas en la página anterior y rellenar los datos solicitados de cada pieza. Si el paciente ha perdido una(s) pieza(s) elegida(s) se marcará la casilla “pieza perdida” y no se registrará ningún dato en esa columna.

Localización <input type="text"/>	Localización <input type="text"/>	Localización <input type="text"/>	Localización <input type="text"/>
Pieza perdida <input type="checkbox"/>	Pieza perdida <input type="checkbox"/>	Pieza perdida <input type="checkbox"/>	Pieza perdida <input type="checkbox"/>
ÍNDICE DE PLACA			
<input checked="" type="checkbox"/> No placa	<input checked="" type="checkbox"/> No placa	<input checked="" type="checkbox"/> No placa	<input checked="" type="checkbox"/> No placa
<input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda	<input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda	<input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda	<input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda
<input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm)	<input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm)	<input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm)	<input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm)
<input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm
INDICE DE SANGRADO			
<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno
<input checked="" type="checkbox"/> Puntual	<input checked="" type="checkbox"/> Puntual	<input checked="" type="checkbox"/> Puntual	<input checked="" type="checkbox"/> Puntual
<input checked="" type="checkbox"/> Confluyente en línea de mucosa	<input checked="" type="checkbox"/> Confluyente en línea de mucosa	<input checked="" type="checkbox"/> Confluyente en línea de mucosa	<input checked="" type="checkbox"/> Confluyente en línea de mucosa
<input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo
MOVILIDAD			
<i>(Grado 0= no movilidad; Grado 1= movilidad mínima; Grado 2= Movilidad importante; Grado 3= Movilidad en el eje axial)</i>			
<input checked="" type="checkbox"/> Grado 0	<input checked="" type="checkbox"/> Grado 1	<input checked="" type="checkbox"/> Grado 0	<input checked="" type="checkbox"/> Grado 1
<input checked="" type="checkbox"/> Grado 2	<input checked="" type="checkbox"/> Grado 3	<input checked="" type="checkbox"/> Grado 2	<input checked="" type="checkbox"/> Grado 3
			<input checked="" type="checkbox"/> Grado 0 1
			<input checked="" type="checkbox"/> Grado 2 3
			<input checked="" type="checkbox"/> Grado 3
SUPURACIÓN			
<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO
			<input checked="" type="checkbox"/> SI
			<input checked="" type="checkbox"/> NO
DOLOR			
<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO
			<input checked="" type="checkbox"/> SI
			<input checked="" type="checkbox"/> NO

PROFUNDIDAD DE BOLSA

(indicar en mm; MV= mesial vestibular; V= vestibular; DV= distovestibular; ML= mesiolingual; L= lingual; DL= distolingual)

MV	V	DV	ML	MV	V	DV	ML	L	MV	V	DV	ML	L	MV	V	DV	ML
L	DL			DL					DL				L	DL			
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				

			SEI-EPI-001	Centro <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Paciente <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fecha de revisión <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Pag 3
---	---	---	-------------	---	--	---	----------

VALORACIÓN DEL IMPLANTE(S) EN EL MOMENTO ACTUAL
(registrar datos de **TODOS** los implantes colocados en la fecha registrada en la página 1)

LOCALIZACIÓN

<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Implante perdido	Implante perdido	Implante perdido	Implante perdido	Implante perdido	Implante perdido	Implante perdido	Implante perdido
<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Fecha __/__/__	Fecha __/__/__	Fecha __/__/__	Fecha __/__/__	Fecha __/__/__	Fecha __/__/__	Fecha __/__/__	Fecha __/__/__

¿Implante inmediato post-extracción?

<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
---	---	---	---	---	---	---	---

¿Utilización de técnicas regenerativas?

<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
---	---	---	---	---	---	---	---

DATOS DEL IMPLANTE (Marca-modelo)

—	—	—	—	—	—	—	—
---	---	---	---	---	---	---	---

Longitud (mm)/ Diámetro (mm)




<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
---	---	---	---	---	---	---	---

Tipo de rehabilitación protésica (redondear lo que corresponda)

Completa / Parcial	Completa / Parcial	Completa / Parcial	Completa / Parcial	Completa / Parcial	Completa / Parcial	Completa / Parcial	Completa / Parcial
Removible / Fija	Removible / Fija	Removible / Fija	Removible / Fija	Removible / Fija	Removible / Fija	Removible / Fija	Removible / Fija

Tipo de retención

<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción	<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción	<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción	<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción	<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción	<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción	<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción	<input checked="" type="checkbox"/> Por fricción
<input checked="" type="checkbox"/> Cementada	<input checked="" type="checkbox"/> Cementada	<input checked="" type="checkbox"/> Cementada	<input checked="" type="checkbox"/> Cementada	<input checked="" type="checkbox"/> Cementada	<input checked="" type="checkbox"/> Cementada	<input checked="" type="checkbox"/> Cementada	<input checked="" type="checkbox"/> Cementada
<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada	<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada	<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada	<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada	<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada	<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada	<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada	<input checked="" type="checkbox"/> Atornillada

			SEI-EPI-001	Centro <input type="text"/>	Paciente <input type="text"/>	Fecha de revisión <input type="text"/>	Pag 4
--	---	---	-------------	-----------------------------	-------------------------------	--	-------

VALORACIÓN DEL IMPLANTE(S) EN EL MOMENTO ACTUAL (Continuación)

LOCALIZACIÓN							
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Tipo de muñón protésico

<input checked="" type="checkbox"/> Colado	<input checked="" type="checkbox"/> Colado	<input checked="" type="checkbox"/> Colado	<input checked="" type="checkbox"/> Colado	<input checked="" type="checkbox"/> Colado	<input checked="" type="checkbox"/> Colado	<input checked="" type="checkbox"/> Colado	<input checked="" type="checkbox"/> Colado
<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado	<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado	<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado	<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado	<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado	<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado	<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado	<input checked="" type="checkbox"/> Mecanizado
<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado	<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado	<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado	<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado	<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado	<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado	<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado	<input checked="" type="checkbox"/> Sobrecolado

NIVEL OSEO

*(Nivel crestal en mm respecto a la conexión pilar-implante; M= mesial; D= distal).
(Valores positivos: coronal a esa unión; valores negativos: apical a esa unión)*

En el momento de la colocación del implante

M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

En el momento actual

M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D	M	D
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>




ÍNDICE DE PLACA

<input type="text"/>

<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm	<input checked="" type="checkbox"/> No placa <input checked="" type="checkbox"/> Reconocible al pasar sonda <input checked="" type="checkbox"/> Visible (1mm) <input checked="" type="checkbox"/> Placa ≥2 mm
--	--	--	--	--	--	--	--

INDICE DE SANGRADO AL SONDAJE

<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo	<input checked="" type="checkbox"/> Ninguno <input checked="" type="checkbox"/> Puntual <input checked="" type="checkbox"/> Confluyente línea mucosa <input checked="" type="checkbox"/> Abundante / Espontáneo
--	--	--	--	--	--	--	--

			SEI-EPI-001	Centro <input type="checkbox"/>	Paciente <input type="checkbox"/>	Fecha de revisión <input type="checkbox"/>	Pag 5
---	---	---	--------------------	--	--	---	--------------

VALORACIÓN DEL IMPLANTE(S) EN EL MOMENTO ACTUAL (Continuación)

LOCALIZACIÓN									
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MOVILIDAD EN LA EXPLORACIÓN									
<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO

SUPURACIÓN

<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

DOLOR

<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	<input checked="" type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

PROFUNDIDAD DE BOLSA							
<i>(indicar en mm; MV= mesial vestibular; V= vestibular; DV= distovestibular; ML= mesiolingual; L= lingual; DL= distolingual)</i>							
MV	V	MV	V	MV	V	MV	V
DV		DV		DV		DV	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ML	L	ML	L	ML	L	ML	L
DL		DL		DL		DL	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ENCÍA QUERATINIZADA							
<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> SI
<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NO	<input type="checkbox"/> NO

ANEXO 2
HOJA DEL INVESTIGADOR

SEI-EPI-001	CENTRO	INVESTIGADOR _____	Página
-------------	--------	--------------------	--------

Fecha implante	Historia clinica	Nombre del paciente	Fecha de la llamada	Acude	N° paciente
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	
				<input checked="" type="checkbox"/> NO	
				<input checked="" type="checkbox"/> SI →	

ANEXO 3
TABLAS DE RESULTADOS
ESTUDIO RETROSPECTIVO

Table 1. Clinical variables distributed by dental plaque index in preserved teeth
Tabla 1. Variables clínicas distribuidas en función del Índice de placa en dientes remanentes.

	Sin placa n=117	Placa presente al sondaje n=133	Placa visible n=85	p
Pérdida de hueso*				
Pérdida de hueso mesial (mm)	2.4 ± 1.4	3.4 ± 1.6	4.3 ± 1.7	<0.001
Distal bone loss (mm)	2.4 ± 1.5	3.6 ± 1.5	4.4 ± 1.5	<0.001
Profundidad de bolsa al sondaje (mm)				
Mesio-vestibular	2.6 ± 1.2	3.4 ± 1.6	4.5 ± 1.7	<0.001
Vestibular	2.1 ± 1.1	2.8 ± 1.6	3.6 ± 1.7	<0.001
Distovestibular	2.8 ± 1.2	3.5 ± 1.5	4.8 ± 1.8	<0.001
Mesio-lingual	2.7 ± 1.1	3.4 ± 1.6	4.3 ± 1.6	<0.001
Lingual	2.2 ± 1.1	2.8 ± 1.6	3.7 ± 1.7	<0.001
Disto-lingual	2.8 ± 1.1	3.5 ± 1.6	4.5 ± 1.7	<0.001
Mobilidad dental (%)	6.0	21.0	56.5	<0.001
Sangrado con el sondaje (%)	27.4	68.4	90.6	<0.001
Dolor (%)	0.0	3.8	5.9	0.007
Supuración (%)	0.0	1.5	8.2	0.001

* En la radiografía panorámica de 2004.

Tabla 2. Variables clínicas distribuidas en función de la pérdida ósea encontrada en los dientes remanentes.

	Pérdida de hueso*			p
	< 3mm (n= 99)	3 - <5 mm	≥5 mm (n= 81)	
(n= 155)				
Indice de Placa (%)				
No placa	61.6	27.7	16.0	<0.001
Presente con sondaje	29.3	48.4	35.8	0.078
Placa visible	9.1	23.9	48.2	<0.001
Prundidad de sondaje (mm)				
Mesio-vestibular	2.4 ± 0.9	3.3 ± 1.3	4.8 ± 2.0	<0.001
Vestibular	1.9 ± 1.0	2.6 ± 1.3	4.0 ± 1.9	<0.001
Distovestibular	2.6 ± 1.0	3.4 ± 1.3	5.0 ± 1.9	<0.001
Mesio-lingual	2.5 ± 1.1	3.2 ± 1.3	4.6 ± 1.9	<0.001
Lingual	2.0 ± 1.0	2.7 ± 1.2	4.1 ± 1.9	<0.001
Disto-lingual	2.6 ± 1.1	3.4 ± 1.2	4.9 ± 1.9	<0.001
Movilidad dental (%)	4.0	21.3	58.0	<0.001
Sangrado al sondaje (%)	40.4	61.9	74.1	<0.001
Dolor (%)	3.1	1.9	4.9	0.443
Supuración (%)	0.0	3.9	3.7	0.147

* En la radiografía panorámica de 2004.

Tabla 3. Variables clínicas distribuidas en función de la presencia de placa en los implantes.

	Sin placa n=145	Placa presente al sondaje n=87	Placa visible n=36	p
Pérdida de hueso				
Pérdida de hueso mesial (mm)	0.5 ± 0.8	1.1 ± 0.9	1.9 ± 1.7	< 0.001
Pérdida de hueso distal (mm)	0.5 ± 0.7	1.3 ± 1.1	2.1 ± 1.6	< 0.001
Profundidad de bolsa al sondaje (mm)				
Mesio-vestibular	2.3 ± 1.2	2.8 ± 1.6	3.5 ± 1.5	< 0.001
Vestibular	1.9 ± 0.9	2.4 ± 1.5	2.6 ± 1.4	< 0.001
Distovestibular	2.2 ± 1.1	3.0 ± 1.7	3.4 ± 1.6	< 0.001
Mesio-lingual	2.2 ± 1.0	2.8 ± 1.6	3.4 ± 1.4	< 0.001
Lingual	1.9 ± 0.9	2.5 ± 1.7	2.5 ± 0.9	0.001
Disto-lingual	2.3 ± 1.1	3.0 ± 1.7	3.4 ± 1.6	< 0.001
Movilidad implantaria (%)	0.7	1.1	0.0	0.852
Sangrado al sondaje (%)	34.5	77.0	83.3	<0.001
Dolor (%)	0.0	1.1	0.0	0.385
Supuración (%)	0.7	3.4	5.6	0.138

Table 4. Variables clínicas distribuidas en función de la pérdida de hueso encontrada en los implantes.

	Pérdida de hueso				p
	≤1 mm	>1 - <2 mm	≥2-<3 mm	≥3 mm	
	(n= 118)	(n= 88)	(n= 47)	(n=15)	
Placa dental (%)					
Sin placa	78.0	46.6	25.5	0.0	<0.001
Placa presentes al sondaje	18.6	40.9	48.9	40.0	<0.001
Placa visible	3.4	12.5	25.6	60.0	<0.001
Profundidad de bolsa (mm)					
Mesio-vestibular	2.3 ± 1.3	2.4 ± 1.2	3.0 ± 1.2	4.1 ± 2.1	<0.001
Vestibular	2.0 ± 1.1	2.0 ± 1.1	2.5 ± 1.1	3.2 ± 1.9	<0.001
Distovestibular	2.2 ± 1.1	2.5 ± 1.2	3.2 ± 1.2	4.4 ± 2.1	<0.001
Mesio-lingual	2.2 ± 1.1	2.5 ± 1.2	3.1 ± 1.2	4.1 ± 2.2	<0.001
Lingual	2.0 ± 1.1	2.1 ± 1.1	2.6 ± 1.3	3.1 ± 1.3	<0.001
Disto-lingual	2.3 ± 1.2	2.5 ± 1.2	3.2 ± 1.2	4.3 ± 2.2	<0.001
Movilidad implantaria (%)	0.8	1.1	0.0	0.0	0.855
Sangrado al sondaje (%)	39.8	59.1	63.8	86.7	<0.001
Dolor (%)	0.0	1.1	0.0	0.0	0.561
Supuración (%)	0.8	1.1	4.3	6.7	0.340

BIBLIOGRAFÍA

1. Berglundh T; Persson L; Klinge B.: "A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years". *J Clin Periodontol* 2002; 29(3):197-212.
2. Jepsen S; Ruling A; Jepsen K; et al.: "Progressive peri-implantitis. Incidence and prediction of peri-implant attachment loss". *Clin Oral Implants Res.* 2002;7(2): 133-142.
3. Adell R; Lekholm U; Rockler B; Branemark P.: "A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw". *Int J Oral Surg* 1981;10: 387-416.
4. Cox JF; Zarb GA.: "The longitudinal clinical efficacy of osseointegrated implants: A 3 year report". *Int J Oral Maxillofacial Implants* 1987;2:91-100.
5. Lekholm U; Adell R; Lindhe J, et al.: "Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium mixtures. A cross-sectional retrospective study". *Int J Oral Maxillofacial Surg* 1986;15:53-61.
6. Roos-Jansaker AM; Lindahl C; Renvert S.: "Nine to fourteen year follow up of implant treatment. Part I: implant loss and associations to various factors". *J Clin Periodontol* 2006;33:283-289.
7. Alsaasi G; Quirynen M; Michiles K.: "Impact of local and systemic factors on the incidence of failures up to abutment connection with modified surface oral implants". *J Clin Periodontol* 2008;35:51-57.
8. Alhag M, Renvert S; Polyzois I, Claffey N.: "Re-osseointegration on rough implant surfaces previously coated with bacteria biofilm: an experimental study in the dog". *Clin Oral Implant Res* 19, 2008;182-187.
9. Esposito M; Hirsch JM; Lekholm U; Thomsen P.: "Biological factor contributing to failures of osseointegrated oral implants (II). Etiopathogenesis.". *Eur J Oral Sci.* 1998;9(5):457-463.
10. Ferreira SD; Silva GL; et al.: "Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects". *J Clin Periodontol.* 2006;33(12):929-35.
11. Roos-Jansaker AM; Lindahl C; Renvert S.: "Nine to fourteen year follow up of implant treatment. Part II: Presence of periimplant lesions". *J Clin Periodontol* 2006;33:290-295.

12. Fransson C; Lekholm U; Jemt T; Berglund T.: "Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants. A 5-20 year retrospective study". Clin Oral Implant Res 2005;16:440-446.
13. "Sixth European Workshop on Periodontology of the European Academy of Periodontology at the Charterhouse at Ittingen, Thurgau, Switzerland". J Clin Periodontol 2008;35(8)
14. Socransky SS, Haffajee AD.: "The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts". J Periodontol 1992;63:322-331.
15. Jongsma MA, Pelsers FD, van der Mei HC, Ateman-Smit J, van de Belt-Gritter B, Busscher HJ, Ren Y.: "Biofilm formation on stainless steel and gold wires for bonded retainers in vitro and in vivo and their susceptibility to oral antimicrobials". Clin Oral Investig. 2012;2.
16. Papaioannou W, Gizani S, Haffajee AD, Quirynen M, Mamai-Homata E, Papagiannoulis L.: "The microbiota on different oral surfaces in healthy children". Oral Microbiol Immunol. 2009;24(3):183-9.
17. Dezelic T, Guggenheim B, Schmidlin PR.: "Multi-species biofilm formation on dental materials and an adhesive patch". Oral Health Prev Dent. 2009;7(1):47-53.
18. Haffajee AD, Smith C, Torresyap G, Thompson M, Guerrero D, Socransky SS.: "Efficacy of manual and powered toothbrushes (II). Effect on microbiological parameters ". J Clin Periodontol. 2001;28(10):947-954.
19. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS.: "Microbial composition of supraand subgingival plaque in subjects with adult periodontitis". J Clin Periodontol. 2000;27(10):722-732
20. Teles FR, Teles RP, Uzel NG, Song XQ, Torresyap G, Socransky SS, Haffajee AD.: "Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease". J Periodontal Res. 2012;47(1):95-104.
21. Gerber J, Wenaweser D, Heitz-Mayfield L, Lang NP, Persson GR.: "Comparison of bacterial plaque samples from titanium implant and tooth surfaces by different methods". Clin Oral Implants Res. 2006;17(1):1-7.
22. Socransky SS, Smith C, Haffajee AD.: " Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease". J Clin Periodontol. 2002;29(3):260-268.

23. Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M.: "Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants". *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(10):975-982.
24. Lie MA, Danser MM, van der Weijden GA, Timmerman MF, de Graaff J, van der Velden U.: "Oral microbiota in subjects with a weak or strong response in experimental gingivitis". *J Clin Periodontol.* 1995;22(8):642-647.
25. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS.: "Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects". *J Clin Periodontol.* 1998;25(5):346-353.
26. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Fernandes CB, de Carvalho-Filho J, Franco GC, Costa FO, Kawai T.: "Etiological analysis of initial colonization of periodontal pathogens in oral cavity". *J Clin Microbiol.* 2008;46(4):1322-1329.
27. Thomasini RL, Bonon SH, Durante P, Costa SC.: "Correlation of cytomegalovirus and human herpesvirus 7 with CD3+ and CD3+ CD4+ cells in chronic periodontitis patients". *J Periodontal Res.* 2012;47(1):114-120.
28. Mombelli A, Marxer M, Gaberthüel T, Grunder U, Lang NP.: "The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease". *J Clin Periodontol.* 1995;22(2):124-130.
29. Kolebrander P.; Palmer R.; Rickard H.; Jakubovics N.; Chalmers N.; Díaz P.: "Bacterial interactions and successions during plaque development". *Periodontology* 2000,42,2006,47-79.
30. Mikihiro Kajiya, Gabriela Giro, Martin A. Taubman, Xiaozhe Han, Marcia P.A. Mayer, and Toshihisa Kawai: "Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease". *J Oral Microbiol.* 2010;2:10.3402.
31. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr.: "Microbial complexes in subgingival plaque". *J Clin Periodontol.* 1998 Feb;25(2):134-144.
32. Socransky SS, Haffajee AD, Dzink JL.: "Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites". *J Clin Periodontol.* 1988;15(7):440-4.
33. Rosenberg ES, Cho SC, Elian N, Jalbout ZN, Froum S, Evian Cl.: "A comparison of characteristics of implant failure and survival in periodontally compromised and periodontally healthy patients: a clinical report". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004;19(6):873-879.

34. Mengel R, Behle M, Flores-de-Jacoby L.: "Osseointegrated implants in subjects treated for generalized aggressive periodontitis: 10-year results of a prospective, long-term cohort study". *J Periodontol.* 2007;78(12):2229-2237.
35. De Boever, A.L. & De Boever, J.A.: "Early colonization of non-submerged dental implants in patients with a history of advance aggressive periodontitis". *Clinical Oral Implants Res.* 2006;17:8-17.
36. Hultin M, Gustafsson A, Hallström H, Johansson LA, Ekfeldt A, Klinge B.: "Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis". *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(4):349-358.
37. Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP.: "The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants". *Oral Microbiol Immunol.* 1987;2(4):145-151.
38. Carcuac O, Jansson L.: "Peri-implantitis in a specialist clinic of periodontology. Clinical features and risk indicators". *Swed Dent J.* 2010;34(2):53-61.
39. Marrone A, Lasserre J, Bercy P, Brex MC.: "Prevalence and risk factors for periimplant disease in Belgian adults". *Clin Oral Implants Res.* 2012;2013.
40. Mombelli A, Décaillet F.: "The characteristics of biofilms in peri-implant disease". *J Clin Periodontol.* 2011;38(11):203-213.
41. Heitz-Mayfield LJ, Lang NP.: "Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis". *Periodontol 2000.* 2010;53:167-181.
42. Serino G, Ström C.: "Peri-implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control". *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(2):169-174.
43. Heitz-Mayfield LJ.: "Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators". *J Clin Periodontol.* 2008;35(8):292-304.
44. Nguyen-Hieu T, Borghetti A, Aboudharam G.: "Peri-implantitis: from diagnosis to therapeutics". *J Investig Clin Dent.* 2012;3(2):79-94.
45. Alissa R, Oliver RJ.: "Influence of prognostic risk indicators on osseointegrated dental implant failure: a matched case-control analysis". *J Oral Implantol.* 2012;38(1):51-61.
46. Rehman A, Hu J, Ott SJ, Grossner-Schreiber B.: "Microbial community composition on modified dental implant surfaces: an in vivo study". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012;27(4):811-819.

47. Kocar M, Seme K, Hren NI.: "Characterization of the normal bacterial flora in periimplant sulci of partially and completely edentulous patients". *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010;25(4):690-698.
48. Casado PL, Otazu IB, Balduino A, de Mello W, Barboza EP, Duarte ME.: "Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites". *Implant Dent*. 2011;20(3):226-235.
49. Lee KH, Maiden MF, Tanner AC, Weber HP.: "Microbiota of successful osseointegrated dental implants". *J Periodontol*. 1999;70(2):131-138
50. Albreksson T., Isidor F.: "Consensus Report: Implan Therapy". In: Niklaus Peter Lang; Thorkild Karring; British Society of Periodontology.: "Proceedings of the First European Workshop on Periodontology". London; Chicago: Quintessence Pub. Co., ©1994.
51. Zitzmann NU, Berglundh T.: "Definition and prevalence of peri-implant diseases". *J Clin Periodontol*. 2008;35(8):286-291.
52. Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S.: "Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part II: presence of peri-implant lesions". *J Clin Periodontol*. 2006;33(4):290-295.
53. Fransson C, Lekholm U, Jemt T, Berglundh T.: "Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants". *Clin Oral Implants Res*. 2005;16(4):440-446.
54. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR.: "The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success". *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986;1(1):11-25.
55. Mombelli A, Lang NP.: "Clinical parameters for the evaluation of dental implants". *Periodontol 2000*.1994;4:81-86.
56. Silness J. & L oe H. "Periodontal disease in pregnancy.II Corelation between oral hygiene and periodontal condition". *Acta Odontologica Scandinavica*. 1964;22,112-135.
57. Lindquist SF, Hickey AJ, Drane JB.: "Effect of oral hygiene on stomatitis in patients receiving cancer chemotherapy". *J Prosthet Dent*. 1978;40:312-314.
58. Lekholm U, Gunne J, Henry P, Higuchi K, Lind en U, Bergstr om C, van Steenberghe D.: "Survival of the Br anemark implant in partially edentulous jaws: a 10-year prospective multicenter study". *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(5):639-645.

59. Abrahamsson I, Soldini C.: "Probe penetration in periodontal and peri-implant tissues. An experimental study in the beagle dog". *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(6):601-605.
60. Gerber JA, Tan WC, Balmer TE, Salvi GE, Lang NP.: "Bleeding on probing and pocket probing depth in relation to probing pressure and mucosal health around oral implants". *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(1):75-78.
61. Luterbacher S, Mayfield L, Brägger U, Lang NP.: "Diagnostic characteristics of clinical and microbiological tests for monitoring periodontal and peri-implant mucosal tissue conditions during supportive periodontal therapy (SPT)". *Clin Oral Implants Res.* 2000;11(6):521-529.
62. Rompen E.: "The impact of the type and configuration of abutments and their (repeated) removal on the attachment level and marginal bone". *Eur J Oral Implantol.* 2012;5(S)83-90.
63. Bateli M, Att W, Strub JR.: "Implant neck configurations for preservation of marginal bone level: a systematic review". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2011;26(2):290-303.
64. Becker K, Mihatovic I, Golubovic V, Schwarz F.: "Impact of abutment material and dis-/re-connection on soft and hard tissue changes at implants with platformswitching". *J Clin Periodontol.* 2012;39(8):774-780.
65. Lang NP, Berglundh T; Working Group 4 of Seventh European Workshop on Periodontology.: "Periimplant diseases: where are we now?. Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology". *J Clin Periodontol.* 2011;38 (11): 178-181
66. Khan S, Cabanilla LL.: "Periodontal probing depth measurement: a review". *Compend Contin Educ Dent.* 2009;30(1):12-4,16,18-21;22, 36.
67. Molina GO, Souza SL, Grisi MF, Novaes AB Jr, Taba M Jr.: "The influence of gingival health status on periodontal probing measurements. A clinical study in humans". *J Int Acad Periodontol.* 2004;6(2):56-62.
68. Etter TH, Håkanson I, Lang NP, Trejo PM, Caffesse RG.: "Healing after standardized clinical probing of the perimplant soft tissue seal: a histomorphometric study in dogs". *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(6):571-580.
69. Benic GI, Mokti M, Chen CJ, Weber HP, Hämmerle CH, Gallucci GO.: "Dimensions of buccal bone and mucosa at immediately placed implants after 7 years: a clinical

- and cone beam computed tomography study". *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(5): 560-566.
70. Boynueğri D, Nemli SK, Kasko YA.: "Significance of keratinized mucosa around dental implants: a prospective comparative study". *Clin Oral Implants Res.* 2012;30.
71. Roos-Jansåker AM, Renvert H, Lindahl C, Renvert S.: "Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part III: factors associated with peri-implant lesions". *J Clin Periodontol.* 2006;33(4):296-301.
72. Siqueira WL, Dawes C.: "The salivary proteome: challenges and perspectives". *Proteomics Clin Appl.* 2011;5(11-12):575-579.
73. Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A.: "Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 β and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis". *J Periodontal Res.* 2012;19.
74. Bascones-Martínez A, Valderrama G, Vijande F, Puyet-Catalina A, Bascones-Ilundain J, Arias-Herrera S, Garrido-Pertierra A.: "Interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal status in a Spanish population". *Mol Med Report.* 2012;5(5):1335-1339.
75. Kao RT, Curtis DA, Richards DW, Preble J.: "Increased interleukin-1 beta in the crevicular fluid of diseased implants". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1995;10(6): 696-701.
76. Andreiotelli M, Koutayas SO, Madianos PN, Strub JR.: "Relationship between interleukin-1 genotype and peri-implantitis: a literature review". *Quintessence Int.* 2008;39(4):289-298.
77. Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti FH.: "Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases". *J Periodontol.* 2009;80(2):234-243.
78. Lamster IB, Kaufman E, Grbic JT, Winston LJ, Singer RE.: "Beta-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters". *J Periodontol.* 2003;74(3):353-359.
79. Armitage GC, Jeffcoat MK, Chadwick DE, Taggart EJ Jr, Numabe Y, Landis JR, Weaver SL, Sharp TJ.: "Longitudinal evaluation of elastase as a marker for the progression of periodontitis". *J Periodontol.* 1994;65(2):120-128.

80. Azmak N, Atilla G, Luoto H, Sorsa T.: "The effect of subgingival controlled-release delivery of chlorhexidine chip on clinical parameters and matrix metalloproteinase-8 levels in gingival crevicular fluid". *J Periodontol.* 2002;73(6): 608-615.
81. Chambers DA, Imrey PB, Cohen RL, Crawford JM, Alves ME, McSwiggan TA.: "A longitudinal study of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid". *J Periodontal Res.* 1991;26(2):65-74.
82. Nakashima K, Giannopoulou C, Andersen E, Roehrich N, Brochut P, Dubrez B, Cimasoni G.: "A longitudinal study of various crevicular fluid components as markers of periodontal disease activity". *J Clin Periodontol.* 1996;23(9):832-838.
83. Brajović G, Stefanović G, Ilić V, Petrović S, Stefanović N, Nikolić-Jakoba N, Milosević-Jovčić N.: "Association of fibronectin with hypogalactosylated immunoglobulin G in gingival crevicular fluid in periodontitis". *J Periodontol* 2010;81(10):1472-1480.
84. Grbic JT, Singer RE, Jans HH, Celenti RS, Lamster IB.: "Immunoglobulin isotypes in gingival crevicular fluid: possible protective role of IgA". *J Periodontol.* 1995;66(1): 55-61.
85. Hanioka T, Matsuse R, Shigemoto Y, Ojima M, Shizukuishi S.: "Relationship between periodontal disease status and combination of biochemical assays of gingival crevicular fluid". *J Periodontal Res.* 2005;40(4):331-338.
86. de Lima Oliveira AP, de Faveri M, Gursky LC, Mestnik MJ, Feres M, Haffajee AD, Socransky SS, Teles RP.: "Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects". *J Clin Periodontol.* 2012;39(3): 295-302.
87. Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B, Wagner W.: "Hard and soft tissue reactions to ITI screw implants: 3-year longitudinal results of a prospective study". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12(6):749-757.
88. Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B.: "The longitudinal clinical effectiveness of ITI solid-screw implants in partially edentulous patients: a 5-year follow-up report". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(5):633-645.
89. Teles FR, Teles RP, Uzel NG, Song XQ, Torresyap G, Socransky SS, Haffajee AD.: "Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease". *J Periodontal Res.* 2012;47(1):95-104.

90. Uzel NG, Teles FR, Teles RP, Song XQ, Torresyap G, Socransky SS, Haffajee AD.: "Microbial shifts during dental biofilm re-development in the absence of oral hygiene in periodontal health and disease". *J Clin Periodontol.* 2011;38(7): 612-620.
91. Van Winkelhoff A.J. & Winkel E.G.: "Microbiological diagnostics in periodontics: biological significance and clinical validity". *Periodontology* 2000, 39, 2005, 40–52
92. Lachmann S, Stehberger A, Axmann D, Weber H.: "The peri-implant health in patients attending an annual recall program. A clinical and microbiological study in 74 patients from the Tübingen Implant Registry". *Clin Oral Implants Res.* 2012;20.
93. Shaddox LM, Huang H, Lin T, Hou W, Harrison PL, Aukhil I, Walker CB, Klepac-Ceraj V, Paster BJ.: "Microbiological Characterization in Children with Aggressive Periodontitis". *J Dent Res.* 2012;3.
94. Eick S, Pietkiewicz M, Sculean A.: "Oral microbiota in Swiss adolescents". *Clin Oral Investig.* 2012;28.
95. Polak D, Shapira L, Weiss EI, Hourri-Haddad Y.: "The role of coaggregation between *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* on the host response to mixed infection". *J Clin Periodontol.* 2012;39(7):617-625.
96. Esposito M, Grusovin MG, Worthington HV.: "Treatment of peri-implantitis: what interventions are effective? A Cochrane systematic review". *Eur J Oral Implantol.* 2012;5(S)21-41.
97. Apatzidou DA.: "Modern approaches to non-surgical biofilm management". *Front Oral Biol.* 2012;15:99-116.
98. Zambon JJ, Haraszthy VI.: "The laboratory diagnosis of periodontal infections". *Periodontol* 2000. 1995;7:69-82.
99. Tian Y, He X, Torralba M, Yooseph S, Nelson KE, Lux R, McLean JS, Yu G, Shi W. : "Using DGGE profiling to develop a novel culture medium suitable for oral microbial communities". *Mol Oral Microbiol.* 2010;25(5):357-367.
100. Subramani K, Jung RE, Molenberg A, Hammerle CH.: "Biofilm on dental implants: a review of the literature". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24(4):616-626.
101. Tawakoli PN, Al-Ahmad A, Hoth-Hannig W, Hannig M, Hannig C.: "Comparison of different live/dead stainings for detection and quantification of adherent microorganisms in the initial oral biofilm". *Clin Oral Investig.* 2012;21.

102. Offenbacher S, Barros SP, Singer RE, Moss K, Williams RC, Beck JD.: "Periodontal disease at the biofilm-gingival interface". J Periodontol. 2007;78(10): 1911-1925.
103. Wolf, L.F.; anderson, L.; Sandberg, g.P.: "Bacterial concentration fluorescence immunoassay (BCFIA) for the detection of periodontal pathogens in plaque." J Periodontol 1991;63:1093-1101.
104. Chaves ES, Jeffcoat MK, Ryerson CC, Snyder B.: "Persistent bacterial colonization of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy". J Clin Periodontol. 2000;27(12):897-903
105. Snyder, B.; Zambon, J.J.; Reynolds, H.: "Clinical significance of Evalusite™ periodontal test sensitivity in adult periodontitis." J Dent Res 1994;73:305-312.
106. di Rienzo, J.M.; Slots, J.; Sixon, M.; Sol, M.a.; Harmon, R.; Mc Koy, t.L.: "Specific antigenic variants of actinobacillus actinomycetemcomitans correlate with disease and health in a regional population of families with localized juvenile periodontitis." Infect Immun. 1994;62:3058-3065.
107. Los Alamos National Laboratory Bioscience Division Oral Pathogens Sequence Databases (<http://semiglobe.lanl.gov>).
108. Izquierdo, M.: "Transferencia génica a organismos enteros". En: Izquierdo M. Ed. Ingeniería genética y transferencia génica. 1a Edición. Madrid. Pirámide. 1999:239-280. "Ingeniería genética y transferencia génica". Ed Pirámides S.A. 1999;85-99.
109. Saygun I, Kubar A, Sahin S, Sener K, Slots J.: "Quantitative analysis of association between herpesviruses and bacterial pathogens in periodontitis". J Periodontal Res. 2008;43(3):352-359.
110. Yuan, K.; Hsu, P.; tseng, Ch.C.; Kiang, d.; Wang, J.: "Detection rate of actinobacillus actinomycetemcomitans on the permanent first molars of primary school children in Taiwan by polymerase chain reaction." J Clin Periodontol 2001;28:348-352.
111. Lee HJ, Kim JK, Cho JY, Lee JM, Hong SH.: "Quantification of subgingival bacterial pathogens at different stages of periodontal diseases". Curr Microbiol. 2012 Jul;65(1):22-7. Epub 2012;13.

112. Griffen, A.L.; Leys, E.S.; Fuerst, P.A.: "Strains identification of actinobacillus actinomycetemcomitans using the polimerasa chain reaction." Oral Microbial Immunolog. 1997;7:240-243.
113. Loomer.P.: "Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases." Periodontology 2000. 2004;34:49-56.
114. He J, Huang W, Pan Z, Cui H, Qi G, Zhou X, Chen H.: "Quantitative analysis of microbiota in saliva, supragingival, and subgingival plaque of Chinese adults with chronic periodontitis". Clin Oral Investig. 2011;16.
115. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. "Real time quantitative PCR". Genome Res 1996;6:986-994.
116. Lyons SR, Griffen AL, Leys EL. "Quantitative real time PCR for Porphyromonas gingivalis and total bacteria". J Clin. Microbiol. 2000;38:2362- 2365
117. Martin FE, Nadkani MA, Jacques NA, Hunter N. "Quantitative microbiologicals study of human carious dentine by culture and real time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis". J Clin Microbiol. 2002; 40:1698-1704.
118. Nadkani MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. "Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers". Microbiology . 2002;148:257-266.
119. Lamont R.J. : "Oral Microbiology and Immunology" . ASM Press (2006).
120. Costa, Joseph. "Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real". Enferm. Infec. Microbiol. Clin. 2004; 22 (5): 299-305
121. Morillo, J. M., Lau, L., Sanz, M., Herrera, d. & Silva, a. "Quantitative real-time PCR based on single copy gene sequence for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis". Journal of Periodontal Research. 2003;38:518-524.
122. Loesche, N.J.; Lopatin, D.E.; giordano, J.; alcoforado, G.; Hujoel, P.: "Comparison of the benzoil-DL-arginine naphthy lamide (BANA) test, DNA probes and immunological regents for ability to detect anaerobic periodontal infections due to Porphyromonas gingivalis, bacteroides forsythus and Treponema denticola". J Clin Periodontol 1992;30:427-433.

123. Karoussis IK, Müller S, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Brägger U, Lang NP.: "Association between periodontal and peri-implant conditions: a 10-year prospective study". *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(1):1-7.
124. Salvi GE, Lang NP.: "Diagnostic parameters for monitoring peri-implant conditions". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004;19:116-127.
125. Hardt CR, Gröndahl K, Lekholm U, Wennström JL.: "Outcome of implant therapy in relation to experienced loss of periodontal bone support: a retrospective 5- year study". *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(5):488-494.
126. Papaspyridakos P, Chen CJ, Singh M, Weber HP, Gallucci GO.: "Success criteria in implant dentistry: a systematic review". *J Dent Res.* 2012;91(3):242-248.
127. Berglundh T, Persson L, Klinge B.: "A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years". *J Clin Periodontol.* 2002;29 (3):197-212; discussion 232-233.
128. Dursun E, Tulunoglu I, Canpinar P, Uysal S, Akalın FA, Tözüm TF.: "Are marginal bone levels and implant stability/mobility affected by single-stage platform switched dental implants? A comparative clinical study". *Clin Oral Implants Res.* 2011;8.
129. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Cardoso de Oliveira MR.: "Clinical evaluation of abutment teeth of removable partial denture by means of the Periotest method". *J Oral Rehabil.* 2007;34(3):222-227.
130. Oh JS, Kim SG.: "Clinical study of the relationship between implant stability measurements using Periotest and Osstell mentor and bone quality assessment". *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113(3):e35-40.
131. Barewal RM, Stanford C, Weesner TC: "A randomized controlled clinical trial comparing the effects of three loading protocols on dental implant stability". *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012;27(4):945-956.
132. Magno Filho LC, Cirano FR, Hayashi F, Hsu FS, Alexandre C, Dib L, Casati MZ.: "Assessment of the Correlation between Insertion Torque and Resonance Frequency Analysis of Implants placed in Bone Tissue of Different Densities". *J Oral Implantol.* 2012;16.
133. Patel K, Mardas N, Donos N.: "Radiographic and clinical outcomes of implants placed in ridge preserved sites: a 12-month post-loading follow-up". *Clin Oral Implants Res.* 2012;3.

134. Fernández-Formoso N, Rilo B, Mora MJ, Martínez-Silva I, Díaz-Afonso AM.: “Radiographic evaluation of marginal bone maintenance around tissue level implant and bone level implant: a randomised controlled trial. A 1-year follow-up”. *J Oral Rehabil.* 2012;13.
135. Saulacic N, Abboud M, Pohl Y, Wahl G.: “Clinical and radiographic outcome of dental implants supporting fixed prostheses: the relevance of cortical bone formation”. *Implant Dent.* 2012;21(4):323-329.
136. Brägger U, Bürgin W, Lang NP, Buser D.: “Digital subtraction radiography for the assessment of changes in peri-implant bone density”. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1991;6(2):160-166.
137. Carneiro LS, da Cunha HA, Leles CR, Mendonça EF.: “Digital subtraction radiography evaluation of longitudinal bone density changes around immediate loading implants: a pilot study”. *Dentomaxillofac Radiol.* 2012 Mar;41(3):241-247.
138. Abrahamsson, I., Berglundh, T. & Lindhe, J. (1998): “Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog”. *Clinical Oral Implant Research* 9, 73-79.
139. Berglundh, T., Gotfredsen, K., Zitzmann, N.U., Lang, N.P., & Lindhe, J.: “Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface roughness: an experimental study in dogs”. *Clinical Oral Implant Research.* 2007;18:655-661.
140. Pye A.D., Lockhart D.E.A, Dawson M.P., Murray C.A. Smith A.J.: “A review of dental implants and infection”. *Journal of Hospital Infection.* 2009; 72:104-110.
141. Cabal, B., Cafini, F., Esteban-Tejada, L., Alou, L., Bartolomé, J., Sevillano, D., López-Píriz, R., Torrecillas, R., Moya, J.S. (2012) Inhibitory effect on in vitro *Streptococcus oralis* biofilm of a soda-lime glass containing silver nanoparticles coating on titanium alloy. Accepted for publication on PlosOne.
142. Zhao L, Chu PK, Zhang Y, Wu Z.: “Antibacterial Coatings on Titanium Implants”. *J Biomed Mater Res.* 2009; Part B: Appl Biomater 91B: 470–480.
143. Dueland R., Spadaro J.A., Rahn B.A.: “Silver antibacterial bone cement, comparison with gentamicin in experimental osteomyelitis”. *Clin Orthop Relat Res.* 1982; 69:264-268.
144. Vik H., Andersen K.J., Julshamn K., Todnem K.: “Neuropathy caused by silver absorption from artroplasy cement”. *Lancet.* 1985; 1(8433):872-872.

145. Sudmann E., Vik H., Rait M., Todnem K., Andersen K.J., Julsham K. et al: "Systemic and local silver accumulation after total hip replacement using silverimpregnated bone cement". *Med Prog Technol.* 1994; 20(3-4):179-184.
146. Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.H., Park S.J. et al: "Antimicrobial effects of silver nanoparticles". *Nanomedicine.* 2007;3(1):95-101.
147. Fang M., Chen J.H., Xu K.N. Yang P.H., Hildebrand H.F.: "Antibacterial activities of inorganic agents on ix bacteria associated with oral infections by two susceptibility test". *Int J Antimicrob Agents.* 2006;27(6):513-517.
148. Ericsson I., Lindhe J., Rylander H., Okamoto H. (1975) Experimental periodontal breakdown in the dog. *Scandinavian Journal of Dental Research* 83,189-192.
149. Lindhe, J., Berglundt, T., Ericsson, I., Liljenberg, B. & Marianello, C.P.: "Experimental breakdown of peri implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog". *Clinical Oral Implants Research.* 1992;3:9-16.
150. Schou, S., Holmstrup, P., Stolze, K., Hjørting-Hansen, E. & Kornman, K.S.: "Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teth. Clinical and radiographic observations in cynomolgus monkeys". *Clinical Oral Implants Research.* 1993;4:12-22.
151. Tomsia A.P., PAsk J.A.,: "Chemical reactions and adherence at glass/metal interfases:an analysis". *Dent Mater.* 1986;2(1):10-6.
152. Saiz E., Cannon R.M., Tomsia A.P.: "High-temperature wetting and the work of adhesion in metal/oxide systems". *Ann Rev Mater Res.* 2008;38:197-226.
153. Randall M.G.: "Sintering theory and practice". *Jonh Wiley and Sons;*1996.
154. Murray J.L., Bhansali J.K.,: "The Ag-Ti system". *Bull Alloy Phase Diagrams.* 1983;4(2):178-183.
155. Vann Loo F.J.J., Rinjders M.R., Rönca K.J., Gülpen J.H., Kodentsov A.A.: "Solid state diffusion and reactive phase formation". *Solid State Ionics.* 1997;95(1-2): 95-106.
156. Panacek A, Kolar M., Vecerova R., Pucek R., Soukupova J., Krystof V. et al.: "Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp". *Biomaterials.* 2009;30(31):6333-6340.
157. Song WH., Ryu HS., Hong SH.: "Antibacterial properties of Ag (or Pt)-containing calcium phosphate coatings formed by micro-arc oxidation". *J Biomed Mater Res A.* 2008;88:246-254.

158. Bürgers R., Gerlasch T., Hahnel S., Schwarz F., Handel G. et al.: "In vivo and in vitro biofilm formation on two different titanium implant surfaces". *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(2):156-64.
159. Ahmed AA., Ali AA., Mahmoud DAR., El-Fiqui AM.: "preparation and characterization of antibacterial P_2O_5 -CaO- Na_2O - Ag_2O glasses". *Journal of Biomedical Mater Res. A.* 2011;98A:132-42.
160. Moya J.S., Esteban-Tejada L., Pecharromás C., Mello-Castanho SRH, da Silva AC et al.: "Glass powders with a high content of calcium oxide: A step towards a green universal biocide". *Advanced Engineering Materials.* 2011;13(B):256-260.
161. Mendonça G, Mendonça DB, Aragão FJ, Cooper LF.: "Advancing dental implant surface technology--from micron- to nanotopography". *Biomaterials.* 2008;29(28): 3822-35. Garg A, Guez G.: "Nanotechnology: The science of small". *Dent Implantol Update.* 2011;22(4):41-44.
162. Garg A, Guez G.: "Nanotechnology: The science of small". *Dent Implantol Update.* 2011;22(4):41-44.
163. Lindhe, Jan. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica.* 5ª Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana (2009).
164. Esteban-Tejada L., Cabal B., Malpartida F., López-Piriz R., Torrecillas R., Saiz E., Tomsia A.P., Moya J.S.: "Soda-lime glass-coating containing silver nanoparticles on Ti-6Al-4V alloy". *J European Ceramic Society.* 2012;32:2723-2729.

**ARTÍCULOS PUBLICADOS
RELACIONADOS CON ESTA TESIS**

Journal section: *Clinical and Experimental Dentistry*
Publication Types: *Research*

doi:10.4317/medoral.17999
<http://dx.doi.org/doi:10.4317/medoral.17999>

Correlation between clinical parameters characterising peri-implant and periodontal health: A practice-based research in Spain in a series of patients with implants installed 4-5 years ago

Roberto Lopez-Piriz¹, Araceli Morales¹, Maria-Jose Giménez², Antonio Bowen¹, Rafael Carroquino¹, Lorenzo Aguilar², Ignacio Corral¹, Cora del Val¹, Inmaculada González¹, Luis-Maria Ilzarbe¹, Juan-Ramon Maestre³, Esteban Padullés¹, Francisco Torres-Lear^{1,4}, Juan-Jose Granizo⁵, Fidel San-Román^{1,6}, Sofia Hernández³, Jose Prieto² (SEIRN group)

¹ Sociedad Española de Implantes, Madrid, Spain

² Microbiology Department, School of Medicine, Universidad Complutense, Madrid & PRISM-AG, Madrid, Spain

³ School of Dentistry, Universidad Alfonso X El Sabio, Madrid, Spain

⁴ School of Dentistry, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, Spain

⁵ Grana Datos, Madrid, Spain

⁶ Surgery Department, School of Veterinary, Universidad Complutense, Madrid, Spain

Correspondence:

Sociedad Española de Implantes (SEI)

Orense 51, Bajo C,

28020 Madrid, Spain,

dra.morales@mediest.es, presidencia@sociedadsei.com

Received: 07-10-2011

Accepted: 27-11-2011

Please cite this article in press as: Lopez-Piriz R, Morales A, Giménez MJ, Bowen A, Carroquino R, Aguilar L, Corral I, del Val C, González I, Ilzarbe LM, Maestre JR, Padullés E, Torres-Lear F, Granizo JJ, San Román F, Hernández S, Prieto J. Correlation between clinical parameters characterising peri-implant and periodontal health: A practice-based research in Spain in a series of patients with implants installed 4-5 years ago.

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. (2011), doi:10.4317/medoral.17999

Abstract

Objectives: To explore peri-implant health (and relation with periodontal status) 4-5 years after implant insertion.

Study Design: A practice-based dental research network multicentre study was performed in 11 Spanish centres. The first patient/month with implant insertion in 2004 was considered. Per patient four teeth (one per quadrant) showing the highest bone loss in the 2004 panoramic X-ray were selected for periodontal status assessment. Bone losses in implants were calculated as the differences between 2004 and 2009 bone levels in radiographs.

Results: A total of 117 patients were included. Of the 408 teeth considered, 73 (17.9%) were lost in 2009 (losing risk: >50% for bone losses ≥ 7 mm). A total of 295 implants were reviewed. Eight of 117 (6.8%) patients had lost implants (13 of 295 implants installed; 4.4%). Implant loss rate (quadrant status) was 1.4% (edentulous), 3.6% (preserved teeth), and 11.1% (lost teeth) ($p=0.037$). The percentage of implant loss significantly ($p<0.001$) increased when the medial/distal bone loss was ≥ 3 mm. The highest ($p\leq 0.001$) pocket depths were found in teeth with ≥ 5 mm and implants with ≥ 3 mm bone losses, with similar mean values (≥ 4 mm), associated with higher rates of plaque index and bleeding by probing.

Conclusions: The significant bi-directional relation between plaque and bone loss, and between each of these two parameters/signs and pocket depths or bleeding (both in teeth and implants, and between them) together with the higher percentage of implants lost when the bone loss of the associated teeth was ≥ 3 mm suggest that the patient's periodontal status is a critical issue in predicting implant health/lesion.

Key words: *Implants, periimplantitis, periodontitis, oral health, practice-based research.*



Radiologic evaluation of bone loss at implants with biocide coated titanium abutments: A study in the dog.

Journal:	<i>Journal of Clinical Periodontology</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Animal Experiment
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Lopez-Piriz, Roberto; Nanomaterials and Nanotechnology Research Center (CINN-CSIC) – Universidad de Oviedo (UO) – Principado de Asturias, Sola-Linares, Eva; Advanced Oral Surgery Institute, Granizo, Juan-Jose; Advanced Oral Surgery Institute, Diaz-Guemes, Idoia; Minimally Invasive Surgery Centre Jesus Uson, Laparoscopy Enciso, Silvia; Minimally Invasive Surgery Centre Jesus Uson, Laparoscopy Bartolome, Jose; Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM). Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (CSIC), Cabal, Belen; Nanomaterials and Nanotechnology Research Center (CINN-CSIC) – Universidad de Oviedo (UO) – Principado de Asturias, Esteban-Tejada, Leticia; Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM). Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (CSIC), Torrecillas, Ramon; Nanomaterials and Nanotechnology Research Center (CINN-CSIC) – Universidad de Oviedo (UO) – Principado de Asturias, Moya, Jose; Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM). Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (CSIC),
Topic:	Implantology
Keywords:	Periodontal disease, Peri-implantitis, Prevention, Anti-infective agents, Biofilm
Main Methodology:	Animal Model

SCHOLARONE™
Manuscripts

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

Journal of the European Ceramic Society 32 (2012) 2723–2729

www.elsevier.com/locate/jeurceramsoc

Soda-lime glass-coating containing silver nanoparticles on Ti–6Al–4V alloy

L. Esteban-Tejeda^a, B. Cabal^{a,*}, F. Malpartida^b, R. López-Piriz^c, R. Torrecillas^c,
E. Saiz^d, A.P. Tomsia^e, J.S. Moya^a

^a Department of Biomaterials and Bioinspired Materials, Materials Science Institute of Madrid (ICMM-CSIC), Cantoblanco, Madrid 28049, Spain

^b Department of Microbial Biotechnology, National Center for Biotechnology (CNB-CSIC), Cantoblanco, Madrid 28049, Spain

^c Nanomaterials and Nanotechnology Research Center (CINN-CSIC-UO-PA), Parque Tecnológico de Asturias, Llanera 33428, Spain

^d Centre for Advanced Structural Ceramics, Department of Materials, Imperial College London, Exhibition Road, London, UK

^e Materials Sciences Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720, USA

Available online 18 March 2012

Abstract

The prevention and treatment of post-surgical infections is an ongoing concern. Post-surgical infections often cannot be treated with commercially available antibiotic-loaded bone cement as because higher doses of antibiotics are required. We describe here an approach to prevent implant infection through the use of glass coatings combined with silver nanoparticles deposited by sedimentation and heat-treated at 980 °C on titanium alloys. Silver is nontoxic to the human tissue and has been used as an anti-infective for centuries. The glass/silver coatings are composed of a soda-lime glassy matrix containing silver nanoparticles ranging from 2.6 to 20 wt.%. Optimum firing conditions have been determined for the fabrication of coatings that adhere well to the metal implant. These final coatings do not crack or delaminate. The biocidal activity of these coatings was also investigated. Coatings containing 20 wt.% of silver nanoparticles exhibited excellent biocidal activity ($\log \eta > 5$) against Gram+, Gram– bacteria, and yeast after 24 h.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Titanium alloy; Silver nanoparticles; Glass; Biocide; Medical implants

1. Introduction

Medical implants are becoming more common in industrialized societies as their population size and life expectancies increase. Around 25 million of Americans have at least one medical implant.¹ In 2003, more than 700,000 dental implant procedures were performed in the United States; more than 1.3 million were performed in Europe.² In 2006, it was reported that approximately 1 million artificial hips and knees were being implanted each year in the United States.³ Hip and knee replacements have a success rate of more than 90%, and dental implants fare better, at 90–95%.⁴ However, metallic implants are prone to infections following surgery and are significant cause of morbidity^{5,6}; and billions of dollars are spent annually to treat infectious diseases. Infections of the implants, very often in the form of biofilm, are the most common of complications

and occur in 1–4% of cases.⁷ A biofilm is an accumulation of microorganisms (bacteria, fungi, etc.) and cannot be easily eliminated from an implant. Despite the availability of excellent (albeit toxic) antibiotics such as imipenem and tobramycin, a joint replacement infection will often require removal of the implanted joint.^{8,9} Antibiotic-loaded cement is frequently used when revision surgery is necessary. However some clinicians have raised concerns about its cost, the risk of developing antibiotic resistant strains of bacteria, and the potential for long-term mechanical failure.^{10–15} While the percentage of failure for dental implants is very low – approximately 5% – it is typically the result of infection, accelerated bone loss, or poor osseointegration with loosening of the implant.⁴ Therefore, prevention of biofilm formation around dental implants is important, as it may cause periimplantitis, an infection that constitutes the most important risk for bone loss and affect the long time survival of the implants.⁴

Because of their high strength, hardness, and superior fracture and fatigue resistance, metallic materials such as Ti-based alloys, CoCr-based alloys, or stainless steel are presently regarded as

* Corresponding author.

E-mail address: b.cabal@cinn.es (B. Cabal).

Inhibitory effect on in vitro Streptococcus oralis biofilm of a soda-lime glass containing silver nanoparticles coating on titanium alloy
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Article
Full Title:	Inhibitory effect on in vitro Streptococcus oralis biofilm of a soda-lime glass containing silver nanoparticles coating on titanium alloy
Short Title:	Effect of glass-nAg coating on S.oralis biofilm
Corresponding Author:	Belén Cabal Nanomaterials and Nanotechnology Research Center (CINN) Llanera, SPAIN
Keywords:	Biofilm; Streptococcus oralis; Silver nanoparticles; Titanium alloy; Glass; Periodontitis; Medical implants.
Abstract:	This paper reports the effect of silver doped glass coating on the viability of an in vitro biofilm of Streptococcus oralis. Three strains (ATCC 35037 and two clinical isolates from periodontitis patients) were grown on coated with silver doped glass and uncoated titanium alloy disks. Two different methods were used to quantify biofilm formation abilities: crystal violet staining and determination of viable counts. The influence of the surface morphology on the cell attachment was studied. The surface morphology was characterized by scanning electron microscopy (SEM) and using a profilometer. SEM was also used to study the formation and the development of biofilm on the coated and uncoated disks. At least a > 99.7% inocula reduction of biofilm respect to titanium disks was observed in the silver doped glass coated disks for all the studied strains. A quantitative evaluation of the release of silver was conducted in vitro to test whether and to what extend the biocidal agent (silver) could leach from the coating. These findings suggest that the biofilm formation of S. oralis strains is highly inhibited by the silver doped glass and may be useful for materials which require durable antibacterial effect on their surfaces, as it is the case of dental implants.
Order of Authors:	Belén Cabal Fabio Cafini Leticia Esteban-Tejeda Luís Alou José Bartolomé David Sevillano Roberto López-Piriz Ramón Torrecillas José Serafin Moya
Suggested Reviewers:	José Enrique Yuste Centro Nacional de Microbiología jyuste@isciii.es Arturo Martínez Universidad de Santiago de Compostela arturo.martinez@usc.es
Opposed Reviewers:	