



CENTRO INTERNACIONAL DE ESTUDOS
DE DOUTORAMENTO E AVANZADOS
DA USC (CIEDUS)

TESE DE DOUTORAMENTO

**TRATAMENTO MECÁNICO E
QUÍMICO DA PERIIMPLANTITE
EXPERIMENTAL. ESTUDO
CONTROLADO PRECLÍNICO “IN VIVO”**

**Tratamiento mecánico y químico de la periimplantitis
experimental. Estudio controlado preclínico “in vivo”**

Cristina Carral Freire

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL
PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN ODONTOLOXÍA

SANTIAGO DE COMPOSTELA / LUGO

ANO 2017



DECLARACIÓN DA AUTORA DA TESE
Tratamento mecánico e químico da periimplantite experimental. Estudo controlado preclínico "in vivo"

Dna. Cristina Carral Freire

Presento a miña tese, seguindo o procedemento axeitado ao Regulamento, e declaro que:

- 1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
- 2) De selo caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
- 3) A tese é a versión definitiva presentada para a súa defensa e coincide coa versión enviada en formato electrónico.
- 4) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.

En Santiago de Compostela, a 20 de novembro de 2017

Asdo. 





AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR / TITOR DA TESE
[Tratamento mecánico e químico da periimplantite experimental.
Estudo controlado preclínico "in vivo"]

D. JUAN BLANCO CARRIÓN

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna. Cristina Carral Freire, baixo a miña dirección, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En Santiago de Compostela a 20 de Novembro de 2017

Asdo: Prof. Juan Blanco Carrión



A mis padres, María Luisa y Xose Antón.
A mis hermanas, María y Ana.
A Juan, mi compañero.



AGRADECIMIENTOS:

El inicio de esta Tesis Doctoral, hace algo más de cinco años, coincidió con mi último año como alumna en el Máster de Periodoncia de la Universidad de Santiago de Compostela. Corría el año 2012, y la primera promoción de dicho máster estaba a punto de finalizarlo.

Entre la incertidumbre y la ilusión de un fin de ciclo me enrolé en un nuevo reto académico, comenzar mi etapa investigadora con un estudio experimental “in vivo”, dirigido por mi mentor y maestro, el Profesor Juan Blanco.

Han sido muchas las personas que de una u otra forma me han ayudado en esta etapa y se han involucrado conmigo en este proyecto, y por ello quiero expresar aquí mi profundo agradecimiento a todas ellas.

Al Dr. Juan Blanco, mi PROFESOR, por todo lo que me has enseñado. Gracias por confiar en mí, por dejarme formar parte de tu equipo y acogerme en tu “casa”, por guiarme dentro de esta profesión en constante cambio, y por todo lo que estoy segura seguiré aprendiendo a tu lado, en la Universidad o en el Terra-Nosa. Gracias.

Al Dr. Antonio Liñares, porque tú fuiste el primero en hablarme del apasionante mundo de la periimplantitis.

Al Dr. Santiago Mareque y a mi compañera, la Dra. Olalla Argibay, por vuestra inestimable ayuda en nuestros múltiples viajes a Lugo, ciclogénesis explosivas incluidas.

Al Dr. Fernando Muñoz, por tus preciosas histologías y por tu infinita paciencia, tu amabilidad y tu calma.

A la Dra. Elena Figuero, porque antes de conocerte no tenía ni idea de bioestadística.

A la Dra. María Permuy, por tus correos aclaratorios.

A Juan Cuns, porque también participaste. Por los cafés. Gracias.

Al departamento de pacientes especiales y en especial al Dr. Pedro Diz, por dejarnos tus instalaciones para guardar nuestras muestras.

A mi familia.

A mis padres Luisa y Xose, porque me lo habéis dado todo y todo os lo debo.

A mis hermanas, María y Ana, porque nuestros éxitos siempre serán compartidos.

A Juan, porque lo mío es tuyo, por ser mi compañero, mi confidente, mi colega, mi espejo.



ÍNDICE

1. Resumen en castellano	21
2. Resumen en gallego	25
3. Resumen en inglés	29
4. Introducción.....	33
5. Justificación, hipótesis y objetivos	53
6. Material y métodos	57
6.1 Consideraciones éticas	57
6.2 Animales de experimentación	57
6.3 Alojamiento y crianza	58
6.4 Diseño del estudio	58
6.5 Procedimiento experimental	60
6.5.1 Fases quirúrgicas	60
6.5.2 Variables clínicas	66
6.5.3 Variables radiológicas	68
6.5.4 Análisis histológico	70
6.5.5 Análisis estadístico	73
7. Resultados	77
7.1 Resultados clínicos	77
7.2 Resultados radiológicos	80
7.3 Resultados histomorfométricos	83
7.3.1 Tejidos blandos	83
7.3.2 Tejidos duros	84
8. Discusión	89
9. Conclusiones	101
10. Bibliografía	105
11. Anexo 1	119
12. Anexo 2	123
13. Anexo 3	135
14. Anexo 4.....	143

1. RESUMEN EN CASTELLANO



1. RESUMEN EN CASTELLANO

TÍTULO:

Tratamiento mecánico y químico de la periimplantitis experimental. Estudio controlado preclínico “*in vivo*”.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto combinado de un cepillo de titanio con el uso concomitante de agentes químicos en el tratamiento quirúrgico de la periimplantitis experimental.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se colocaron 6 implantes en la mandíbula de 8 perros Beagle (unidad de análisis), tres meses después de la extracción de todos los premolares mandibulares.

La periimplantitis experimental se indujo durante los siguientes 3 meses. Los defectos óseos resultantes fueron aleatoriamente asignados a 3 grupos de tratamiento: 1) TiBrushTM + hipoclorito de sodio + clorhexidina (TBH), 2) TiBrushTM + clorhexidina (TB), 3) punta de ultrasonidos + clorhexidina (US). El implante distal en cada hemimandíbula fue usado como control, y en él no se realizó ningún tratamiento.

Tres meses después de la cicatrización se tomaron medidas clínicas, radiológicas e histológicas.

RESULTADOS:

Todos los métodos de descontaminación consiguieron una mejoría estadísticamente significativa de todos los parámetros clínicos y radiológicos estudiados. El análisis histomorfométrico reveló diferencias entre los grupos de tratamiento en términos de altura de hueso reticular (variable principal del estudio), pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Sin embargo si hubo diferencias entre los grupos en relación a la inflamación, profundidad del defecto óseo y relleno del defecto, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos 1 (TBH) y 2 (TB).

CONCLUSIONES:

La resolución de la periimplantitis después de la cirugía de acceso y la descontaminación de la superficie de los implantes con los cepillos de titanio y el empleo o no de hipoclorito de sodio es posible. Sin embargo el empleo concomitante de hipoclorito de sodio tiene un efecto muy limitado en los resultados del tratamiento.

PALABRAS CLAVE:

Periimplantitis experimental, descontaminación, tratamiento, estudio preclínico “in vivo”.



2. RESUMEN EN GALLEGO





2.RESUMO EN GALEGO

TÍTULO:

Tratamento mecánico e químico da periimplantite experimental. Estudo controlado preclínico “*in vivo*”.

OBXECTIVO:

O obxectivo deste estudo foi avaliar o efecto combinado dun cepillo de titanio co uso concomitante de axentes químicos no tratamento cirúrxico da periimplantite experimental.

MATERIAL E MÉTODOS:

Colocáronse 6 implantes na mandíbula de 8 cans Beagle (unidade de análise), tres meses despois da extracción de todos os premolares mandibulares.

A periimplantite experimental indúxose durante os seguintes 3 meses. Os defectos óseos resultantes foron aleatoriamente asignados a 3 grupos de tratamento: 1) TiBrushTM + hipoclorito de sodio + clorhexidina (TBH), 2) TiBrushTM + clorhexidina (TB), 3) punta de ultrasonidos + clorhexidina (US). O implante distal en cada hemimandíbula foi empregado como control, e non houbo tratamento.

Tres meses despois da cicatrización tomáronse medidas clínicas, radiolóxicas e histolóxicas.

RESULTADOS:

Todos os métodos de descontaminación conseguiron unha melloría estadísticamente significativa de todos os parámetros clínicos e radiolóxicos estudados. A análise histomorfométrica revelou diferencias entre os grupos de tratamento en termos de altura de óso reticular (variable principal do estudo) mais esta non foi estadísticamente significativa. Nembargantes si houbo diferencias estadísticamente significativas relacionadas coa inflamación, a profundidade do defecto óseo e o recheo do defecto, sen diferencias estadísticamente significativas entre os grupos 1 (TBH) e 2 (TB).

CONCLUSIÓNS:

A resolución da periimplantite experimental despois da cirurxía de acceso e a descontaminación da superficie dos implantes cos cepillos de titanio e o emprego ou non de hipoclorito de sodio é posible. Nembargantes, o emprego concomitante do hipoclorito de sodio ten un efecto moi limitado nos resultados do tratamento.

PALABRAS CLAVE:

Periimplantite experimental, descontaminación, tratamento, estudo preclínico “in vivo”.



3. RESUMEN EN INGLÉS





3.ABSTRACT IN ENGLISH

TITLE:

Mechanical and chemical treatment of experimental periimplantitis. A controlled preclinical “*in vivo*” study.

OBJECTIVE:

The aim of the present study was to evaluate the effect of a titanium brush and chemical agents following surgical treatment of experimental peri-implantitis.

MATERIAL AND METHODS:

6 implants were installed in the mandible of 8 beagle dogs (unit of analysis) 3 months after tooth extraction. Experimental peri-implantitis was induced 3 months later. The defects were randomly allocated in 3 treatment groups: a) TiBrush™ + sodium hypochlorite + chlorhexidine (TBH), b) TiBrush™ + chlorhexidine (TB), c) an ultrasonic device + clohexidine (US). The distal implant in each hemimandibule was used as control, and no treatment was done. Clinical, radiological and histological measurements were performed after three months of healing.

RESULTS:

All decontamination methods resulted in statistically significant improvements of all clinical and radiological parameters. Histomorphometrical analysis revealed differences between treatment groups in terms of woven bone height (primary outcome) but these differences were not statistically significant. However, there were statistically significant differences between test and control groups in terms of inflammation, bone defect depth and bone refill without differences between TBH and TB groups.

CONCLUSIONS:

Resolution of peri-implantitis after access surgery and decontamination of peri-implant surfaces with Ti-Brush with or

without sodium hypochlorite is possible. However, the concomitant use of sodium hypochlorite has minor effect on treatment outcomes.

KEY WORDS:

Experimental periimplantitis, decontamination, treatment, preclinical study “in vivo”.



4. INTRODUCCIÓN





4. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periimplantarias son patologías infeccioso-inflamatorias que afectan a los implantes dentales como consecuencia de un desequilibrio producido entre la exposición a las bacterias de la cavidad bucal y la respuesta del huésped (Zitmann y Berglundh 2008).

Se define la mucositis periimplantaria como la inflamación reversible de la mucosa que rodea a los implantes dentales y se caracteriza por sangrado al sondaje ($<0,25N$). Desde el punto de vista del diagnóstico y de la etiopatogenia, las mucositis periimplantarias son muy similares a las gingivitis que ocurren alrededor de los dientes (Lang y cols. 2011). Sin embargo, aunque las mucositis son una condición reversible de la mucosa como respuesta del huésped al biofilm bacteriano, en caso de que no se traten debidamente pueden progresar a periimplantitis. La periimplantitis implica la destrucción y pérdida de hueso de soporte alrededor de los implantes dentales, además de caracterizarse por la presencia de signos clínicos de inflamación, como sangrado al sondaje con o sin la formación de bolsas periimplantarias o supuración (Lang y Berglundh 2011).

Los resultados de una reciente revisión sistemática sobre epidemiología de las enfermedades periimplantarias, estimaron una prevalencia de mucositis de 43%, y de periimplantitis en torno al 22% de los pacientes portadores de implantes, existiendo una relación positiva entre la prevalencia de periimplantitis y el tiempo en función de los implantes (Derks y Tomasi 2015). Sin embargo, los autores de esta revisión sistemática, informaron de que estos datos están basados en estudios con unas definiciones de periimplantitis muy heterogéneas.

Estudios transversales de prevalencia de periimplantitis moderadas-severas, con pérdidas óseas mayores o iguales a 2 mm, mostraron datos de ocurrencia de la enfermedad algo más bajas, de entre el 15 y el 20% de los pacientes (Roos-Jansaker y cols. 2006, Koldslund y cols. 2010, y Derks y cols. 2016).

En un estudio a 9 años recientemente publicado, se estudió el patrón e inicio de la periimplantitis en la población sueca, y se observó que el patrón de pérdida ósea en implantes con periimplantitis

moderadas-severas es no lineal y acelerado, corroborando los resultados de publicaciones previas (Derks y cols. 2016, Fransson y cols. 2010). En este estudio, se observó también que el inicio de la enfermedad es temprano: a los 3 años el 81% de los pacientes presentaron signos de pérdida ósea $\geq 0,5\text{mm}$, y solo el 4% de los pacientes diagnosticados de periimplantitis avanzada empiezan a perder hueso después del quinto año de la colocación de la prótesis.

4.1. ETIOPATOGENIA

Las enfermedades periimplantarias son enfermedades de origen infeccioso-inflamatorio causadas por bacterias del biofilm oral (Lang y Berglundh 2011).

Algunos autores, han aplicado el modelo de gingivitis experimental originalmente descrito por Løe, (Løe y cols. 1965) a los implantes dentales, con el objetivo de estudiar la relación causa efecto entre el biofilm oral y la mucositis periimplantaria en el hombre (Pontoriero y cols. 1994, Zitmann y cols. 2001, Salvi y cols. 2012).

En estos estudios, después de la completa eliminación de todas las medidas de higiene oral durante 3 semanas y la consiguiente acumulación de depósitos bacterianos sobre la superficie de dientes e implantes, se observó un incremento de todos los parámetros clínicos de inflamación (profundidad de sondaje, sangrado al sondaje, índice de placa, índice gingival y recesión) y de marcadores inflamatorios (LB y LT), sin diferencias estadísticamente significativas entre dientes e implantes. Al restaurar la higiene oral, todos los parámetros estudiados volvían a su condición basal. Por tanto, desde el punto de vista de la etiopatogenia, gingivitis y mucositis son muy similares, pues ambas enfermedades representan la respuesta del huésped a los cambios microbiológicos causados por la formación del biofilm oral. (Lang y cols. 2011)

La microbiota asociada a periimplantitis es mixta, bastante variable y mayoritariamente dominada por bacterias Gram negativas anaerobias (Mombelli y Decalliet 2011).

Tradicionalmente se han señalado las similitudes microbiológicas entre periimplantitis y periodontitis crónica debido a la presencia de

bacterias ubicuas como el *Fusobacterium* spp. y *P. Intermedia* en ambas entidades infecciosas.

Recientemente también se ha vinculado la microflora de las periimplantitis a patógenos del grupo peptostreptococci (*P. micra*) o staphylococci (*S. aureus*, *S. epidermis*). Peptostreptococci son microorganismos comensales en el humano relacionados con abscesos o infecciones necrotizantes en los tejidos blandos. El *S. aureus* y *S. epidermis* son patógenos implicados en infecciones de dispositivos médicos implantados con capacidad para atravesar la barrera epidérmica (Mombelli y Decalliet 2011). Estudios observacionales longitudinales han demostrado que el *S. aureus* puede colonizar implantes de manera temprana tras su colocación (Fürst y cols. 2007) y que puede persistir en el tiempo (Salvi y cols. 2008). Además también se ha observado la presencia de *Candida* spp. que frecuentemente se correlaciona con la presencia de *P. micra* y *T. forsythia*, y de otras especies de hongos (Schwarz y cols. 2015).

Maximo y colaboradores (Maximo y cols. 2009), compararon la microbiota en mucositis y periimplantitis, y observaron que no existen diferencias en la microbiología entre mucositis y periimplantitis y entre periimplantitis moderadas y severas. Por tanto, aunque parece evidente que los microorganismos están involucrados en la enfermedad periimplantaria, especialmente en aquellos casos en los que la periimplantitis evoluciona de una mucositis, no existen pruebas de que ellos sean los únicos responsables de esta condición patológica, por lo que se sugiere que, aunque los patógenos bacterianos son el inicio de la enfermedad, la respuesta inflamatoria local y el desequilibrio de la interacción huésped-parásito parecen ser clave en la patogénesis de la destrucción de los tejidos periimplantarios. (Berglundh y cols. 2011).

Estudios en animales han demostrado diferencias estructurales entre la encía y la mucosa peri-implantaria presentando esta última un mayor número de fibras colágenas y fibroblastos y una menor vascularización, lo que confiere a la mucosa periimplantaria características similares al tejido cicatricial (Moon y cols. 1999). Además las fibras de tejido conectivo en la mucosa que rodea al implante presentan una disposición circular y paralela al eje

longitudinal del implante (Berglundh y cols. 1992). Estas diferencias estructurales confieren a los tejidos periimplantarios una menor resistencia a las agresiones bacterianas, y podrían por tanto influir en la respuesta del huésped a la infección. (Berglundh y cols. 2011).

Desde un punto de vista histológico, la lesión en casos de mucositis se caracteriza por la presencia de un infiltrado inflamatorio lateral al epitelio de unión, de composición similar a la lesión presente en la gingivitis, en la que se observa un aumento de células inflamatorias y una disminución en el número de fibras colágenas (Berglundh y cols. 1992). Sin embargo la extensión apical y el tamaño del infiltrado inflamatorio alrededor de los implantes dentales es mayor que alrededor de los dientes naturales (Ericsson y cols. 1992, 1995), independientemente del sistema de implantes estudiado (Abrahamsson y cols. 1998).

Por su parte, en casos de periimplantitis, la extensión apical de la lesión inflamatoria y la pérdida ósea también es más pronunciada que en periodontitis (Lindhe y cols. 1992, Carcuac y cols. 2013).

4.1.1 Periimplantitis experimental

En el año 1992, Lindhe y cols., aplicaron el modelo experimental empleado en la década de los años 70 para el estudio de la lesión histopatológica de la periodontitis a los implantes dentales, con el objetivo de entender la etiopatogenia de la periimplantitis, y crearon el modelo de periimplantitis experimental o periimplantitis inducida por ligaduras (Lindhe y cols. 1992, Ericsson y cols. 1975, Schroeder y Lindhe 1975, 1980, Lindhe y Ericsson 1978).

El experimento consistió en la colocación de ligaduras de algodón alrededor de dientes e implantes en 5 perros Beagle. Las ligaduras fueron colocadas en una posición apical al margen gingival creando una “bolsa” en la que se estableció una microbiota subgingival. Las ligaduras se cambiaron a las 3 semanas por nuevas ligaduras forzadas a una posición más apical. Estas ligaduras fueron retiradas al cabo de otras 3 semanas y se dejó que la lesión se estableciese durante 1 mes antes de realizar las biopsias.

Desde el momento de la colocación de las ligaduras y hasta el final del estudio, todas las medidas de higiene oral fueron suspendidas, y los perros fueron alimentados con dieta blanda.

Al finalizar el estudio al mes, los signos clínicos de inflamación y la pérdida ósea radiográfica era mayor alrededor de los implantes dentales que de los dientes naturales. Los resultados histológicos también mostraron mayor destrucción ósea y mayor tamaño del infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo alrededor de implantes que de dientes. De hecho, los autores señalaron que las lesiones periimplantarias en contraste con la lesiones periodontales, habían alcanzado la cresta ósea, y sugirieron que el comportamiento autolimitante de la lesión en los tejidos periodontales no ocurre en los tejidos periimplantarios.

El mismo grupo, en un experimento similar en 5 perros Beagle (Marinello y cols. 1995), realizaron las biopsias en 2 perros un mes después de haberles retirado las ligaduras, y en 3 perros esperaron 2 meses más. En este último grupo observaron que la lesión se encontraba encapsulada y separada del hueso alveolar por una banda de tejido conectivo fibroso denso.

Sin embargo, en uno de los perros, se produjo la progresión espontánea de la enfermedad, pues 3 de sus cuatro implantes se perdieron entre la semana 10 y la 12 debido a la continua destrucción ósea aún después de haber retirado las ligaduras, y en el 4º implante se observó que la lesión inflamatoria se extendía al hueso medular. Esta lesión presentaba muchas características en común con la lesión observada en las biopsias tomadas al mes de retirar las ligaduras, con osteoclastos en la superficie de la cresta ósea y con gran destrucción ósea.

En el año 2004, se realizó un nuevo estudio con el objetivo de evaluar la progresión espontánea de la periimplantitis experimental 12 meses después de retirar las ligaduras en el perro (Zitamnn y cols. 2004), y se observó que aunque en algunos implantes la destrucción inflamatoria remitía una vez se retiraban las ligaduras, en la mayoría de los sitios se producía una pérdida ósea adicional en el período de progresión de la enfermedad.

Por tanto parece evidente que la lesión inflamatoria en periimplantitis experimental no es una lesión autolimitante como ocurre alrededor de los dientes, y en muchas ocasiones el infiltrado inflamatorio del tejido conectivo en implantes se extiende directamente hasta la cresta ósea donde se observan un gran número de osteoclastos. Además, aunque en ambas lesiones (dientes e implantes) predominan las células plasmáticas y los linfocitos, en periimplantitis se observa un mayor número de polimorfonucleares y macrófagos, aún después de haber retirado las ligaduras y únicamente dejando que se acumule placa bacteriana alrededor de los implantes dentales.

Se consideran factores de riesgo sistémicos de periimplantitis una inadecuada higiene oral, la enfermedad periodontal y el consumo de tabaco, siendo la mala higiene oral el factor de riesgo más importante para desarrollar la enfermedad con una OR de 14,3 (IC 95%: 9,1-28,7), (Ferreira y cols. 2006).

En la actualidad, la evidencia científica disponible es limitada para diabetes y consumo de alcohol, y limitada y contradictoria para genética y la superficie del implante (Heitz Mayfield 2008). Sin embargo, estudios recientes han demostrado, que la progresión espontánea de la periimplantitis en el modelo animal, es mayor, en relación a la pérdida ósea y la inflamación evaluada histológicamente, en implantes con superficies rugosas que en implantes con superficies lisas o maquinadas. (Berglundh y cols. 2007, Albouy y cols. 2008, 2009, Carcuac y cols. 2013).

Se consideran factores de riesgo locales de periimplantitis la imposibilidad para la correcta higiene de los implantes, las prótesis cementadas, la malposición de los implantes y la ausencia de encía queratinizada (Serino y Ström 2009, Wilson y cols. 2009, Jepsen y cols. 2015).

4.2. DIAGNÓSTICO

El sondaje de los tejidos periimplantarios es esencial para el diagnóstico de las periimplantitis. Estudios de periimplantitis experimental mostraron que un aumento en la profundidad de sondaje

en el tiempo se asocia con pérdida de inserción y pérdida ósea. (Lang y cols. 93, Schou y cols. 93).

En el pasado, se creía que el sondaje de los implantes dentales podría ser dañino para los tejidos periimplantarios, sin embargo se ha demostrado que el sellado mucoso después del sondaje con fuerzas ligeras (0,25N) se produce a los 5 días (Etter y cols. 2002).

El sangrado al sondaje también es esencial para el diagnóstico de las periimplantitis. La ausencia de sangrado al sondaje es un indicador de estabilidad de los tejidos periimplantarios ya que en salud, y aplicando fuerzas ligeras (0,25N), no hay sangrado al sondaje, sin embargo este se incrementa hasta el 67% en casos de mucositis y hasta el 91% en casos de periimplantitis (Lang y cols. 1994).

La supuración es común en periimplantitis, y es el resultado de una infección y una lesión inflamatoria. Por tanto, la profundidad de sondaje, el sangrado al sondaje y la supuración deben registrarse con regularidad para el diagnóstico de las enfermedades periimplantarias. (Heitz Myfield 2008).

Además, las radiografías también son necesarias para evaluar el soporte óseo alrededor de los implantes. Se necesita una radiografía inicial, tomada en el momento de la colocación de la prótesis que se repetirá siempre que existan signos clínicos de inflamación (Lang y Berglundh 2011).

Las radiografías convencionales como las radiografías intraorales paralelizadas con la técnica del cono largo y las radiografías panorámicas han sido muy utilizadas para monitorizar los niveles de hueso marginal y diagnosticar la pérdida ósea interproximal. Sin embargo, entre sus limitaciones se encuentran la baja resolución de la imagen y la distorsión en el caso de las radiografías panorámicas, y la imposibilidad de monitorizar las caras vestibulares y palatinas o linguales de los implantes, la baja sensibilidad en la detección de cambios óseos tempranos y la infraestimación de la pérdida ósea con ambas técnicas. (Bragger y cols. 1998)

Las nuevas tecnologías aplicadas a la radiografía dental, como el desarrollo de los tomógrafos computados de haz cónico, han mejorado la exactitud del diagnóstico radiológico de la periimplantitis

permitiendo la detección de pequeños cambios en la densidad ósea (Mengel y cols. 2006).

El análisis del fluido crevicular o los tests microbiológicos, aunque nos darán alguna información adicional para el diagnóstico de las periimplantitis, especialmente en el caso de los tests microbiológicos si los relacionamos con el sangrado al sondaje, no son esenciales para el diagnóstico de estas patologías. (Heitz-Mayfield 2008, Berglundh y Lang 2011).

4.3. TRATAMIENTO

Se han sugerido diferentes protocolos para el tratamiento de las periimplantitis. Ya que las infecciones periimplantarias se han definido como enfermedades asociadas a microorganismos presentes en el biofilm oral, se asume que la eliminación del biofilm bacteriano será un prerrequisito para prevenir la progresión de la enfermedad (Mombelli y Decalliet 2011). Sin embargo, una vez instaurada la periimplantitis, los resultados del tratamiento no quirúrgico son impredecibles. Se han probado numerosas herramientas con el fin de eliminar el biofilm supra- y sub-gingival, como cepillos y copas de pulido, curetas de plástico, titanio o carbono, puntas modificadas especiales para sistemas ultrasónicos o sistemas abrasivos, pero la eliminación de la contaminación biológica de la superficie del implante es difícil de conseguir, y estos procedimientos convencionales han demostrado ser insuficientes. Tampoco se han encontrado beneficios mayores por el uso de terapia con láser en el tratamiento de la periimplantitis. Además se han observado efectos limitados en el empleo de clorhexidina cuando se analizaron parámetros clínicos y microbiológicos. Sin embargo se observó una reducción en la profundidad y el sangrado al sondaje después del empleo de antibióticos locales o sistémicos (Renvert y cols. 2008)

Por ello, aunque en la actualidad se asume que es necesario el abordaje quirúrgico de la periimplantitis con el fin de minimizar el riesgo de reinfección de la bolsa periimplantaria, este procedimiento solo debe considerarse después de un exitoso tratamiento no quirúrgico inicial de la enfermedad, en la que el sangrado al sondaje

y/o la supuración se hayan reducido de manera significativa. (Renvert y cols. 2008, Claffey y cols. 2008, Figuero y cols. 2014).

Se han desarrollado diferentes protocolos de tratamiento quirúrgico de periimplantitis, que incluyen cirugías de acceso, resectivas, regenerativas o mixtas (resectiva y regenerativa) en combinación con diferentes métodos para descontaminar las superficies de los implantes, aunque estudios recientes parecen indicar que el método de descontaminación empleado no tiene ningún efecto en los resultados clínicos tras el abordaje resectivo y/o regenerativo de la lesión periimplantaria (de Waal y cols. 2013, Carcuac y cols. 2016, Schwarz y cols. 2017). El hecho de que los procedimientos de descontaminación puedan promover la resolución de la periimplantitis está en parte soportado por los resultados de estudios experimentales como los de Kolonidis y cols. (Kolonidis y cols. 2003), Ahag y cols. (Ahag y cols. 2008), Mohamed y cols (Mohamed y cols. 2010) o Persson y cols. (Persson y cols. 2001)

En su estudio Kolonidis retira implantes expuestos a la formación del biofilm bacteriano en la cavidad bucal en el perro, y después de descontaminar su superficie los coloca en la hemimandíbula contralateral, obteniendo oseointegración en la parte previamente contaminada de los implantes independientemente del método de descontaminación empleado (ácido cítrico, peróxido de hidrógeno o suero salino).

Persson y cols., en su estudio experimental del año 2001 (Persson y cols. 2001) muestran datos histológicos de reoseointegración en implantes sometidos a periimplantitis experimental después del tratamiento con antibióticos sistémicos y la descontaminación de la superficie del implante con algodones empapados en suero salino.

En la revisión realizada por Renvert y cols., también observaron reoseointegración en superficies de implantes previamente contaminadas en el modelo animal con tasas de reoseointegración que oscilaban entre el 1 y el 84% (Renvert y cols. 2009). Sin embargo, concluyeron que aunque la reoseointegración puede ocurrir tras el tratamiento de los defectos periimplantarios inducidos por ligaduras, los resultados varían mucho entre estudios y por tanto no es

predecible. Además, en ninguno de los estudios incluidos en la revisión se consiguió la regeneración de la totalidad del defecto periimplantario con ninguna de las técnicas propuestas.

El grupo de Carcuac y colaboradores, en su estudio en perros del año 2015, han sugerido que los resultados del tratamiento quirúrgico de la periimplantitis se ven más influenciados por la superficie del implante a tratar que por el método de descontaminación empleado (Carcuac y cols. 2015).

4.3.1 Cirugía de acceso:

Pocos son los estudios en humanos que aportan únicamente resultados de cirugía de acceso con descontaminación de la superficie del implante sin realizar procedimientos resectivos y/o regenerativos .

Leoanhardt (Leoanhardt y cols. 2003) y Heitz-Mayfield (Heitz-Mayfield y cols. 2012) proponen dos protocolos de tratamiento de periimplantitis con cirugía de acceso. En ambos estudios se emplean antibióticos sistémicos justificándose en las características histopatológicas de la lesión periimplantaria que incluye la extensión apical del infiltrado inflamatorio y su proximidad al hueso (Lindhe 1992, Albouy y cols. 2008, 2009, Berglundh y cols. 2004)

En el primero de estas dos series de casos (Leoanhardt y cols. 2003) el protocolo propuesto incluye la descontaminación de la superficie del implante mediante la irrigación con peróxido de hidrógeno al 10% y suero salino, y se prescriben hasta 5 tipos de antibióticos sistémicos en función de tests de susceptibilidad bacteriana, y clorhexidina al 0,2% durante dos semanas. Los autores informan de un éxito del 58% de los implantes tratados a los 5 años. El 27% de los implantes se perdieron después del primer año, 4 implantes continuaron perdiendo hueso, 9 se mantuvieron y 6 implantes ganaron hueso, por ello los autores concluyen que es posible pero no predecible mantener implantes en un período de 5 años con este protocolo de tratamiento.

En el estudio de Heitz-Mayfield y cols. (Heitz-Mayfield y cols. 2012) a los 12 meses se presentan datos de éxito del 88% de los pacientes y del 92% de los implantes, con un protocolo de descontaminación que incluyó irrigación con suero salino y limpieza

de la superficie del implante con una gasa empapada en suero salino combinado con la administración sistémica de amoxicilina + metronidazol y clorhexidina al 0,2%.

En una nueva serie de casos que incluyó a pacientes no fumadores y en salud periodontal, Maximo y cols. (Maximo y cols. 2009) evaluaron los resultados clínicos y microbiológicos del tratamiento de la periimplantitis mediante cirugía de acceso y descontaminación mecánica de la superficie del implante sin el empleo de antibióticos sistémicos. Aunque se observó una mejoría significativa en los parámetros clínicos de profundidad de sondaje y sangrado al sondaje a los 3 meses, el 45% de los implantes seguían presentado signos clínicos de inflamación con sangrado al sondaje en una o más localizaciones.

El estudio de Hallström y colaboradores recientemente publicado (Hallström y cols. 2017) investigó los resultados después de realizar cirugía de acceso descontaminando la superficie del implante con curetas estériles y gasas de algodón empapadas en suero salino. Mientras todos los pacientes se enjuagaron con clorhexidina al 0,2% durante 2 semanas, únicamente se administró antibiótico sistémico a los pacientes del grupo test (Zitromax 500mg 1 cada 24 horas 3 días). Aunque los resultados al año mostraron tasas de éxito del 46,7% en los pacientes del grupo test, y del 25% en los pacientes del grupo control, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la disminución de la profundidad de sondaje, el sangrado al sondaje, el nivel óseo radiográfico o la carga bacteriana entre ambos grupos de tratamiento.

El estudio publicado por Isehed y cols. (Isehed y cols. 2016) comparó los resultados de una cirugía de acceso con la descontaminación de las superficies de los implantes con ultrasonidos con una punta modificada para implantes, curetas de titanio y gasas de algodón empapadas en suero salino en el grupo control, y una cirugía regenerativa, en la que después de llevar a cabo el mismo procedimiento de descontaminación aplicaron Emdogain® 0,3 ml en el grupo test.

Los resultados a los 12 meses de este estudio mostraron que en el grupo test había una prevalencia significativamente mayor de

microorganismos aerobios gram positivos, y mayor ganancia del nivel del hueso marginal medido en radiografías que en los implantes del grupo control.

4.3.2 Cirugía resectiva:

Encontramos 6 estudios que evalúan los resultados del tratamiento de la periimplantitis mediante cirugía resectiva únicamente. Cuatro son estudios clínicos controlados y aleatorizados (Romeo y cols. 2005 y 2008, y de Waal y cols. 2014, 2015) y dos son series de casos (Serino & Turri 2011 y 2014).

El objetivo del estudio de Romeo y cols. (Romeo y cols. 2005, 2008) fue proponer un nuevo protocolo de tratamiento de periimplantitis con cirugía resectiva junto con la modificación de la superficie expuesta del implante mediante su pulido (implantoplastia).

Para ello comparaban 2 grupos de tratamiento, un grupo test en el que se realizaba cirugía resectiva e implantoplastia, y un grupo control en el que se realizaba únicamente cirugía resectiva. Para la descontaminación de la superficie del implante aplicaban un gel de metronidazol, seguido de una solución de clorhidrato de tetraciclina y lavado con suero fisiológico. Después de la cirugía todos los pacientes se enjuagaban con clorhexidina al 0,2% durante 2 semanas. Los resultados a los 3 años en el grupo test mostraban una tasa de supervivencia y éxito del 100%, sin cambios radiográficos en el nivel de hueso crestral. En el grupo control a los 2 años se perdieron 2 implantes, disminuyendo la supervivencia al 87,5% y a los 3 años se había producido una pérdida media de hueso crestral de 1,4 mm en mesial y 1,5 mm en la localización distal.

En el estudio de de Waal (de Waal y cols. 2014, 2015) comparaban dos agentes para la descontaminación de la superficie del implante después de realizar la cirugía resectiva, clorhexidina al 0,2% y clorhexidina al 0,12% con cloruro de cetilpiridino al 0,05%, pero no encontraron diferencias clínicas, radiológicas o microbiológicas estadísticamente significativas entre estos dos protocolos de descontaminación.

Serino & Turri (Serino & Turri 2011, 2014) evaluaron los resultados clínicos del tratamiento de la periimplantitis mediante cirugía resectiva.

El protocolo quirúrgico consistió en la eliminación de bolsas patológicas y el reconteado óseo. La superficie del implante se trató con un sistema ultrasónico y copas de pulido. Además todos los pacientes recibieron profilaxis antibiótica (clindamicina 1 día antes y durante una semana) y clorhexidina al 0,2%.

Los resultados a los dos años mostraron la completa resolución de la enfermedad en el 58% de los implantes tratados, pero de ellos, la mayoría pertenecían al grupo de implantes con una pérdida ósea leve-moderada (de 2 a 4 mm medidos en cirugía). Del mismo modo, los implantes en los que se conseguía volver a una situación de salud después del tratamiento permanecían estables durante los siguientes 2 años. En cambio se observó progresión en los implantes que seguían mostrando signos clínicos de enfermedad después del tratamiento.

A los cinco años, la mayoría de los pacientes con buena higiene oral y que asistieron regularmente a mantenimientos cada 6 meses, se mantuvieron estables. Sin embargo, se identificó la presencia de bolsas residuales alrededor de defectos óseos circunferenciales como un importante predictor de la progresión de la enfermedad.

4.3.3 Cirugía regenerativa:

Existen en la literatura un gran número de publicaciones que proponen diferentes protocolos de abordajes regenerativos para el tratamiento de las periimplantitis. Sin embargo, la mayoría de estos estudios son series de casos en los que no existe un grupo control.

Cuatro estudios proponen procedimientos regenerativos con diferentes tipos de injertos óseos pero sin utilizar membranas, de ellos uno, (Beheke y cols. 2000), propone la utilización de un injerto de hueso autógeno (bloque o particulado) mientras Roccuzzo (Roccuzzo y cols. 2011, 2017) y Witfang (Witfang y cols. 2012) proponen la utilización de xenoinjertos. Además en el estudio de Roccuzzo se comparan los resultados del tratamiento regenerativo en dos superficies diferentes de implantes. En los tres estudios los pacientes reciben antibióticos sistémicos y se realiza la descontaminación previa

de la superficie del implante. En el estudio de Witfang también se realiza implantoplastia de la superficie suprásea expuesta del implante. A los 12 meses Rocuzzo y Witfang describen la pérdida de 2 y 1 implante respectivamente, y en los 3 estudios se describen datos radiográficos de ganancia ósea y clínicos de disminución de la inflamación salvo el de Beheke que no da información del sangrado al sondaje. A los 7 años, Rocuzzo describe tasas de supervivencia del 83,3% y éxito del 58,3% en los implantes con superficie SLA, y del 71,4% y del 14,3% en implantes con superficie TPS, y concluye que los resultados del tratamiento regenerativo en periimplantitis está muy condicionado por la superficie del implante a tratar (Rocuzzo y cols. 2017).

Cinco estudios proponen procedimientos regenerativos con injertos óseos y membranas. De ellos solo uno (Haas y cols. 2000) emplea membranas no reabsorbibles. Schwarz (Schwarz y cols. 2010) emplea xenoinjertos, Froum (Froum y cols. 2012) y Romanos y Netwing (Romanos y Netwing 2008) combinan xenoinjertos con aloinjertos e injertos autógenos respectivamente. Haas utiliza únicamente injertos autógenos y Roos-Jansaker (Roos- Jansaker y cols. 2007) utiliza injertos aloplásticos. Schwarz y Romanos no prescriben antibióticos sistémicos pre o post-operatorios y en todos los casos se realiza una descontaminación previa de la superficie del implante mediante diferentes mecanismos.

Froum y Roos-Jansaker informan de tasas de éxito del 84% y el 100% a los 3-7,5 años y a los 12 meses respectivamente. En todos los estudios se informa de la disminución de la profundidad y sangrado al sondaje después del tratamiento salvo en el estudio de Haas, en el que no se dan datos clínicos de inflamación. Todos los estudios salvo el de Schwarz dan datos de ganancia ósea radiográfica. En el estudio de Haas y cols. se perdieron tres de 24 implantes.

En el año 2015 Froum muestra los resultados tras el seguimiento a los 2-10 años del grupo de pacientes del estudio antes citado y reportan que solo 2 de los 178 implantes tratados se perdieron, 18 implantes necesitaron 2 cirugías adicionales y 10 una, y señalan la importancia de un adecuado mantenimiento cada dos, tres meses después de la cirugía y concluyen que la falta de acceso para la

descontaminación de la superficie de los implantes determinará el éxito o el fracaso de la cirugía regenerativa en periimplantitis (Froum y cols. 2015).

Son pocos los estudios controlados con resultados clínicos y radiográficos de diferentes procedimientos regenerativos para el tratamiento de la periimplantitis. De ellos, tres comparan los resultados de procedimientos regenerativos mediante el empleo de injertos óseos con o sin membranas (Khoury & Buchmann 2001, Roos-Jansaker y cols. 2007, 2011).

Dos estudios comparan diferentes materiales de injerto óseo junto con el empleo de una membrana colágena (Schwarz y cols. 2008 y 2009) y otros tres comparan dos técnicas diferentes de descontaminación de la superficie del implante previa a la cirugía regenerativa (Schwarz y cols. 2011, 2012, 2017)

En el estudio de Khoury & Buchmann, se evalúan diferentes procedimientos regenerativos en un diseño de grupos paralelos previa descontaminación de la superficie del implante con clorhexidina, ácido cítrico, H₂O₂ y suero fisiológico: siete pacientes y 12 implantes son tratados con hueso autógeno, once pacientes y 20 implantes con hueso autógeno y membranas no reabsorbibles y siete pacientes y 9 implantes con hueso autógeno y membranas reabsorbibles. Después de 3 años de cicatrización los mejores resultados en relación a la disminución de la profundidad de sondaje y ganancia ósea radiográfica se observó en los grupos 1 y 2. Las limitaciones de este estudio son que la asignación de los grupos no es aleatoria y que no se dan datos clínicos de inflamación.

Los estudios de Roos-Jansaker y cols. evalúan el uso de un injerto aloplástico solo o en combinación con una membrana reabsorbible para el tratamiento de defectos periimplantarios avanzados (pérdida ósea hasta la tercera espira). La descontaminación de la superficie del implante se realizó con H₂O₂ y todos los pacientes recibieron antibióticos sistémicos. Después de un año ambos procedimientos quirúrgicos resultaron en mejoras clínicas y radiológicas comparables entre sí. No obstante un total de 6 implantes de ambos grupos continuaron perdiendo hueso. Entre el año y los 3 años no se observaron cambios relacionados con la cantidad de relleno óseo

radiográfico. No se dan datos relacionados con parámetros clínicos de profundidad o sangrado al sondaje.

Los estudios de Schwarz y colaboradores (Schwarz y cols 2008, 2009) comparan los resultados obtenidos después de tratar aleatoriamente a 22 pacientes y 22 implantes diagnosticados de periimplantitis moderada. En el grupo test, después de levantar un colgajo y previa desinfección de la superficie contaminada del implante con suero salino, se colocó un injerto alopástico (Ostim®), y en el grupo control un xenoinjerto combinado con una membrana de colágeno. Dos pacientes en el grupo test fueron excluidos a los 12 meses por infección. A los 24 meses, ambos grupos revelaron una importante disminución en los parámetros clínicos de profundidad y sangrado al sondaje y ganancia clínica de inserción, no obstante esta mejoría fue mayor en el grupo control (Schwarz y cols. 2008). A los 36 meses un implante del grupo control fue excluido del estudio por la formación de pus. Comparado con el grupo test la aplicación del xenoinjerto con la membrana colágena reabsorbible resultó en una alta reducción de la profundidad de sondaje media y en la ganancia clínica de inserción a los 4 años. Además, en 5 sitios del grupo test y en 8 del grupo control se observó un completo relleno óseo radiográfico del defecto periimplantario (Schwarz y cols. 2009).

El mismo grupo publica dos años más tarde un estudio cuyo objetivo fue comparar el impacto en los resultados clínicos de dos métodos de desbridamiento/descontaminación de la superficie del implante previos al tratamiento regenerativo de la periimplantitis (Schwarz y cols. 2011).

38 pacientes y 38 implantes diagnosticados de periimplantitis avanzada con defectos combinados supra e infra-óseos fueron asignados aleatoriamente a 2 grupos de tratamiento. En el grupo test la descontaminación de la superficie infra-ósea del implante se realizó empleando el láser Er:YAG y en el grupo control curetas plásticas, bolitas de algodón y suero salino. En todos los implantes la superficie supra-ósea del implante fue tratada mediante implantoplastia y el defecto infra-óseo se relleno con un xenoinjerto y una membrana colágena.

A los 6 meses los sitios tratados con láser Er:YAG no revelaron una mayor reducción en la media de sangrado al sondaje o ganancia de inserción cuando se comparaba con el grupo control (Schwarz 2011). A los 24 meses y a los 7 años en ambos grupos los valores de ganancia de inserción no eran significativamente diferentes a los iniciales por lo que este grupo concluyó que en periimplantitis avanzadas el método de descontaminación de la superficie del implante no presenta un impacto significativo en los resultados clínicos, y la estabilidad a largo plazo de estos se verá afectado por otros factores independientes al método de descontaminación de la superficie (Schwarz y cols. 2012, 2017).





5. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS





5. Justificación, hipótesis y objetivos

5.1 JUSTIFICACIÓN

Una de las principales limitaciones en el tratamiento de la periimplantitis es el desconocimiento de cómo eliminar la contaminación biológica de la superficie de los implantes.

Hasta la actualidad se han propuesto múltiples métodos de descontaminación, sin embargo, no se ha demostrado superioridad con ninguno de los métodos evaluados. De hecho, hoy en día sabemos que algunos de los métodos propuestos pueden alterar la microtopografía de superficie del implante como el ácido cítrico, los aeroabrasivos, o los preparados de tetraciclina tópica, y que los métodos de descontaminación estudiados no influyen en los resultados a largo plazo de los tratamientos mediante cirugías resectivas y/o regenerativas.

Los cepillos de titanio han demostrado en un estudio *in vitro* mediante microscopía confocal y profilometría no alterar la rugosidad en discos de titanio con superficie SLA, y el hipoclorito de sodio por su parte ha demostrado ser muy eficiente contra patógenos relacionados con periimplantitis como *Candida albicans*, *Streptococcus sanguis* o *Staphylococcus epidermis* (Brüggers y cols. 2012) y tener un importante efecto para evitar la adhesión a la superficie del implante de bacterias anaerobias Gram negativas (Gosau y cols. 2010). En cambio, no se ha investigado el efecto combinado de cepillos de titanio con el empleo de hipoclorito de sodio y/o clorhexidina en cirugías de acceso.

Por otro lado, el modelo de periimplantitis inducida por ligaduras, ha resultado fundamental para la investigación en el tratamiento de la periimplantitis, debido a que estos diseños experimentales proveen resultados no solo de evaluaciones clínicas, o radiológicas, si no también de evaluaciones histológicas, que nos sirven para medir la resolución, o no, de la enfermedad. De hecho, en una revisión sobre la calidad de la investigación preclínica de la enfermedad periimplantaria, la periimplantitis experimental en el perro resultó ser el modelo más usado para la investigación de los diferentes protocolos quirúrgicos (Schwarz y cols. 2012).

5.2 HIPÓTESIS

La descontaminación de la superficie de los implantes con cepillos de titanio e irrigación con hipoclorito de sodio y/o clorhexidina resultará en la formación de una mayor cantidad de hueso reticular.

5.3 OBJETIVO

El objetivo general de esta investigación fue evaluar la eficacia de un tratamiento quirúrgico de acceso con descontaminación mecánica (cepillo de titanio) y química (hipoclorito de sodio y/o clorhexidina) en un estudio experimental preclínico “in-vivo” en periimplantitis inducida mediante ligaduras.

5.3.1 Objetivo principal:

Evaluar y comparar la altura de nuevo hueso reticular formado en cada uno de los grupos de tratamiento estudiados (variable medida mediante histología).

5.3.2 Objetivos secundarios:

Evaluar y comparar la resolución y disposición del infiltrado inflamatorio en cada uno de los grupos de tratamiento estudiados (variable medida mediante histología).

Evaluar y comparar la profundidad de sondaje, sangrado al sondaje, pérdida de inserción y recesión en cada uno de los grupos de tratamiento estudiados (variable clínica).

Evaluar y comparar el nivel óseo radiográfico y la pérdida ósea durante las fases de inducción, progresión y después del tratamiento de la periimplantitis (variable radiográfica).

Validar el modelo de periimplantitis experimental propuesto en relación a los resultados clínicos y radiográficos.

Evaluar la configuración de los defectos óseos periimplantarios creados tras la inducción de la periimplantitis mediante ligaduras.

6. MATERIAL Y MÉTODOS





6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo de este estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Fundación Rof Codina de Lugo, España (AE-LU-001/12/ INV MED(02)/ Otros (04)/ 5-12).

Todo el experimento fue realizado de acuerdo con la normativa española y de la Unión Europea con respecto al cuidado y empleo de animales de investigación y siguiendo los principios de buenas prácticas de laboratorio (BPL). Además, este manuscrito se escribió siguiendo las guías ARRIVE (Kilkenny et al. 2010).

6.2 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

El estudio fue realizado en ocho perros Beagle. Los animales eran hembras sanas de aproximadamente 3 años de edad (entre 28 y 39 meses) y con un peso medio de 13,9 kg (entre 11,8 y 16,6 kg) que pasaron 3 semanas en cuarentena antes del inicio del estudio. Los ocho perros provenían de la empresa Isoquimen, dedicada a la cría de animales para experimentación (Isoquimen SL, Barcelona, España).

Los perros fueron controlados diariamente durante todo el procedimiento de estudio mediante un veterinario acreditado en investigación con animales de laboratorio (FM), y fueron identificados con un microchip subcutáneo (Tabla 1).

Tabla 1. Identificación de los animales

Perro	Microchip	Peso (Kg)	Fecha de nacimiento
1	511623	13.80	31/05/2009
2	493905	12.60	25/05/2009
3	388650	11.90	02/01/2009
4	520788	14.50	05/03/2009
5	412669	13.90	02/01/2009
6	403896	16.60	02/01/2009
7	489674	16.30	24/03/2009
8	366980	11.80	09/12/2009

Los animales fueron identificados con un microchip subcutáneo. La media de edad fue de 36 meses, y el peso medio de 13,9 kg.

6.3 ALOJAMIENTO Y CRIANZA

Durante todo el experimento los perros fueron alojados, monitorizados e intervenidos en el Servicio de Experimentación Animal del Hospital Veterinario Rof Codina, en Lugo.

Los animales se alojaron todos juntos en una perrera con zonas interiores y exteriores de 15 y 20 m² respectivamente. La perrera presentaba una temperatura controlada de 18 ± 2 °C y estaba provista de luz natural y ventilación.

Los animales eran alimentados dos veces al día con comida para perros granulada y previamente humedecida con agua en cuencos individuales y con suministro libre de agua.

Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron en quirófano bajo anestesia general inducida con propofol (3-5 mg/kg/iv. Propovet®, Abbott Laboratories, Kent, UK), y fueron mantenidos a una concentración de isoflurano al 2,5–4% (Isoba-vet®, Schering-Plough, Madrid, España). Los animales fueron primeramente medicados con medetomidina (20 mg/kg/im, Domtor, Esteve, Barcelona, España) y el dolor controlado con la administración de morfina (0,4 mg/kg/im, Morfina Braun 2 %, B. Braun Medical, Barcelona, España). Durante la anestesia los animales fueron continuamente monitorizados por un veterinario de categoría B o C quien realizaba controles de electrocardiografía, capnografía, pulsimetría y de presión sanguínea no invasiva.

Al final de los procedimientos se administraba Atipamezol (50 mg/kg/i.m., Esteve, Barcelona, Spain) para revertir los efectos de la Medetomidina.

6.4 DISEÑO DEL ESTUDIO

Este trabajo de investigación fue diseñado como un estudio experimental preclínico controlado y aleatorizado.

Los defectos peri-implantarios resultado de la inducción mediante ligaduras de la peri-implantitis experimental fueron asignados a cuatro grupos de tratamiento distribuidos de la siguiente manera:

- Grupo 1 (TBH): Cirugía de acceso y descontaminación de la superficie del implante con un cepillo de titanio, Ti-Brush®

(Straumann® AG, Basel, Switzerland) con el uso concomitante de suero salino al 0,9%, clorhexidina al 0,2% e hipoclorito de sodio al 0,1% .

- Grupo 2 (TB): Cirugía de acceso y descontaminación de la superficie del implante con Ti-Brush® con suero salino al 0,9% y clorhexidina al 0,2%.

- Grupo 3 (US): Cirugía de acceso y descontaminación de la superficie del implante con ultrasonidos con punta de teflón (Piezon® Master 700. EMS, Switzerland) con suero salino al 0,9% y clorhexidina al 0,2% .

- Grupo 4 (C): no se realizó ningún tratamiento en los implantes asignados al grupo 4, que fueron utilizados como Control.

Los defectos de los implantes mesiales, correspondientes a la localización de los premolares 2 y 3 fueron asignados aleatoriamente a los grupos de tratamiento 1, 2 y 3, grupos Test, de acuerdo a una lista de aleatorización generada por ordenador (Tabla 2).

La asignación al grupo de tratamiento se ocultó por medio de sobres sellados hasta el momento de la intervención quirúrgica.

Los implantes distales de cada hemimandíbula, los correspondientes a las localización del premolar 4 fueron asignados al grupo 4, Control, en el que no se realizó ningún tratamiento.

Tabla 2. Aleatorización de los grupos de tratamiento

Perro	Hemimandíbula derecha			Hemimandíbula izquierda		
	PM 4	PM 3	PM 2	PM 2	PM 3	PM 4
1	4	1	1	3	2	4
2	4	1	1	2	3	4
3	4	2	3	1	1	4
4	4	3	2	1	1	4
5	4	1	1	3	2	4
6	4	1	1	2	3	4
7	4	2	3	1	1	4
8	4	2	3	1	1	4

1: Grupo 1 TBH (n=16) TiBrush™ + hipoclorito de sodio + clorhexidina, 2: Grupo 2 TB (n=8) TiBrush™ + clorhexidina, 3: Grupo 3 US (n=8) punta de ultrasonidos + clorhexidina, 4: Grupo 4 C (n=16).

6.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

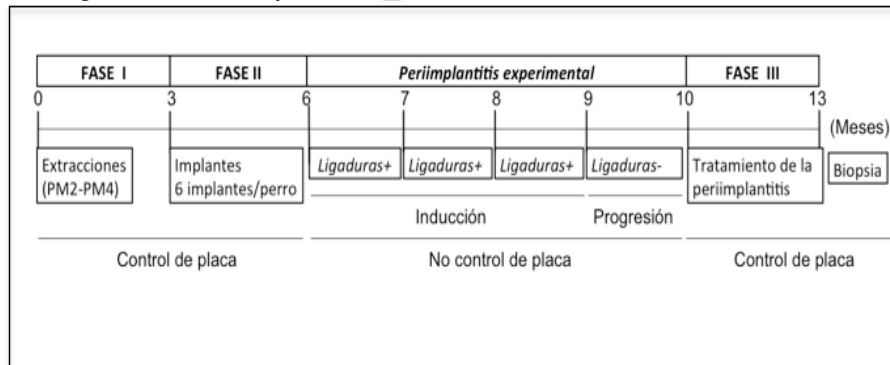
6.5.1 Fases quirúrgicas

El experimento se realizó en el Hospital Veterinario Rof Codina de Lugo entre abril de 2012 y mayo de 2013.

El estudio se llevó a cabo en tres fases quirúrgicas:

- (I) Extracción de los premolares 2, 3 y 4 mandibulares.
- (II) Colocación de implantes dentales.
- (III) Tratamiento quirúrgico de la periimplantitis (Figura 1).

Figura 1. Diseño experimental del estudio



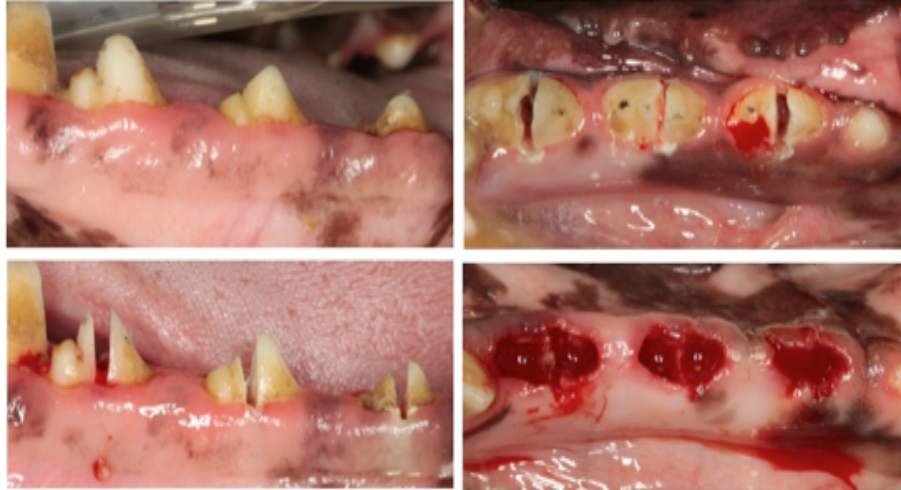
El estudio se llevó a cabo en tres fases quirúrgicas. Las ligaduras se colocaron 3 meses después de la colocación de los implantes y se retiraron al cabo de 3 meses. El tratamiento de las lesiones se realizó un mes después de retirar las ligaduras. Grupo 1 (TBH): TiBrush™ + hipoclorito de sodio + clorhexidina; grupo 2 (TB): TiBrush™ + clorhexidina; grupo 3 (US): punta de ultrasonidos + clorhexidina, grupo 4 (C): Control. Tres meses más tarde se procedió al sacrificio de los animales.

6.5.1.1 Fase I: Extracción de los premolares mandibulares

En la primera cirugía se extrajeron los premolares 2, 3 y 4 de cada hemimandíbula en los ocho perros. Los dientes fueron hemiseccionados y extraídos cuidadosamente con botadores y fórceps (Figura 2).

Durante el período de cicatrización, los perros fueron incluidos en un programa de control de placa que consistió en la limpieza de sus dientes remanentes 3 veces a la semana con gasas embebidas en clorhexidina al 0,12% durante las dos primeras semanas y después 3 veces a la semana con cepillo de dientes y gel de clorhexidina.

Figura 2. Extracción de los premolares mandibulares.



Imágenes clínicas de la extracción de PM2, PM3 y PM4 mandibulares, previa hemisección de los mismos (10-04-2012).

6.5.1.2 Fase II: Colocación de los implantes dentales

En la segunda cirugía, realizada 3 meses después de la extracción de los dientes, se colocaron 48 implantes, seis en cada perro.

Para ello se levantó un colgajo de espesor total en la región premolar de cada hemimandíbula en la que se colocaron tres implantes Standar Roxolid (3.3x8 mm, Straumann® AG, Basel, Switzerland) con un pilar de cicatrización de 1,5 mm de altura. Los implantes se colocaron respetando una distancia de 6 mm con los dientes adyacentes y de 10 mm entre ellos.

Los colgajos fueron reposicionados con sutura reabsorbible (Coated VICRYL™ Rapide, Ethicon, US, LLC 2014) consiguiéndose un cierre primario de la herida (Figura 3).

Después de 3 meses de cicatrización no sumergida se procedió a la inducción de peri-implantitis mediante ligaduras.

Figura 3. Colocación de los implantes

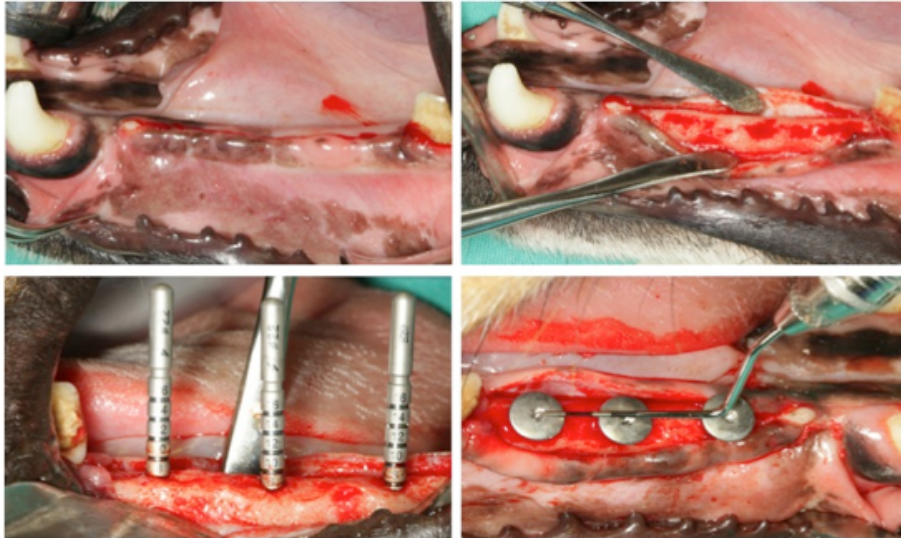


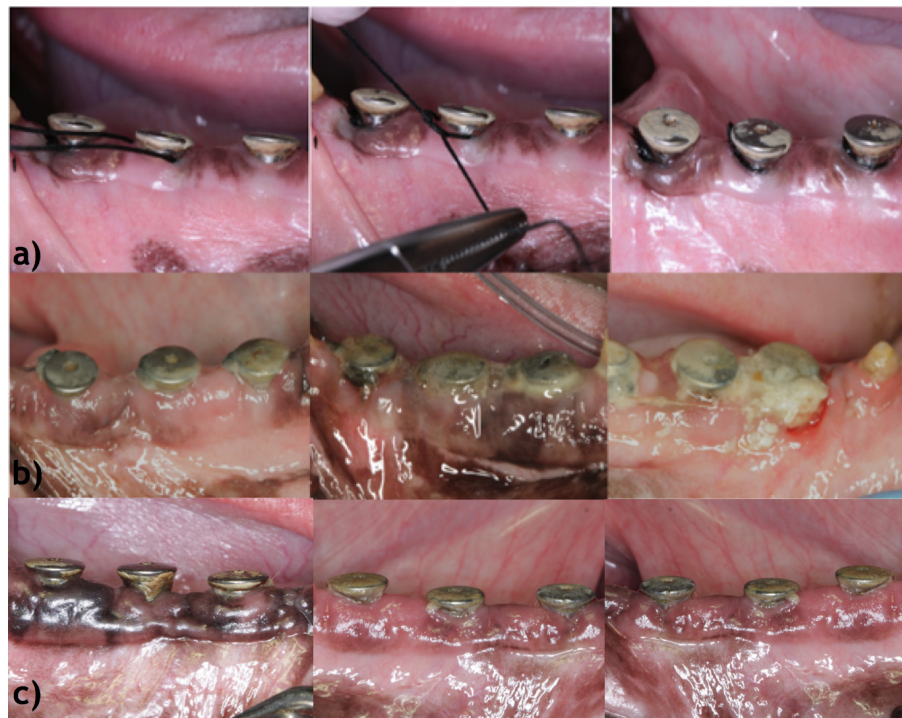
Imagen clínica intraquirúrgica del momento de la colocación de los implantes Standar Roxolid (3.3x8 mm, Straumann® AG, Basel, Switzerland) (10-07-2012)

6.5.1.3 Periimplantitis inducida por ligaduras

Para la inducción de la peri-implantitis experimental en el perro se colocaron ligaduras de seda de 4-0 alrededor del cuello de cada implante siguiendo el método descrito por Lindhe y cols. en el año 1992 (Lindhe y cols. 1992). El programa de control de placa fue interrumpido y los perros alimentados con dieta blanda para favorecer la acumulación de placa. Las ligaduras fueron reemplazadas una vez al mes durante 3 meses (desde octubre de 2012 a enero de 2013), y fueron finalmente retiradas cuando se perdió aproximadamente el 30% del hueso inicial de soporte, como se observó en las mediciones clínicas y radiológicas.

Durante el siguiente mes no se restauró el control de placa permitiendo su acumulación y la progresión de la lesión peri-implantaria (Figura 4 y 5).

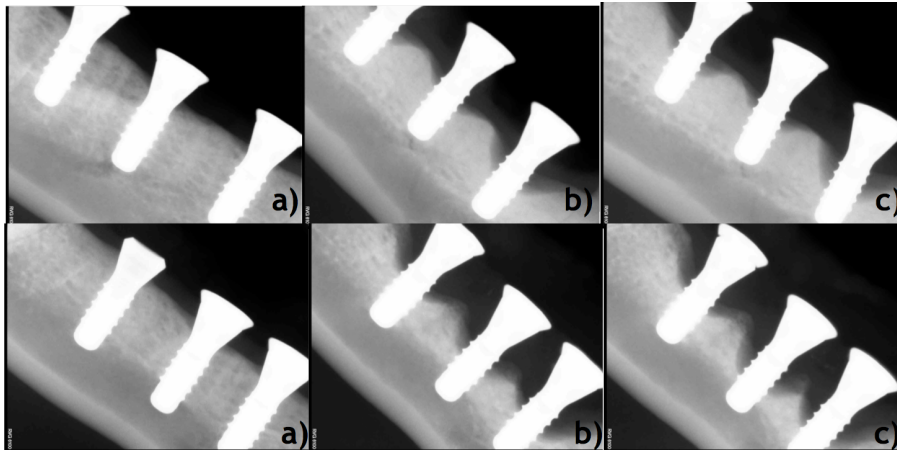
Figura 4. Periimplantitis experimental I. Imágenes clínicas



a) Inicio de la fase de inducción de la periimplantitis experimental, colocación de las ligaduras (09-10-2012). b) Final de la fase de inducción de la periimplantitis, retirada de las ligaduras (08-01-2013). c) Final de la fase de progresión de la periimplantitis experimental [1 mes sin ligaduras y sin higiene oral, (05-02-2013)].



Figura 5. Periimplantitis experimental II. Imágenes radiológicas



a) Imagen radiológica inicial, antes de colocar las ligaduras (09-10-2012). b) Imagen radiológica tomada al final de la fase de inducción de la periimplantitis (08-01-2013). c) Imagen radiológica tomada al final de la fase de progresión (05-02-2013).

6.5.1.4 Fase III: Tratamiento quirúrgico de la periimplantitis.

En la tercera cirugía, realizada cuatro semanas después de haber retirado las ligaduras, se procedió al tratamiento quirúrgico de la periimplantitis experimental.

Se realizaron incisiones vestibulo-linguales y se levantó un colgajo de espesor total para acceder a la totalidad de los defectos en los 2 implantes mesiales de cada hemimandíbula. Todo el tejido de granulación fue eliminado con curetas de titanio.

El método de descontaminación de estos implantes fue asignado aleatoriamente:

- I. Test 1 (TBH): Ti-Brush® (Straumann® AG, Basel, Switzerland) y suero salino al 0,9%, clorhexidina al 0,2% e hipoclorito de sodio al 0,1%.
- II. Test 2 (TB): Ti-Brush®, suero salino al 0,9% y clorhexidina al 0,2%.

- III. Test 3 (US): Ultrasonidos con punta de teflón (Piezon® Master 700. EMS, Switzerland), suero salino al 0,9% y clorhexidina al 0,2%.

En el implante distal de cada hemimandíbula no se realizó ningún tratamiento y estos implantes sirvieron como control.

Los colgajos fueron reposicionados consiguiéndose un cierre primario de la herida y el control de placa restaurado con la limpieza 3 veces por semana de dientes e implantes con gasas embebidas en clorhexidina al 0,12% durante las dos primeras semanas, y posteriormente, con el cepillado de dientes e implantes con gel de clorhexidina hasta el final del estudio, 3 meses más tarde.

Figura 6. Tratamiento quirúrgico de la periimplantitis



Imágenes intraquirúrgicas del tratamiento. Las lesiones periimplantarias fueron aleatoriamente asignados a 4 grupos de tratamiento: Grupo 1 (TBH): TiBrush™ + hipoclorito de sodio + clorhexidina; grupo 2 (TB): TiBrush™ + clorhexidina; grupo 3 (US): punta de ultrasonidos + clorhexidina, grupo 4 (C): Control. Tres meses más tarde se procedió al sacrificio de los animales.

6.5.2 Variables clínicas

Se tomaron medidas clínicas en 4 puntos por implante (mesial, distal, vestibular y lingual) usando la sonda periodontal PCPUN15 (Hu-Friedy Co., Chicago, Illinois, USA).

Las mediciones clínicas fueron tomadas inmediatamente antes de la colocación de las ligaduras para la inducción de la peri-implantitis, una vez al mes durante la fase de inducción de la periimplantitis experimental (cada vez que se cambiaban las ligaduras), inmediatamente antes del tratamiento de la periimplantitis experimental, y tres meses después del tratamiento de la peri-implantitis (Figura 7).

Todas las variables clínicas fueron recogidas en una hoja de registro diseñada específicamente para este estudio para cada una de las variables clínicas estudiadas en cada visita y para cada perro (Anexo 3).

Figura 7. Variables clínicas



Imagen clínica antes de la colocación de las ligaduras para la inducción de la periimplantitis experimental.

Todas las mediciones clínicas fueron tomadas por una investigadora calibrada (CC), cegada a las condiciones del experimento, en 4 puntos por implante, mesio-vestibular (MV), medio-vestibular (V), disto-vestibular (DV) y medio-lingual (L). Estas fueron:

-Índice de placa modificado (Mombelli y cols. 1987) (PI). Se trata de una adaptación del índice de placa original de Løe & Silness 1964. Se divide en 4 grados según la afectación:

1. No placa
2. Placa no visible, pero si reconocible con sonda
3. Placa visible
4. Abundante acúmulo de placa

-Índice gingival modificado (Mombelli y cols. 1987) (GI).

1. No sangrado después de pasar la sonda periodontal por el surco periimplantario
2. Puntos aislados de sangrado
3. Líneas de sangrado confluyentes en la mucosa
4. Sangrado profuso

-Profundidad de sondaje (PD), medido desde el margen de la mucosa (M) hasta el fondo de la bolsa (BP).

-Recesión (Rec), medida desde el hombro del implante (S) al margen de la mucosa peri-implantaria (M).

-Nivel clínico de inserción (CAL) medido desde el hombro del implante (S) hasta el fondo de la bolsa (BP).

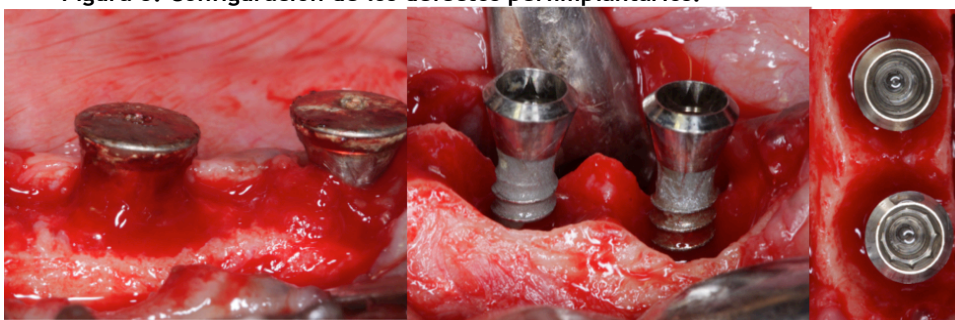
Además se tomaron medidas clínicas intraquirúrgicas de:

- La distancia del hombro del implante a la cresta ósea (S-BC).
- La distancia del hombro del implante al fondo del defecto peri-implantario (S-BD).

Se registró también la configuración de los defectos según la clasificación descrita por Schwarz y cols. en el año 2007. (Schwarz y cols. 2007). En esta clasificación se dividen los defectos según sean intraóseos (Clase I), o supraóseos (Clase II). Los defectos intraóseos además se clasifican en 5 tipos de defectos (Ia-e) en relación con la anchura y la profundidad del componente intraóseo (Figura 8).

Todas las medidas clínicas, incluidas las medidas intraquirúrgicas fueron recogidas en unos formularios diseñados específicamente para este experimento. Cada variable clínica en cada visita de seguimiento en cada perro tenía su propio formulario. Estos se presentan en el anexo 3.

Figura 8. Configuración de los defectos periimplantarios.



Vista intraquirúrgica de los defectos óseos periimplantarios.

6.5.2.1 Cegamiento

Todas las mediciones clínicas fueron realizadas por la misma examinadora (Examinadora A, CC). La examinadora fue entrenada y calibrada con un periodoncista experimentado (Examinador B, JB), quien representaba el “gold standar”.

La reproducibilidad intra-examinador fue evaluada como el error estándar de la diferencia media de las mediciones por duplicado. Esta fue de 0,18 y 0,09 mm para el examinador B para las mediciones clínicas. Se estableció la concordancia inter-examinador como el error estándar de la diferencia media de las mediciones realizadas por el examinador A y las realizadas por el examinador B en 6 pacientes que acudieron al Master de Periodoncia del Departamento de Estomatología de la Facultad de Medicina y Odontología de Santiago de Compostela. Esta concordancia fue de 0,16 mm. El 80% de todas las mediciones clínicas llevadas a cabo por los dos examinadores estaba dentro de 1 mm.

6.5.3 Variables radiológicas

Se realizaron radiografías periapicales con técnica paralela inmediatamente antes de la colocación de las ligaduras para la inducción de la peri-implantitis experimental, al finalizar la fase de inducción, al finalizar la fase de progresión y tres meses después del tratamiento de la peri-implantitis experimental.

Para estandarizar las radiografías periapicales se empleó un sistema paralelizador (sistema XCP™; Dentsply Rinn, 1301 Smile

Way, York, Pa) individualizado para cada perro con un registro oclusal de silicona. Sin embargo, debido a las características anatómicas del perro no siempre se consiguió la reproductibilidad deseada en todas las radiografías.

El nivel óseo fue definido como la distancia desde la interfase superficie lisa/ rugosa (identificada 2,8 mm apical al hombro del implante) al primer contacto identificable entre la superficie del implante y el hueso. Esta distancia se midió en los aspectos mesial y distal del implante. La pérdida ósea radiográfica, se definió como la diferencia entre los niveles óseos al principio y al final de un determinado periodo de tiempo.

Para efectuar las mediciones radiográficas, se empleó un programa informático (AutoCAD 2010; Autodesk, Inc, 111 McInnis Parkway, San Rafael, CA, USA) y las radiografías fueron puestas a escala empleando la longitud del implante como medida de referencia. Cuando la radiografía no mostraba la longitud completa del implante, la medida de referencia empleada fue la anchura del implante. Para detectar errores en el proceso de escalado, en todas las radiografías se realizaron mediciones de verificación empleando la distancia entre espiras. Si esta medida de verificación difería más de 0,05 mm de su valor real (1 mm), esta imagen a escala se desechaba y la radiografía era puesta a escala nuevamente. Para cada radiografía se calculó la media de las mediciones mesial y distal, y este valor medio fue empleado para las comparaciones y el análisis estadístico.

Todas las mediciones clínicas fueron tomadas por una investigadora calibrada (CC), cegada a las condiciones del experimento.

6.5.3.1 Análisis de concordancia para el estudio radiológico

Para el análisis de concordancia del estudio radiológico se calcularon los siguientes parámetros:

- 1) % de concordancia simple para la evaluación intraobservador.
- 2) valor de kappa para la concordancia intraobservador.

Al objeto de disponer de un valor de referencia se ha considerado el valor de 0.5 mm como límite aceptable de error en las coincidencias entre mediciones.

La investigadora calibrada (CC), midió un total de 48 radiografías y se compararon las 2 mediciones realizadas.

El porcentaje de concordancia simple fue de 91,7% (44/48) y el valor Kappa de 0,67. Por lo que se consideró que la calibración intraexaminador fue buena (interpretación del índice kappa: valores entre 0,6-0,8= Bueno).

6.5.4. Variables histológicas

6.5.4.1. Preparación histológica de las muestras

Después de 3 meses de cicatrización, los perros fueron sedados con medetomidina (30 µg/kg/i.m., Esteve, Barcelona, Spain) y luego sacrificados con una sobredosis de una inyección intravenosa de pentobarbital sódico (40–60 mg/kg/i.v., Dolethal, Vetoquinol, France).

Posteriormente, las mandíbulas se diseccionaron y se fijaron en una solución tamponada de formaldehído al 10% a una temperatura de 4°C durante una semana. Con anterioridad a la fijación, los 48 implantes fueron recuperados con los tejidos blandos intactos y separados individualmente utilizando una sierra de cinta.

Los bloques que contenían el implante y los tejidos duros y blandos alrededor del implante se diseccionaron y se procesaron siguiendo el método descrito por Donath y Breuner (Donath y Breuner 1982). Las muestras se deshidrataron en una serie graduada de soluciones de etanol embebidos en una resina fotopolimerizable (Technovit 7200 VLC; Heraeus Kulzer-GMBH, Werheim, Alemania). De cada muestra, se preparó una sección central bucolingual utilizando una sierra de cinta y micropulido mecánico (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Alemania), utilizando papeles de grano de carburo de silicio (Struers, Copenhague, Dinamarca). Se obtuvieron muestras con un espesor de aproximadamente 50 micras. Las muestras se tiñeron con Levai Laczkó (Lazkó, Levai 1975) para evaluar la formación de hueso nuevo.

6.5.4.2. Análisis histomorfométrico

Para la adquisición de una imagen de microscopía de luz motorizada se utilizó una cámara digital conectada a un sistema de captura de imagen basado en PC (BX51, DP71, Olympus Corporation, Japón). Los puntos de interés fueron identificados a partir de las imágenes histológicas digitalizadas, con el fin de medir las distancias posteriormente utilizando un sistema automatizado de análisis de imagen (cellSens, Olympus Corporation, Japón). Se seleccionaron puntos de referencia siguiendo las directrices publicadas previamente (Schwarz y cols. 2011). Todos los puntos de referencia en las secciones histológicas fueron marcados por dos examinadores de forma independiente y, posteriormente, comparados y discutidos. Se obtuvieron mediciones lineales por un investigador experimentado enmascarado a las condiciones experimentales específicas (MP).

Los siguientes puntos de interés fueron identificados utilizando un lápiz digital en vestibular y lingual de cada implante (Figura 8).

- Hombro del implante (IS),
- Margen de la mucosa periimplantaria (PM),
- Borde apical del epitelio (aBE),
- Extensión apical del infiltrado de células inflamatorias (aICT),
- Nivel más coronal de hueso en contacto con el implante (fBIC),
- Fondo del defecto óseo (hueso no remodelado) (BD),
- Cresta ósea, que se define como el punto más coronal de hueso no remodelado (BC).

Se realizaron también medidas lineales entre líneas de referencia trazadas perpendiculares al eje longitudinal del implante y se definieron:

- AB: anchura biológica, definida como la distancia entre PM (margen de la mucosa periimplantaria) y fBIC (nivel más coronal de hueso en contacto con el implante).
- BE: barrera epitelial, definida como la distancia entre PM y aBE (porción apical de la barrera epitelial).
- TC: tejido conectivo, definido como la distancia entre aBE y

fBIC.

-Distancia aICT-BC: distancia entre la extensión apical del infiltrado inflamatorio del tejido conectivo y la cresta ósea.

-BDD: profundidad del defecto óseo, medido como la distancia entre BD (fondo del defecto) y BC (cresta ósea).

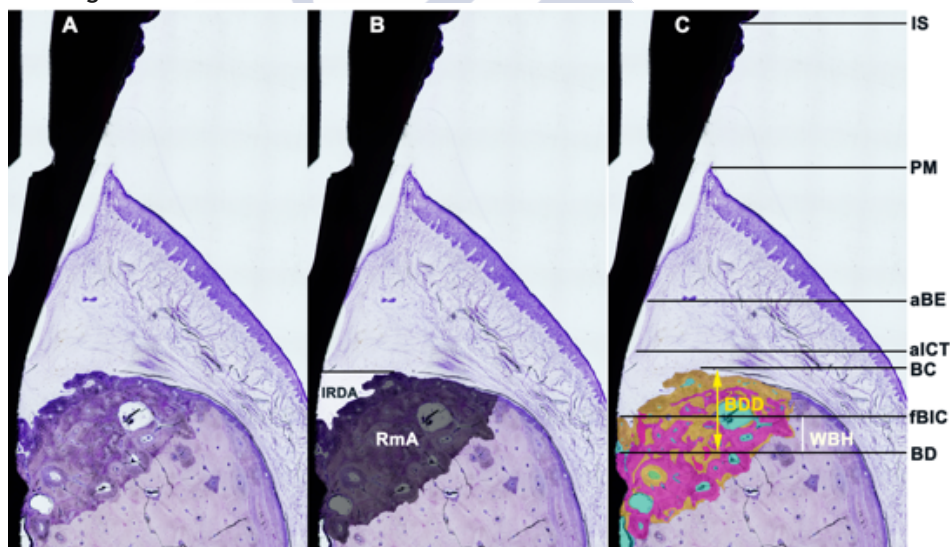
-WBH: altura del hueso reticular de nueva formación, medido como la distancia entre BD y fBIC.

Además se identificó una región de interés (ROI) definida como la suma del área del defecto residual infraóseo (IRDA) más el área de remodelado óseo (RmA).

El área de remodelado óseo (RmA) se definió asimismo como el área ocupada por el nuevo hueso remodelado.

La relación entre ROI y RmA fue calculada y expresada como porcentaje de relleno óseo. Además también se determinó el porcentaje de contacto hueso implante y la proporción ocupada por hueso lamelar, hueso medular o hueso reticular de nueva formación en la región de interés (ROI).

Figura 9. Análisis histomorfométrico



IS: hombro del implante, PM: margen de la mucosa periimplantaria, aBE: porción apical del epitelio de unión, aICT: extensión apical del infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo, fBIC: nivel más coronal de hueso en contacto

con el implante, **BD**: fondo del defecto óseo, **BC**: cresta ósea, **BDD**: profundidad del defecto óseo, definido como la distancia BD-BC, **WBH**: altura del hueso reticular de nueva formación, definida como la distancia entre BD y fBIC, **IRDA**: área del defecto residual intraóseo, **RmA**: área de remodelado, definido como el área ocupado por el nuevo hueso remodelado. El hueso reticular se representa en amarillo, el lamelar en rosa y el hueso medular en color verde.

6.5.5. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el perro como unidad de análisis (n=8), y como Variable principal se escogió la altura de hueso reticular de nueva formación (WBH) expresada en mm. Como Variables secundarias se analizaron infiltrado inflamatorio, y anchura biológica (medidas histológicas), índice gingival, profundidad de sondaje, y nivel de inserción (antes y después del tratamiento, medidas clínicas) y configuración del defecto (medida clínica intraquirúrgica).

Se calcularon las medias y desviaciones estándar de todos los parámetros clínicos e histomorfométricos para cada implante en cada perro, usando el software del programa estadístico SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Para el análisis estadístico de las variables histomorfométricas entre grupos se empleó el test de análisis de la varianza (ANOVA) y se aplicó el test post hoc corrector de Bonferroni para comparaciones múltiples:

- 1.- Variable repuesta: cantidad de nuevo hueso formado; variable cuantitativa continua.
- 2.- Variable exposición: tipo de tratamiento; variable categórica de más de 2 categorías.

Para el análisis de las mediciones clínicas se calculó la variable cambio y se realizó el test ANOVA aplicando el test post hoc de Bonferroni para el análisis intergrupo.

Para el análisis de las radiografías se realizó un ANOVA de medidas repetidas para la variable nivel óseo en basal, tras la inducción de la periimplantitis, después de la fase de progresión y después del tratamiento, y un ANOVA mixto con corrección de Bonferroni para la variable pérdida ósea en inducción, progresión y tratamiento.

Para calcular la proporción de defectos óseos en cada grupo de tratamiento basados en la clasificación propuesta por Schwarz y cols. (Schwarz y cols. 2007) se empleó el test de Chi cuadrado, y los resultados se muestran en una tabla de contingencia.

La hipótesis nula fue rechazada cuando $p < 0,05$.



7. RESULTADOS





7. RESULTADOS

7.1. RESULTADOS CLÍNICOS

Aunque no se observaron eventos adversos en los animales ni durante el desarrollo del protocolo quirúrgico ni durante la reanimación de la anestesia, un perro murió un mes antes del final del estudio debido a un shock hipovolémico inducido por una fractura mandibular después de una mordedura. Por este motivo no se pudieron realizar las mediciones clínicas al final del estudio en este perro, tomadas tres meses después del tratamiento de la periimplantitis experimental.

Sin embargo, las muestras de la mandíbula y de los implantes fueron igualmente fijadas y procesadas para su posterior análisis histológico.

En el resto de los perros se calculó la media y la desviación estándar del índice de placa (PI), índice gingival (GI), profundidad de sondaje (PD), recesión (R), y nivel clínico de inserción (CAL) inmediatamente antes de la colocación de las ligaduras para la inducción de la periimplantitis, una vez al mes durante la fase de la periimplantitis experimental, en el momento del tratamiento de la periimplantitis y tres meses después. En la tabla 3 se muestran los resultados clínicos en el momento del tratamiento de la periimplantitis (0) y después del tratamiento de la misma (3).

Antes de la colocación de las ligaduras no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables clínicas estudiadas entre los grupos test y control (ANOVA $p < 0,05$).

En el momento del tratamiento de las periimplantitis, tras la fase de inducción mediante ligaduras, todos los implantes exhibían grandes cantidades de placa y todos los parámetros clínicos se vieron incrementados respecto al inicio, existiendo una marcada inflamación de la mucosa periimplantaria que se mostró edematosa y enrojecida generando un aumento en los niveles de sangrado, recesión respecto a su posición inicial y aumento de la profundidad de sondaje lo que conlleva una pérdida de inserción y destrucción de los tejidos periimplantarios, pero nuevamente sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA $p < 0,05$).

Sin embargo, tres meses después del tratamiento de la periimplantitis experimental todos los parámetros clínicos mejoraron, incluso en el grupo control donde no se realizó tratamiento.

La reducción de la profundidad de sondaje (PD) fue mayor en los grupos test que en el grupo control, observándose diferencias estadísticamente significativas (ANOVA $p < 0,05$).

Además todos los implantes en el grupo test mostraron ganancia en el nivel de inserción (CAL) aunque en este caso solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Ti-Brush (TB 3,73 (0,83) mm y TBH 4,16 (1,5) mm) cuando se comparaban con los implantes del grupo control 5,83 (1,3) mm, (ANOVA $p < 0,05$).

En cuanto al índice gingival (GI), aunque su disminución fue evidente en todos los grupos test, solo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo TB 0,68 (0,28) y el control 1,61 (0,65), (ANOVA $p < 0,05$).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en relación al índice de placa (PI) ni la recesión (R).

Tabla 3. Resultados clínicos

	TBH Media (DS)		TB Media (DS)		US Media (DS)		Control Media (DS)	
	(0)	(3)	(0)	(3)	(0)	(3)	(0)	(3)
PI	2.28 (0.57)	1.14 (0.73)	2.03 (0.89)	1.57 (0.81)	2.09 (0.88)	1.53 (0.81)	2.53 (0.49)	1.55 (0.72)
GI	1.91 (0.89)	0.93 (0.84)	2.37 (0.93)	0.68 (0.28)*	2.44 (0.84)	0.89 (0.45)	2.48 (0.59)	1.61 (0.65)
PD	4.91 (0.89)	2.87 (0.94)*	5.12 (1.22)	2.57 (0.31)*	5.31 (1.15)	2.86 (0.76)*	5.02 (0.63)	4.36 (0.74)
Rec	1.69 (1.14)	1.28 (0.92)	1.48 (0.79)	1.30 (0.8)	1.52 (1.19)	1.33 (0.76)	1.67 (0.95)	1.46 (0.89)
CAL	6.59 (1.59)	4.16 (1.5)*	6.59 (1.69)	3.73 (0.83)*	6.97 (2.12)	4.19 (0.98)	6.62 (1.19)	5.83 (1.3)

Media y desviación estándar (DS). (0) antes del tratamiento (n=8). (3) 3 meses después del tratamiento (n=7). PI: índice de placa modificado, GI: índice gingival modificado, PD: profundidad de sondaje, Rec: recesión y CAL: nivel clínico de inserción. * p value < 0.05 (ANOVA). Grupos Test (TBH, TB and US) *versus* Control.

7.1.1. Defectos óseos periimplantarios

Durante el tratamiento quirúrgico de la periimplantitis se observaron dos tipos de defectos óseos periimplantarios: los defectos de tipo I caracterizados por su componente intraóseo y/o los defectos de tipo II caracterizados por una pérdida ósea horizontal (Schwarz y cols. 2007).

En veintiocho de los 48 implantes del estudio (el 58,3%), se observó un defecto intraóseo circunferencial tipo Ie asociado a defectos tipo II. Este tipo de defectos fue el que más predominó en este estudio.

Cuatro de los 48 implantes presentaban defectos de tipo II sin componente intraóseo, tres de ellos en el grupo TBH y uno en el grupo TB.

En el 18,8 % de los implantes se observó un defecto tipo II asociado a un defecto intraóseo tipo Ic.

El 6,3 % de los defectos era de tipo Id, el 4,3% Ib y un implante en el grupo control y un implante en el grupo TBH presentaron un defecto combinado tipo II+Ib y II+Id respectivamente.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación al tipo de defecto entre grupos (Tabla 4).

Tabla 4. Defectos óseos periimplantarios. Tabla de contingencia

Defecto óseo	TBH		TB		US		Control		Total	
	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%
2	3	18.8	1	12.5	0	0	0	0	4	8.3
1b	0	0	0	0	1	12.5	1	6.3	2	4.2
1d	2	12.5	0	0	0	0	1	6.3	3	6.3
2+1b	0	0	0	0	0	0	1	6.3	1	2.1
2+1c	2	12.5	3	37.5	2	25	2	12.5	9	18.8
2+1d	1	6.3	0	0	0	0	0	0	1	2.1
2+1e	8	50	4	50	5	62.5	11	68.8	28	58.3
Total	16	100	8	100	8	100	16	100	48	100

7.2. RESULTADOS RADIOGRÁFICOS

Se calculó el nivel óseo en basal, antes de la colocación de las ligaduras para la inducción de la periimplantitis experimental y 3 meses después de la colocación de los implantes, al finalizar la fase de inducción (3 meses después de colocar las primeras ligaduras, que se cambiaron una vez al mes y se suprimió el control de placa), al finalizar la fase de progresión (un mes después de retirar las ligaduras en el que tampoco se realizó control de placa) y tres meses después del tratamiento de la peri-implantitis experimental (Tabla 5).

En basal, el nivel óseo estaba ligeramente más apical a la interfase superficie lisa/rugosa del implante en todos los grupos de tratamiento: 0,51 (0,17) mm en el grupo 1 (TBH), 0,32 (0,35) en el grupo 2 (TB), 0,20 (0,3) en el grupo 3 (US), y 0,24 (0,23) en el grupo 4 (Control), siendo esta diferencia estadísticamente significativa entre el grupo 1 (TBH) y el grupo 4 control

Tras la fase de inducción y progresión de la periimplantitis experimental no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, siendo el nivel óseo medio de 2,63 (0,61) mm en el grupo 1 (TBH), 3,11 (0,69) en el grupo 2 (TB), 2,93 (0,65) en el grupo 3 (US), y 2,65 (0,54) en el grupo 4 (Control) al finalizar la fase de inducción de la periimplantitis, y de 2,7 (0,96) mm en el grupo 1 (TBH), 3,16 (0,94) en el grupo 2 (TB), 2,84 (0,63) en el grupo 3 (US), y 2,65 (0,59) en el grupo 4 (Control) al finalizar la fase de progresión, siendo en todos los grupos la pérdida ósea mayor al 30% de la superficie del implante.

Sin embargo, tras el tratamiento de la periimplantitis el nivel óseo aumentó a 1,47 (0,97) mm en el grupo 1 (TBH), 1,36 (0,39) en el grupo 2 (TB), 1,28 (0,83) en el grupo 3 (US), y 2,48 (0,74) en el grupo 4 (Control) (Figura 10).

Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, si se encontraron diferencias estadísticamente significativas dentro de los grupos tests, grupos 1 (TBH), 2 (TB) y 3 (US) cuando se comparaba el nivel óseo después del tratamiento con el nivel óseo al finalizar la fase de inducción y progresión de la periimplantitis. Estas diferencias no se encontraron en el grupo control.

Cuando se calculó la pérdida ósea, esta fue de 2,12 (0,61) mm en el grupo 1 (TBH), 2,79 (0,8) mm en el grupo 2 (TB), 2,73 (0,61) mm en el grupo 3 (US), y 2,41 (0,5) mm en el grupo 4 (Control), al terminar la fase de inducción, cuando las ligaduras fueron retiradas. Un mes más tarde, al finalizar la fase de progresión, en los implantes de los grupos TBH y TB, se perdió algo más de hueso 0,07 (0,48) mm, y 0,06 (0,63) mm respectivamente, mientras en los grupos US y Control hubo una pequeña ganancia ósea -0,1 (0,53) mm, -0,01 (0,45) mm respectivamente.

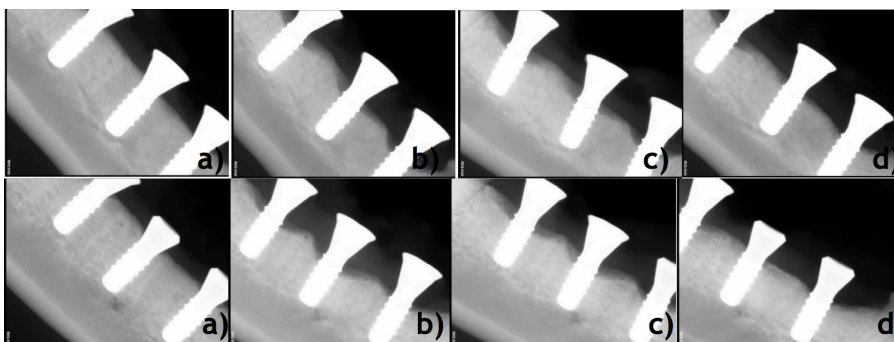
Después del tratamiento de la periimplantitis experimental todos los grupos experimentan ganancia ósea, siendo esta de -1,23 (0,93) mm en el grupo 1 (TBH), -1,8 (0,95) en el grupo 2 (TB), -1,56 (0,65) en el grupo 3 (US), y -0,17 (0,63) mm en el grupo 4 (Control). En este caso sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos test (TBH, TB y US) y Control (Tabla 6). Además, cuando se comparaba la pérdida ósea después de la fase inducción y progresión de la periimplantitis con la pérdida ósea después del tratamiento, también se encontraron únicamente diferencias estadísticamente significativas en los grupos test.

Tabla 5. Resultados radiográficos I. Nivel óseo.

Nivel Óseo	TBH		TB		US		Control	
	Media	(DS)	Media	(DS)	Media	DS	Media	(DS)
Basal	0,51*	(0,17)	0,32*	(0,35)	0,20*	(0,31)	0,24*	(0,23)
Inducción	2,63*	(0,61)	3,11*	(0,69)	2,93*	(0,65)	2,93	(0,54)
Progresión	2,7*	(0,96)	3,16*	(0,94)	2,84*	(0,63)	2,65	(0,59)
Tratamiento	1,47	(0,97)	1,36	(0,39)	1,28	(0,83)	2,48	(0,74)

Media y desviación estándar (DS). Basal: 3 meses después de la colocación de los implantes, antes de colocar las ligaduras. Inducción: 3 meses después de colocar las primeras ligaduras (n=8), Progresión: 1 mes después de retirar las ligaduras (n=8), Tratamiento: 3 meses después del tratamiento quirúrgico de la periimplantitis (n=7). * p value < 0.05 (ANOVA). Nivel óseo en Basal, Inducción, Progresión Vs. Tratamiento.

Figura 10. Imágenes radiográficas



Inducción: 3 meses después de colocar las primeras ligaduras (n=8), Progresión: 1 mes después de retirar las ligaduras (n=8), Tratamiento: 3 meses después del tratamiento quirúrgico de la periimplantitis (n=7).

Tabla 6. Resultados radiográficos II. Pérdida ósea.

Pérdida Ósea	TBH		TB		US		Control	
	Media	(DS)	Media	(DS)	Media	DS	Media	(DS)
Inducción	2,12#	(0,61)	2,79#	(0,8)	2,73#	(0,61)	2,41#	(0,5)
Progresión	0,07#	(0,48)	0,06#	(0,63)	-0,1#	(0,33)	-0,01	(0,45)
Tratamiento	-1,23*	(0,93)	-1,8*	(0,95)	-1,56*	(0,65)	-0,17	(0,63)

Media y desviación estándar (DS). Inducción: 3 meses después de colocar las primeras ligaduras (n=8), Progresión: 1 mes después de retirar las ligaduras (n=8), Tratamiento: 3 meses después del tratamiento quirúrgico de la periimplantitis (n=7). * p value < 0.05 (ANOVA). Grupos Test (TBH, TB y US) versus Control. # p value < 0.05 (ANOVA). Nivel óseo (Basal, Inducción, Progresión) Vs. Tratamiento

7.3 RESULTADOS HISTOMORFOMÉTRICOS

7.3.1 Tejidos blandos

El análisis estadístico de las mediciones histométricas de los tejidos blandos periimplantarios en los grupos test y control reveló diferencias estadísticamente significativas únicamente entre el grupo TBH y el grupo control, en relación a la altura de la anchura biológica, medida desde el margen de la mucosa periimplantaria (PM) al primer contacto hueso implante (BIC), y en relación a la dimensión del tejido epitelial, medido desde el margen de la mucosa periimplantaria al borde apical del epitelio (aBE). En cambio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos de estudio en relación a la dimensión del tejido conectivo, medido desde el borde apical del epitelio al primer contacto hueso-implante (Tabla 7). Cuando se estudió la distancia entre la porción más apical del infiltrado inflamatorio del tejido conectivo (aICT) y el punto más coronal de contacto hueso implante (fBIC) se observó que esta distancia era menor en los implantes del grupo control que en los implantes del grupo test, resultando esta diferencia estadísticamente significativa entre los grupos Ti-Brush y el grupo control: TB 1,10 (0,53) mm, TBH 0,67(0,38) mm y control 0,20 (0,43) mm.

Tabla 7. Resultados histométricos de los tejidos blandos.

	TBH	TB	US	Control
	Media (DS)	Media (DS)	Media (DS)	Media (DS)
PM-fBIC	2,69* (0,34)	3,12 (0,3)	2,95 (0,3)	3,31* (0,47)
PM-aBE	1,47* (0,35)	1,57* (0,47)	1,56* (0,43)	2,17* (0,59)
aBE-fBIC	1,34 (0,19)	1,67 (0,61)	1,58 (0,39)	1,41 (0,48)
aICT-fBIC	0,67* (0,38)	1,10* (0,53)	0,58 (0,54)	0,20 (0,43)

* p value < 0.05 (ANOVA). Grupos Test (TBH, TB and US) versus Control.

PM: margen de la mucosa periimplantaria, fBIC: nivel más coronal de hueso en contacto con el implante, aBE, borde apical del tejido epitelial, aICT: extensión apical del infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo. PM-fBIC: dimensión de la anchura biológica, PM-aBE: dimensión del tejido epitelial, aBE-fBIC: dimensión del tejido conectivo, aICT-fBIC: distancia entre la extensión apical del infiltrado inflamatorio y el primer contacto hueso implante.

7.3.2 Tejidos duros

La altura del hueso reticular de nueva formación (WBH), variable principal del estudio, fue medida desde el fondo del defecto periimplantario (BD) al primer contacto hueso implante (fBIC) y ésta resultó ser mayor en los grupos test, [TBH 0,21 (0,24) mm, TB 0,21 (0,18) mm y US 0,17 (0,17) mm], que en el grupo control 0,08 (0,1) mm, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (ANOVA, $p > 0.05$). Sin embargo, sí se encontraron diferencias en relación con la profundidad del defecto óseo (BDD), medido desde el fondo del defecto periimplantario (BD) hasta la cresta ósea (BC), punto más coronal del hueso no remodelado. La profundidad del defecto óseo (BDD) fue significativamente mayor en el grupo control 0,98 (0,42) mm, que en los grupos test: TBH 0,31 (0,44) mm, TB 0,27 (0,20) mm y US 0,40 (0,44) mm (ANOVA, $p > 0.05$).

Cuando se midió la cantidad de relleno óseo calculado en la región de interés (ROI), éste resultó ser significativamente menor en los implantes del grupo control, 0,24 (0,28), comparado con los implantes en el grupo test, TBH 0,65 (,34), TB 0,84 (0,08) y US 0,63 (0,29), (ANOVA, $p > 0.05$).

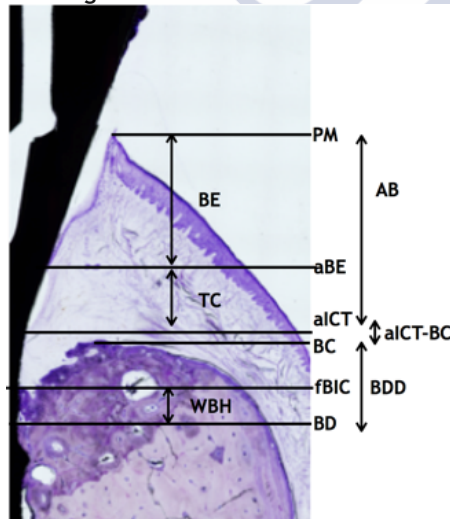
Además, cuando se calculó la proporción ocupada por hueso lamelar, hueso medular o hueso reticular de nueva formación en la región de interés (ROI), esta fue estadísticamente significativamente mayor en los grupos Ti-Brush que en el grupo control, como se puede apreciar en la tabla 8. También se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos test y control en relación al área del defecto residual intraóseo, que resultó ser significativamente mayor en el grupo control que en los grupos test después del tratamiento (Figuras 11 y 12).

Tabla 8. Resultados histomorfométricos tejidos duros

	TBH Media (DS)	TB Media (DS)	US Media (DS)	Control Media (DS)
WBH (BD-fBIC)	0.21 (0.24)	0.21 (0.18)	0.17 (0.17)	0.08 (0.1)
BDD (BD-BC)	0.31* (0.44)	0.27* (0.20)	0.40* (0.44)	0.98 (0.42)
H. Reticular%	28.61* (15.78)	33.03* (10.26)	24.84 (10.61)	10.75 (12.16)
H. Lamelar %	30.18* (16.68)	39.77* (9.31)	28.99 (19.71)	11.47 (15.45)
H. Medular %	11.24* (7.15)	11.57* (6.87)	10.38 (8.0)	3.0 (4.46)
IRDA %	39.97* (32.1)	15.63* (8.79)	35.8* (30.8)	74.78 (29.79)

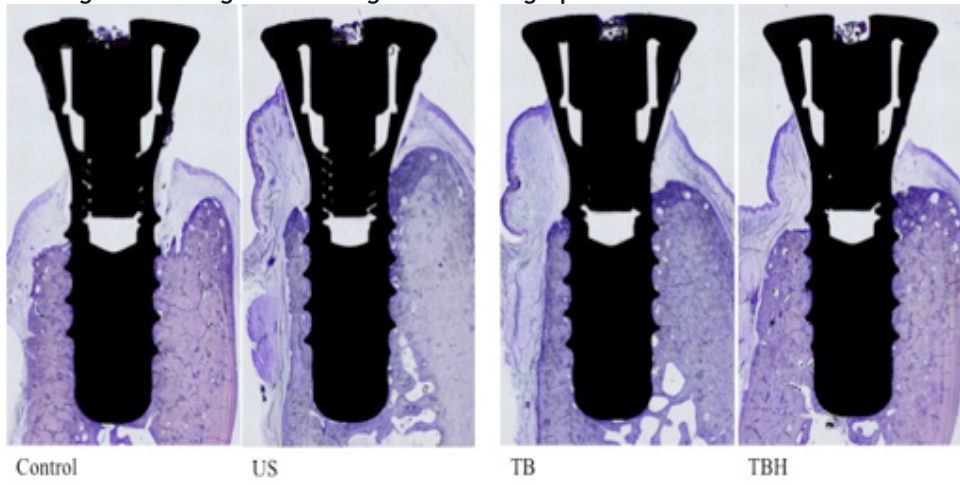
* p value < 0.05 (ANOVA). Grupos Test (TBH, TB and US) versus Control.
 alCT: extensión apical del infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo, fBIC: nivel más coronal de hueso en contacto con el implante, BD: fondo del defecto óseo, BC: cresta ósea, BDD: profundidad del defecto óseo, definido como la distancia BD-BC, WBH: altura del hueso reticular de nueva formación, definida como la distancia entre BD y fBIC, IRDA: área del defecto residual intraóseo.

Figura 11. Mediciones histomorfométricas



AB: anchura biológica, BE: tejido epitelial, TC: tejido conectivo, alCT-BC: distancia entre la porción más apical del infiltrado inflamatorio y la cresta ósea, BDD: defecto óseo, WBH: altura de hueso reticular de nueva formación.

Figura 12. Imágenes histológicas de los 4 grupos de tratamiento



Imágenes histológicas representativas de la cicatrización de los tejidos periimplantarios en los grupos Control, US, TB y TBH. Se observa un contacto directo entre el nuevo hueso formado y la superficie del implante únicamente en los implantes del grupo test (US, TB y TBH). (Cortes buco-linguales, magnificación original x 40).



8. DISCUSIÓN





8. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la eficacia de un nuevo método de descontaminación de la superficie de implantes afectados por periimplantitis, en términos de regeneración (variable histológica). Este método de descontaminación consistió en un cepillo de titanio con el empleo adicional de agentes químicos (hipoclorito de sodio y/o clorhexidina), que se utilizó tras el acceso quirúrgico a los defectos óseos periimplantarios.

Los cepillos de titanio fueron comparados con un ultrasonidos con punta de teflón como control positivo y con no hacer nada como control negativo.

Para el desarrollo de los defectos óseos periimplantarios, se empleó el modelo de periimplantitis experimental preconizado por Lindhe y colaboradores en el año 92 (Lindhe y cols. 1992), en el que se colocaban ligaduras alrededor del cuello de los implantes y se suspendían las medidas de higiene oral, con el objetivo de originar una bolsa en la que se crease una microbiota subgingival responsable de la destrucción inflamatoria del hueso subyacente. Una vez se perdiese entre el 30 y el 40% del hueso alrededor del implante, las ligaduras se retiraban y se dejaba que la periimplantitis progresase durante un mes.

Este modelo ha sido validado recientemente ya que se ha demostrado que los defectos óseos que se observan en periimplantitis experimental son muy similares a los defectos óseos que ocurren de manera natural en periimplantitis en humanos. Schwarz y colaboradores observaron que los defectos periimplantarios en 24 pacientes diagnosticados de periimplantitis moderadas-severas y los defectos creados tras la inducción de periimplantitis mediante ligaduras en 5 perros, eran en su mayoría defectos infraóseos circunferenciales, sin la dehiscencia de la cresta alveolar (defectos tipo 1e). Además, estudiaron el impacto de la configuración del defecto óseo periimplantario en los resultados clínicos del tratamiento regenerativo de la periimplantitis, y observaron que, precisamente los defectos en los que encontraron mejores resultados eran los defectos intraóseos circunferenciales (1e), siendo poco predecible la

regeneración en aquellos defectos en los que ya se había producido una dehiscencia de la tabla ósea vestibular del implante (Schwarz y cols. 2007, 2010).

En el presente estudio, el 58,3% de los implantes presentaron defectos circunferenciales (1e) después de inducir la periimplantitis mediante ligaduras, si bien en todos los casos estos se combinaban con defectos supraóseos (tipo 2). De hecho, en 4 de los implantes tratados posteriormente con los cepillos de titanio, los defectos óseos creados eran únicamente defectos supraóseos, defectos estos sin ningún potencial para la regeneración (Tabla 4).

Además, al finalizar las fases de inducción y progresión de la periimplantitis experimental, se observó que todos los parámetros clínicos evaluados (índice de placa, índice gingival, profundidad de sondaje, recesión y pérdida de inserción) estaban aumentados con respecto al inicio del estudio, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Sin embargo, tres meses después del tratamiento, todos los parámetros clínicos mejoraron, incluso en el grupo control donde no se realizó tratamiento, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre grupos test y control en relación a la reducción de la profundidad de sondaje (TBH, TB, US vs. Control), la ganancia del nivel de inserción (TBH y TB vs Control), y la reducción del índice gingival (TB vs. Control). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación a la recesión o el índice de placa, hecho este último probablemente condicionado por tratarse de un estudio a boca partida, donde todos los implantes, test y control, se beneficiaron de los mismos cuidados postquirúrgicos, que consistieron en la limpieza 3 veces por semana de dientes e implantes con gasas embebidas en clorhexidina al 0,12% durante las dos primeras semanas después del tratamiento quirúrgico, y posteriormente, con el cepillado de dientes e implantes con gel de clorhexidina hasta el final del estudio, 3 meses más tarde.

Cuando se comparó el nivel óseo radiográfico en basal, esto es, justo antes de la colocación de las ligaduras, y después de la inducción de la periimplantitis, en todos los grupos de estudio, test y control, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre estas dos

visitas. El nivel óseo en basal fue 0,51 (0,17) mm en el grupo 1 (TBH), 0,32 (0,35) en el grupo 2 (TB), 0,20 (0,3) en el grupo 3 (US), y 0,24 (0,23) en el grupo 4 (Control), y después de la inducción, la distancia entre la interfase superficie lisa/rugosa al primer contacto hueso implante aumentó a 2,63 (0,61) mm en el grupo 1 (TBH), 3,11 (0,69) en el grupo 2 (TB), 2,93 (0,65) en el grupo 3 (US), y 2,65 (0,54) en el grupo 4 (Control). Sin embargo, cuando se analizó el nivel óseo en progresión, un mes después de retirar las ligaduras pero en ausencia de control de placa, a penas se encontraron cambios con la fase de inducción, y el nivel óseo fue 2,7 (0,96) mm en el grupo 1 (TBH), 3,16 (0,94) en el grupo 2 (TB), 2,84 (0,63) en el grupo 3 (US), y 2,65 (0,59) en el grupo 4 (Control).

En cambio, tres meses después del tratamiento, en todos los grupos test (TBH, TB y US) el cambio en el nivel óseo fue estadísticamente significativo cuando se comparó con las visitas de inducción y progresión, aunque en ninguno de los casos se volvió al valor basal. Este fue 1,47 (0,97) mm en el grupo 1 (TBH), 1,36 (0,39) en el grupo 2 (TB), 1,28 (0,83) en el grupo 3 (US), y 2,48 (0,74) en el grupo 4 (Control). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en esta visita (TBH, TB, US vs. Control). Sí se encontraron cuando se calculó la variable pérdida ósea definida como el nivel óseo después del tratamiento menos el nivel óseo antes del tratamiento, que en todos los grupos fue negativo, por lo que se podría hablar de ganancia ósea radiográfica, que fue significativamente menor en el grupo control: -1,23 (0,93) mm en el grupo 1 (TBH), -1,8 (0,95) en el grupo 2 (TB), -1,56 (0,65) en el grupo 3 (US), y -0,17 (0,63) mm en el grupo 4 (Control).

Hasta la actualidad, se han realizado muchos estudios con el objetivo de encontrar el método ideal para descontaminar las superficies de los implantes de los detritus bacterianos causantes de la infección periimplantaria, sin embargo, hasta el momento ninguno de los métodos estudiados demostró ser mejor que otros para conseguir este objetivo, ni en tratamientos quirúrgicos ni no quirúrgicos de la enfermedad (Renvert y cols. 2008, Claffey y cols. 2008, Figuero y cols. 2014, Heitz Mayfield y Mombelli 2014).

De hecho, en la actualidad se ha asumido que el tratamiento no

quirúrgico de la periimplantitis, aunque es necesario, no es suficiente para resolver esta patología, pese a los esperanzadores hallazgos que relacionan el tratamiento no quirúrgico con el empleo de antibióticos locales o sistémicos y la disminución de los parámetros clínicos de inflamación (Renvert y cols. 2008).

Por el contrario, se cree que el tratamiento de la periimplantitis requiere siempre un abordaje quirúrgico, en el que independientemente de la técnica que se emplee, siempre se eleva un colgajo para acceder al defecto periimplantario, desbridar el biofilm bacteriano y el tejido inflamado, y descontaminar la superficie del implante antes de realizar una cirugía resectiva, regenerativa o mixta (resectiva y regenerativa), en función de la configuración del defecto periimplantario (Schwarz y cols. 2010), la localización del implante (Schwarz y cols. 2006) o parámetros radiológicos (Schwarz y cols. 2008).

Sin embargo, pocos son los estudios en humanos que aportan únicamente resultados de cirugía de acceso con descontaminación de la superficie del implante sin realizar procedimientos resectivos y/o regenerativos (Renvert y cols. 2008).

Estudios en animales han demostrado que después de la descontaminación de la superficie de los implantes y su cicatrización sumergida se puede conseguir relleno óseo de los defectos periimplantarios (Persson y cols. 1999, Schwarz y cols. 2006), aunque con frecuencia se ha observado mediante histología, tejido conjuntivo encapsulado interpuesto entre la superficie del implante tratado y el nuevo hueso regenerado infiltrado o no por células inflamatorias (Schwarz y cols. 2006, Persson y cols. 1999).

En el año 2001, Persson y colaboradores publicaron un estudio realizado en 2 perros Beagle, en el que después de descontaminar la superficie de implantes sometidos a periimplantitis experimental con bolitas de algodón y el suministro de antibióticos sistémicos, reemplazaron los componentes más coronales de los implantes test por componentes prístinos (Persson y cols. 2001). Los resultados al mes tras la cicatrización sumergida, mostraron que aunque en los implantes de grupo control se consiguió algo de relleno óseo después del tratamiento, únicamente se consiguió reoseointegración en los

implantes del grupo test donde además no se observó la presencia de tejido conectivo interpuesto. Este estudio sugiere que a pesar de que es posible conseguir regeneración ósea, la descontaminación de la superficie de los implantes no puede lograr una reoseointegración sustancial, y que la superficie del implante es de decisiva importancia para conseguirla.

Los resultados de la revisión sistemática de estudios experimentales in vivo realizada por Renvert (Renvert y cols. 2009), cuyo objetivo fue buscar en la literatura la evidencia existente de reoseointegración en superficies previamente contaminadas de implantes, concluyó que es posible pero no predecible obtener reoseointegración independientemente del método de descontaminación empleado, y que a su vez ésta se verá muy influenciada por la superficie del implante a tratar.

El grupo de Carcuac y colaboradores en su estudio del año 2015, evaluaron el efecto, en términos de inflamación, del tratamiento quirúrgico de la periimplantitis experimental en implantes con diferentes características de superficie, empleando suero salino o clorhexidina como agentes descontaminantes, y concluyeron que la resolución de la periimplantitis es posible sin el empleo de antimicrobianos locales o sistémicos, pero que los resultados están influenciados por las características de superficie de los implantes (Carcuac y cols. 2015).

Estudios recientes en humanos también han sugerido que el método empleado para la descontaminación de la superficie de los implantes no va a influir en los resultados de los tratamientos quirúrgicos, que se verán más condicionados por la superficie del implante (Rocuzzo y cols. 2009, Carcuac y cols. 2015, Swcharz y cols. 2017) o por el tipo de cicatrización en técnicas regenerativas (Roos-Jansaker y cols. 2007 a-b).

En el presente estudio se propone el acceso quirúrgico a los defectos periimplantarios para descontaminar la superficie de los implantes mediante cepillos de titanio en combinación con hipoclorito de sodio y/o clorhexidina en implantes con superficie SLA y con cicatrización no sumergida.

Los cepillos de titanio han mostrado en estudios in vitro respetar la microtopografía de implantes con superficies maquinadas y con superficies grabadas y arenadas (SLA), (Park y cols. 2015). El hipoclorito de sodio por su parte ha demostrado ser muy eficiente contra patógenos relacionados con periimplantitis como *Candida albicans*, *Streptococcus sanguis* o *Staphylococcus epidermis* (Brüggers y cols. 2012), y tener un importante efecto para evitar la adhesión a la superficie del implante de bacterias anaerobias Gram negativas, aunque no mejores que los de la clorhexidina, el peróxido de hidrógeno o el Listerine® (Gosau y cols. 2010). En cambio, no se había investigado el efecto combinado de cepillos de titanio con el empleo de hipoclorito de sodio y/o clorhexidina en cirugías de acceso en modelos in vivo.

La variable principal de este estudio fue la cantidad, en altura, de hueso reticular creado en los defectos óseos resultantes de la progresión espontánea de la periimplantitis experimental. Los resultados del estudio mostraron, que la altura de hueso reticular de nueva formación (WBH) fue mayor en todos los grupos test [TBH 0,21 (0,24) mm, TB 0,21 (0,18) mm, US 0,17 (0,17) mm] que en el grupo control, en el que no se realizó ningún tratamiento [0,08 (0,1) mm]. Sin embargo, no se pudieron encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Además, cuando se midió la cantidad de relleno óseo calculado en la región de interés (ROI), éste resultó ser significativamente mayor en los implantes del grupo test, TBH 0,65 (0,34), TB 0,84 (0,08) y US 0,63 (0,29) que en los implantes del grupo control 0,24 (0,28), aún cuando la profundidad de los defectos óseos fue significativamente mayor en el grupo control [0,98 (0,42) mm] que en los grupos test [TBH 0,31 (0,44) mm, TB 0,27 (0,20) mm y US 0,40 (0,44) mm].

Estos resultados pueden estar relacionados con el hecho de que, aunque en este estudio los métodos de descontaminación de los implantes fueron asignados aleatoriamente, se acordó que el implante distal de cada hemimandíbula se emplearía como implante control, en el que no se realizaría ningún tratamiento. De tal manera, que todos los implantes test fueron colocados en los alveolos cicatrizados de los

segundos y terceros premolares mandibulares, mientras los implantes del grupo control fueron siempre colocados a nivel del 4° premolar mandibular. Sin embargo, la mandíbula en el perro es más ancha en su región posterior, de tal manera que tras la extracción dental la anchura del reborde alveolar mandibular oscila entre 5 y 6 mm en el área más anterior de premolares y entre 6 y 8 mm en la región más posterior. Esto podría relacionarse con el hecho de que el 68,8% de los defectos óseos del grupo control fueran defectos circunferenciales y que la profundidad del defecto infraóseo en estos implantes fuera también significativamente mayor que en los implantes del grupo test.

En un estudio reciente en animales se crearon defectos circunferenciales de diferentes dimensiones alrededor de implantes dentales y se demostró que cuanto más estrecho era el defecto, mayor potencial regenerativo poseía (Polyzois y cols. 2007). Pero este concepto ya había sido demostrado en estudios clásicos de regeneración periodontal, que nos mostraron que cuanto más profundo y más estrecho sea el defecto infraóseo así como cuantas más paredes tenga, mayor es el potencial regenerativo del mismo (Tonetti y cols. 1993, Cortellini y cols. 1993).

Parece pues, que el hecho de no encontrar diferencias estadísticamente significativas en relación a la variable principal del estudio, hueso reticular de nueva formación (WBH), podría justificarse por las características de los defectos periimplantarios creados en los grupos test y control debido a su localización en la mandíbula del perro y a la dificultad de hallar diferencias estadísticamente significativas con un tamaño muestral tan pequeño (n=8), al tratarse de un estudio experimental.

Además, de los 48 implantes del estudio, 16 pertenecían al grupo 4 (Control), en el que no se realizaba ningún tratamiento, 16 al grupo 1 (TBH), en el que se empleaban cepillos de titanio con hipoclorito de sodio y clorhexidina, 8 al grupo 2 (TB), en el que se empleaban cepillos de titanio y clorhexidina, y 8 al grupo 3 (US) en el que se empleaba ultrasonidos con punta de teflón y corhexidina.

Los resultados de algunos estudios recientes parecen apuntar que la cicatrización sumergida después del acceso quirúrgico y la descontaminación de la superficie de los implantes seguida o no de la

regeneración de los defectos óseos periimplantarios, se relaciona con un mayor relleno óseo y reoseointegración que cuando la cicatrización es transmucosa (Schwarz y cols. 2006, Roos-Jansaker y cols. 2007a, b). Sin embargo, en este estudio la cicatrización de todos los implantes después de la cirugía de acceso fue transmucosa.

Una de las variables secundarias de este estudio, fue la distancia entre la porción más apical del infiltrado inflamatorio del tejido conectivo y la cresta ósea. En un estudio reciente en el que se comparaba la periodontitis y la periimplantitis experimental en el perro, se demostró que el infiltrado inflamatorio es mayor, se extiende más próximo a la cresta ósea y contiene mayores proporciones de neutrófilos y osteoclastos en las lesiones de periimplantitis que en las de periodontitis. Además en este estudio muestran que la principal diferencia en el comportamiento de los tejidos periodontales y periimplantarios se encuentra en el tamaño del infiltrado inflamatorio del tejido conectivo (ICT) y en la distancia entre el ICT y la cresta ósea. De hecho, el tamaño del ICT en periimplantitis es entre 4 y 6 veces mayor que en periodontitis, y en la lesión periodontal existe siempre al menos 1 mm de tejido conectivo sano, no infiltrado con células inflamatorias entre el hueso alveolar y la porción más apical del infiltrado inflamatorio del tejido conectivo (Carcuac y cols 2013).

En el presente estudio, se observó que la distancia entre la porción más apical del infiltrado inflamatorio del tejido conectivo (aICT) y el punto más coronal de contacto hueso implante (fBIC), era menor en los implantes del grupo control que en los implantes de los grupos test, resultando esta diferencia estadísticamente significativa entre los grupos Ti-Brush y el grupo control, donde en los grupos Ti-Brush existía al menos entre 1,10 (0,53) y 0,67(0,38) mm de tejido conectivo sano entre la cresta ósea y la porción más apical del tejido conectivo comparado con el grupo control [0,20 (0,43) mm]. Sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con la inflamación entre el grupo US [0,58 (0,54) mm] y el grupo control [0,20 (0,43) mm].

Cuando se comparan estos resultados con los resultados de los estudios clásicos previamente citados, se observa que los valores de inflamación son más coherentes con los resultados de inflamación en

periimplantitis en el grupo control. Así, en el estudio de Lindhe del año 92 (Lindhe y cols.), la distancia entre la porción más apical del infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo y el primer contacto hueso implante es de 0,17 (0,15) mm, en el estudio de Marinello (Marinello y cols 1995) es de 0,00 (0,00) mm al mes y en el de Carcuac del año 2013 (Carcuac y cols. 2013) es de 0,27 (0,22) mm en implantes con superficie torneada y 0,09 (0,15) en implantes con superficie TiUnite. Sin embargo, los resultados observados en el grupo 2 (TB), en el que se empleaban cepillos de titanio y clorhexidina sola, la distancia entre el infiltrado inflamatorio y la cresta ósea era mayor a 1 mm [1,1 (0,53)], observándose también en este grupo una disminución del índice gingival (índice clínico de inflamación) significativamente mayor que en el grupo control.

Por tanto, y pese a todas las limitaciones previamente comentadas de este estudio (diseño a boca partida, control localizado siempre en el mismo sitio anatómico del perro y el diferente número de casos (n) según el grupo de tratamiento), parece que, aunque los cepillos de titanio pueden ser una herramienta eficaz para la descontaminación de las superficies de los implantes en la cirugía de acceso, incluso superior al empleo de ultrasonidos con punta de teflón en términos de inflamación, el hipoclorito de sodio combinado con clorhexidina no ofrece ninguna ventaja respecto a la clorhexidina sola como método de descontaminación en periimplantitis.





9. CONCLUSIONES





9. CONCLUSIONES

1. La cirugía de acceso y la descontaminación de la superficie de los implantes con los métodos evaluados dio como resultado una mayor altura de hueso reticular (WBH), variable principal del estudio, en todos los grupos test, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con el grupo control.

2. Sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación a la distancia entre el infiltrado inflamatorio y la cresta ósea y el relleno óseo a favor de los grupos test 1 (TBH) y 2 (TB), con respecto al control.

3. En relación a los parámetros clínicos evaluados (profundidad de sondaje, sangrado al sondaje, pérdida de inserción y recesión), todos mejoraron después del tratamiento, pero únicamente se encontró significación estadística en relación a la ganancia de inserción en los grupos 1 (TBH) y 2 (TB), en la disminución de la profundidad de sondaje en los grupos 1, 2 y 3 (US), y en el índice gingival en el grupo 2 (TB) cuando se comparaban con el control.

4. El análisis radiográfico mostró mejorías en el nivel óseo todos los grupos test cuando se comparaban con el control.

5. Clínica y radiográficamente también se demostró que la inducción de periimplantitis mediante la colocación de ligaduras y el cese de higiene oral en el modelo animal favorece la formación de placa subgingival en los implantes, y origina el inicio y progresión de un proceso destructivo de los tejidos duros y blandos periimplantarios.

6. En nuestro modelo experimental, tras analizar la morfología de los 48 defectos óseos periimplantarios, la configuración más frecuente fue la correspondiente al Tipo 2+1e.

7. Los cepillos de titanio pueden ser una herramienta eficaz para la descontaminación de la superficie de los implantes afectados de periimplantitis aunque el empleo concomitante de hipoclorito de sodio no mejoró ninguno de los parámetros clínicos, radiológicos ni histológicos estudiados.



10. BIBLIOGRAFÍA





10. BIBLIOGRAFÍA

1. Abrahamsson, I., Berglundh, T. & Lindhe, J. (1998) Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 9, 73-79.
2. Albouy, J. P., Abrahamsson, I., Persson, L. G. & Berglundh, T. (2008) Spontaneous progression of peri-implantitis at different types of implants. An experimental study in dogs. I: clinical and radiographic observations. *Clin Oral Implants Res* 19, 997-1002.
3. Albouy, J. P., Abrahamsson, I., Persson, L. G. & Berglundh, T. (2009) Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface characteristics. An experimental study in dogs II: histological observations. *Clin Oral Implants Res* 20, 366-371.
4. Behneke A., Behneke N., d'Hoedt B. (2000) Treatment of peri-implantitis defects with autogenous bone grafts: six-month to 3-year results of a prospective study in 17 patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15, 125-138.
5. Berglundh, T., Lindhe, J., Marinello, C., Ericsson, I. & Liljenberg, B. (1992) Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 3, 1-8.
6. Berglundh, T., Gotfredsen, K., Zitzmann, N. U., Lang, N. P. & Lindhe, J. (2007) Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface roughness: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 18, 655-661
7. Berglundh, T., Zitzmann, N.U., Donati, M. (2011). Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? *J Clin Periodontol* 38 Suppl 11, 188-202.
8. Bragger, U. (1998) Use of radiographs in evaluating success, stability and failure in implant dentistry. *Periodontol* 2000 17, 77-88.
9. Bürgers R., Witecy C., Hahnel S., Gosau M. (2012) The effect of various topical peri-implantitis antiseptics on *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, and *Streptococcus sanguinis*. *Archives of Oral Biology* 57, 940-947.
10. Carcuac, O., Abrahamsson, I., Albouy, J. P., Linder, E.,

Larsson, L. & Berglundh, T. (2013) Experimental periodontitis and peri-implantitis in dogs. *Clin Oral Implants Res* 24, 363-371.

11. Carcuac, O. Abrahamsson, I., Charalampakis, G. Berglundh, T. (2015) The effect of the local use of chlorhexidine in surgical treatment of experimental peri-implantitis in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* 42, 196-203.

12. Carcuac, O., Derks, J., Charalampakis, G., Abrahamsson, I., Wennstrom, J. & Berglundh, T. (2016) Adjunctive Systemic and Local Antimicrobial Therapy in the Surgical Treatment of Peri-implantitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Dent Res* 95, 50-57.

13. Claffey, N., Clarke, E., Polyzois, I. & Renvert, S. (2008) Surgical treatment of peri-implantitis. *J Clin Periodontol* 35, 316-332.

14. Cortellini, P., Pini Prato, G. & Tonetti, M. S. (1993) Periodontal regeneration of human infrabony defects. I. Clinical measures. *J Periodontol* 64, 254-260.

15. Derks, J. & Tomasi, C. (2015) Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol* 42 Suppl 16, S158-171.

16. Derks, J., Schaller, D., Hakansson, J., Wennstrom, J. L., Tomasi, C. & Berglundh, T. (2016a). Effectiveness of implant therapy analyzed in a swedish population: prevalence of peri-implantitis. *J Dent Res* 95, 43-49.

17. Derks, J., Schaller, D., Hakansson, J., Wennstrom, J. L., Tomasi, C. & Berglundh, T. (2016b) Peri-implantitis - onset and pattern of progression. *J Clin Periodontol* 43, 383-388.

18. de Waal Y.C.M., Raghoobar G.M., Meijer H.J.A., Winkel E.G., van Winkelhoff A.J. (2014) Implant decontamination with 2% chlorhexidine during surgical peri-implantitis treatment: a randomized, double-blind, controlled trial. *Clin Oral Implants Res* 26, 1-9.

19. Donath K., Breuner G. (1982) A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 11, 318-326.

20. Ericsson, I., Lindhe, J., Rylander, H. & Okamoto, H. (1975) Experimental periodontal breakdown in the dog. *Scand J*

Dent Res 83, 189-192.

21. Ericsson, I., Persson, L. G., Berglundh, T., Marinello, C. P., Lindhe, J. & Klinge, B. (1995) Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. *J Clin Periodontol* 22, 255-261.

22. Ericsson, I., Berglundh, T., Marinello, C., Liljenberg, B. & Lindhe, J. (1992) Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clin Oral Implants Res* 3, 99-103.

23. Etter, T. H., Hakanson, I., Lang, N. P., Trejo, P. M. & Caffesse, R. G. (2002) Healing after standardized clinical probing of the perimplant soft tissue seal: a histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 13, 571-580.

24. Ferreira, S. D., Silva, G. L., Cortelli, J. R., Costa, J. E. & Costa, F. O. (2006) Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J Clin Periodontol* 33, 929-935.

25. Figuero, E., Graziani, F., Sanz, I., Herrera, D. & Sanz, M. (2014) Management of peri-implant mucositis and peri-implantitis. *Periodontol 2000* 66, 255-273.

26. Fransson, C., Tomasi, C., Pikner, S. S., Grondahl, K., Wennstrom, J. L., Leyland, A. H. & Berglundh, T. (2010) Severity and pattern of peri-implantitis-associated bone loss. *J Clin Periodontol* 37, 442-448.

27. Froum SJ, Froum SH, Osen PS (2012) Successful management of Peri-Implantitis with a regenerative approach. A consecutive series of 51 treated implants with 3 to 7.5 years follow-up. *Int J Periodontics Restorative Dent* 32, 11-20.

28. Froum SJ, Froum SH, Posen PS (2015) A regenerative approach to the successful treatment of periimplantitis. A consecutive series of 170 implants in 100 patients with 2 to 10 years follow-up. *Int J Periodontics Rest Dentistry* 35, 857-863.

29. Fürst, M.M., Salvi, G.E., Lang, N.P., Persson, G.R. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res* 18, 501-508.

30. Gosau M., Hahnel S., Schwarz F., Gerlach T., Reichert T.E., Bürgers R. (2010) Effect of six different peri-implantitis

disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clin Oral Implants Res* 21, 866–872.

31. Haas R., Baron M., Dörtbudak O., Watzek G. (2000) Lethal photosensitization, autogenous bone, and E-PTFE membrane for the treatment of peri-implantitis: preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15, 374–382.

32. Hallström, H., Persson, G.T., Lindgren, S., Renvert, S. (2017). Open flap debridement of peri-implantitis with or without adjunctive systemic antibiotic- a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* (in press).

33. Heitz-Mayfield, L. J. (2008) Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol* 35, 292-304.

34. Heitz-Mayfield L.J., Salvi G.E., Mombelli A., Faddy M., Lang N.P. (2012) Anti-infective surgical therapy of peri-implantitis. A 12-month prospective clinical study. *Clin Oral Implants Res* 23, 205–210.

35. Heitz- Mayfield L., Mombelli. A (2014) The therapy of peri- implantitis. Systematic review. *International J Oral Maxillofac Implants*. 29, 325-345

36. Ished, C., Holmund, A., Renvert, S., Lundberg, P. (2016). Effectiveness of enamel matrix derivate on the clinical and microbiological outcomes following surgical regenerative treatment of peri-implantitis. A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 43, 863-873.

37. Jepsen, S., Berglundh, T., Genco, R., Aass, A. M., Demirel, K., Derks, J., Figuera, E., Giovannoli, J. L., Goldstein, M., Lambert, F., Ortiz-Vigon, A., Polyzois, I., Salvi, G. E., Schwarz, F., Serino, G., Tomasi, C. & Zitzmann, N. U. (2015) Primary prevention of peri- implantitis: managing peri-implant mucositis. *J Clin Periodontol* 42 Suppl 16, S152-157.

38. Kilkenny C., Browne W.J., Cuthill I.C., Emerson M., Altman D.G. (2010) Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *Plos Biology* 8

39. Koldslund, O. C., Scheie, A. A. & Aass, A. M. (2010) Prevalence of peri-implantitis related to severity of the disease

with different degrees of bone loss. *J Periodontol* 81, 231-238.

40. Kolonidis, S. G., Renvert, S., Hammerle, C. H., Lang, N. P., Harris, D. & Claffey, N. (2003) Osseointegration on implant surfaces previously contaminated with plaque. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 14, 373-380.

41. Khoury R, Buchmann F (2001) Surgical therapy of peri-implant disease: a 3 year follow-up study of cases treated with 3 different techniques of bone regeneration. *J Periodontol* 72, 1498-1508.

42. Lang, N. P., Bragger, U., Walther, D., Beamer, B. & Kornman, K. S. (1993) Ligature-induced peri-implant infection in cynomolgus monkeys. I. Clinical and radiographic findings. *Clin Oral Implants Res* 4, 2-11.

43. Lang N.P., Wetzel, A.C., Stich, H, Caffesse, R. (1994) Histological probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. *Clin Oral Implants Res.*, 5, 191-201.

44. Lang, N. P., Berglundh, T. & Working Group 4 of Seventh European Workshop on, P. (2011) Periimplant diseases: where are we now? Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 38 Suppl 11, 178-181

45. Lang, N.P., Bosshardt, D.P., Lulic, M. Do mucositis lesions around implants differ from gingivitis lesions around teeth? *J Clin Periodontol* 2011; 38 (Suppl. 11) 182-187.

46. Laczkó J., Levai G. (1975) A simple differential staining method for semi-thin sections of ossifying cartilage and bone tissues embedded in epoxy resin. *Mikroskopia* 31S, 1-4.

47. Loe, H., Theilade, E. & Jensen, S. B. (1965) Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol* 36, 177-187.

48. Lindhe, J. & Ericsson, I. (1978) Effect of ligature placement and dental plaque on periodontal tissue breakdown in the dog. *J Periodontol* 49, 343-350.

49. Lindhe, J., Berglundh, T., Ericsson, I., Liljenberg, B. & Marinello, C. (1992) Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res* 3, 9-16.

50. Marinello, C. P., Berglundh, T., Ericsson, I., Klinge, B., Glantz, P. O. & Lindhe, J. (1995) Resolution of ligature-induced peri-implantitis lesions in the dog. *J Clin Periodontol* 22, 475-479.

51. Matarasso S, Iorio Siciliano V, Aglietta M, Andreuccetti G, Salvi GE (2014) Clinical and radiographic outcomes of a combined resective and regenerative approach in the treatment of periimplantitis: a prospective case series. *Clin Oral Implants Res* 25, 761–767

52. Maximo, M. B., de Mendonca, A. C., Renata Santos, V., Figueiredo, L. C., Feres, M. & Duarte, P. M. (2009) Short-term clinical and microbiological evaluations of peri-implant diseases before and after mechanical anti-infective therapies. *Clin Oral Implants Res* 20, 99-108.

53. Mengel, R., Kruse, B. & Flores-de-Jacoby, L. (2006) Digital volume tomography in the diagnosis of peri-implant defects: an in vitro study on native pig mandibles. *J Periodontol* 77, 1234-1241.

54. Mohamed, S., Polyzois, I., Renvert, S. & Claffey, (2010) Effect of surface contamination on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects. *Clin Oral Implants Res* 21, 513-519.

55. Mombelli, A., Decaillet, F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol* 2011; 38 (Suppl. 11): 203-213.

56. Moon, I. S., Berglundh, T., Abrahamsson, I., Linder, E. & Lindhe, J. (1999) The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 26, 658-663.

57. Persson, L. G., Araujo, M. G., Berglundh, T., Grondahl, K. & Lindhe, J. (1999) Resolution of peri-implantitis following treatment. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 10, 195–203.

58. Persson, L. G., Berglundh, T., Lindhe, J. & Sennerby, L. (2001a) Re-osseointegration after treatment of peri-implantitis at different implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 12, 595-603.

59. Persson, L. G., Ericsson, I., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2001b) Osseointegration following treatment of peri-implantitis and replacement of implant components. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 28, 258-263.
60. Pontoriero, R., Tonelli, M. P., Carnevale, G., Mombelli, A., Nyman, S. R. & Lang, N. P. (1994) Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res* 5, 254-259.
61. Polyzois, I., Renvert, S., Bosshardt, D. D., Lang, N. P. & Claffey, N. (2007) Effect of Bio-Oss on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects of different dimensions: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 18, 304-310.
62. Renvert, S., Roos-Jansaker, A. M. & Claffey, N. (2008) Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. *J Clin Periodontol* 35, 305-315.
63. Renvert S, Polyzois I, Maguire R. Re-osseointegration on previously contaminated surfaces: a systematic review. *Clin Oral Impl Res*. 20 (Suppl. 4), 2009; 216–227
64. Roccuzzo M, Bonino F, Bonino L, Dalmaso P. (2011) Surgical therapy of peri-implantitis lesions by means of bovine-derived xenograft: comparative results of a prospective study on two different implant surfaces *J Clin Periodontol* 38, 738– 745.
65. Roccuzzo M., Pittoni D., Roccuzzo A., Charrier L., Dalmaso L. (2017). Surgical treatment of peri-implantitis intrabony lesions by means of deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen: 7-years-results. *Clin Oral Implants Res* 00, 1-8.
66. Roos-Jansaker, A. M., Lindahl, C., Renvert, H. & Renvert, S. (2006) Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part I: implant loss and associations to various factors. *J Clin Periodontol* 33, 283-289.
67. Roos-Jansaker A-M, Renvert H, Lindahl C, Renvert S (2007b) Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a prospective cohort study. *J Clin Periodontol* 34 625–632.
68. Roos-Jansaker A-M, Lindahl C, Persson GR, Renvert S.

(2011) Long-term stability of surgical bone regenerative procedures of peri-implantitis lesions in a prospective case-control study over 3 years. *J Clin Periodontol* 38, 590–597.

69. Roos-Jansaker A-M, Persson GR, Lindahl C, Renvert S. (2014). Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a five year follow up. *J Clin Periodontol.* 41, 1108-1114.

70. Romanos G.E., Netwing G.H. (2008) Regenerative therapy of deep periimplant bone defects after CO2 laser implant surface decontamination. *Int J Periodontics Restorative Dent* 28, 245-255.

71. Romeo E., Ghisolfi M., Murgolo N., Chiapasco M., Lops D., Giorgio V. (2005) Therapy of peri-implantitis with respective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part I: clinical outcome. *Clin Oral Implants Res* 16, 9–18.

72. Romeo E., Lops D., Chiapasco M., Ghisolfi M., Vogel G. (2007) Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part II: radiographic outcome. *Clin Oral Implants Res* 18, 179–187.

73. Salvi, G. E., Furst, M. M., Lang, N. P. & Persson, G. R. (2008) One-year bacterial colonization patterns of *Staphylococcus aureus* and other bacteria at implants and adjacent teeth. *Clin Oral Implants Res* 19, 242-248.

74. Salvi, G. E., Aglietta, M., Eick, S., Sculean, A., Lang, N. P. & Ramseier, C. A. (2012) Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clin Oral Implants Res* 23, 182-190.

75. Schroeder, H. E. & Lindhe, J. (1975) Conversion of stable established gingivitis in the dog into destructive periodontitis. *Arch Oral Biol* 20, 775-782.

76. Schroeder, H. E. & Lindhe, J. (1980) Conditions and pathological features of rapidly destructive, experimental periodontitis in dogs. *J Periodontol* 51, 6-19.

77. Schwarz F, Jepsen S, Herten M, Sager M, Rothamel D, Becker J. (2006) Influence of different treatment approaches on non- submerged and submerged healing of ligature

induced peri-implantitis: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol* 33, 584-595.

78. Schwarz F, Hertel M, Sager M, Bieling K, Sculean A, Becker J. (2007). Comparison of naturally occurring and ligature induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs. *Clin Oral Implant Res.* 18, 161–170

79. Schwarz F, Sculean A, Bieling K, Ferrari D, Rothamel D, Becker J. (2008) Two-year clinical results following treatment of peri-implantitis lesions using a nanocrystalline hydroxyapatite or a natural bone mineral in combination with a collagen membrane. *J Clin Periodontol* 35, 80–87.

80. Schwarz F, Sahm N, Bieling K, Becker J. (2009) Surgical regenerative treatment of periimplantitis lesions using a nanocrystalline hydroxyapatite or a natural bone mineral in combination with a collagen membrane: a four-year clinical follow-up report. *J Clin Periodontol* 36, 807–814.

81. Schwarz F., Sahm N., Schwarz K., Becker J. (2010) Impact of defect configuration on the clinical outcome following surgical regenerative therapy of peri-implantitis. *J Clin Periodontol* 37, 449–455.

82. Schwarz F., Sahm N., Iglhaut G., Becker J. (2011) Impact of the method of surface debridement and decontamination on the clinical outcome following combined surgical therapy of peri-implantitis: a randomized controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 38, 276–284.

83. Schwarz F., John G., Mainusch S., Sahm N., Becker J. (2012) Combined surgical therapy of peri-implantitis evaluating two methods of surface debridement and decontamination. A two-year clinical follow up report. *J Clin Periodontol* 39, 789–797.

84. Schwarz F., Hegewald A., John G., Sahm N., Becker J. (2013) Four-year follow-up of combined surgical therapy of advanced peri-implantitis evaluating two methods of surface decontamination. *J Clin Periodontol* 40, 962–967.

85. Schwarz, F., John, G., Sahm, N., Bercker, J. (2017). Combined surgical therapy of advanced peri-implantitis evaluating two methods of surface decontamination: a 7 year follow-up

observation. *J Clin Periodontol* 44, 337-342.

86. Serino, G. & Strom, C. (2009) Peri-implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control. *Clin Oral Impl Res* 20, 169-174.

87. Serino G, Turri A. (2011) Outcome of surgical treatment of periimplantitis: results from a 2-year prospective clinical study in humans. *Clin Oral Implant Res* 22, 1214–1220.

88. Serino G, Turri A, Lang NP. (2014) Maintenance therapy in patients following the surgical treatment of peri-implantitis: a 5-year follow-up study. *Clin Oral Implant Res* 26, 1–7.

89. Tonetti, M. S., Pini-Prato, G. & Cortellini, P. (1993) Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response. *J Periodontol* 64, 934-940.

90. Wilson, T. G., Jr. (2009) The positive relationship between excess cement and peri-implant disease: a prospective clinical endoscopic study. *J Periodontol* 80, 1388-1392.

91. Wiltfang J., Zernial O., Behrens E., Schlegel A., Warnke P.H., Becker S.T. (2012) Regenerative treatment of peri-implantitis bone defects with a combination of autologous bone and a demineralized xenogenic bone graft: a series of 36 defects. *Clin Implant Dent Relat Res* 14, 421-427.

92. Zitzmann, N. U., Berglundh, T., Marinello, C. P. & Lindhe, J. (2001). Experimental peri-implant mucositis in man. *J Clin Periodontol* 28, 517-523.

93. Zitzmann, N. U., Berglundh, T., Ericsson, I. & Lindhe, J. (2004) Spontaneous progression of experimentally induced periimplantitis. *J Clin Periodontol* 31, 845-849.

94. Zitzmann, N. U. & Berglundh, T. (2008) Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol* 35, 286-291.





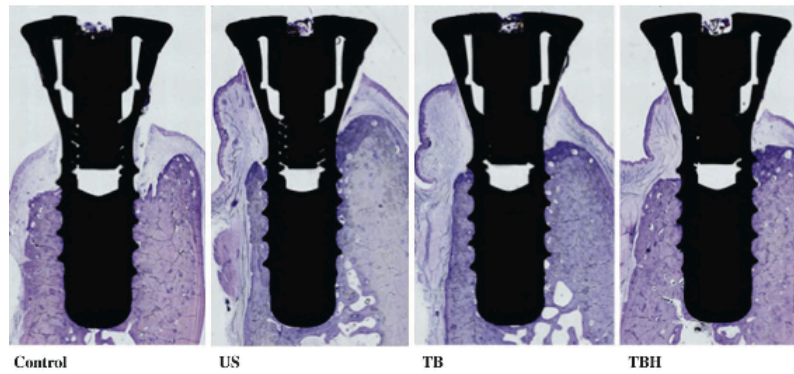
ANEXO 1





ANEXO 1

Una de las imágenes histológicas del estudio fue elegida como portada del volumen 43, número 8 de la revista científica *Journal of Clinical Periodontology*



Official Journal of The European Federation of Periodontology 
Founded by the British, Dutch, French, German, Scandinavian, and Swiss Societies of Periodontology
Available online at: wileyonlinelibrary.com/journal/jcpe

Editor: Maurizio Tonetti

WILEY Blackwell



ANEXO 2





ANEXO 2

Los resultados clínicos e histológicos de este estudio fueron publicados en la revista científica *Journal of Clinical Periodontology*.

Carral C, Muñoz F, Permuy M, Liñares A, Dard M, Blanco J. Mechanical and chemical implant decontamination in surgical peri-implantitis treatment: preclinical “in vivo” study. *J Clin Periodontol* 2016, 43: 694-701.



Mechanical and chemical implant decontamination in surgical peri-implantitis treatment: preclinical “in vivo” study

Cristina Carral¹, Fernando Muñoz²,
María Permuy², Antonio Linares¹,
Michel Dard³ and Juan Blanco¹

¹Periodontology Unit, School of Medicine and Dentistry, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain; ²Department of Veterinary Clinical Sciences, University of Santiago de Compostela, Lugo, Spain; ³Department of Periodontology and Implant Dentistry, College of Dentistry, New York University, New York City, NY, USA

Carral C, Muñoz F, Permuy M, Linares A, Dard M, Blanco J. Mechanical and chemical implant decontamination in surgical peri-implantitis treatment: preclinical “in vivo” study. *J Clin Periodontol* 2016; 43: 694–701. doi: 10.1111/jcpe.12566.

Abstract

Objective: The aim of the present study was to evaluate the effect of a titanium brush and chemical agents following surgical treatment of experimental peri-implantitis.

Material and Methods: Six implants were installed in the mandible of eight beagle dogs (unit of analysis) 3 months after tooth extraction. Experimental peri-implantitis was induced 3 months later. The defects were randomly allocated in three treatment groups: (a) TiBrush™ + sodium hypochlorite + chlorhexidine (TBH), (b) TiBrush™ + chlorhexidine (TB), (c) an ultrasonic device + chlorhexidine (US). The distal implant in each hemimandible was used as control, and no treatment was done. Clinical and histological measurements were performed after 3 months of healing.

Results: All treatment procedures resulted in statistically significant improvements of all clinical parameters. Histomorphometrical analysis revealed no statistically significant differences between treatment groups in terms of woven bone height (primary outcome). However, there were differences between test and control groups in terms of inflammation, bone defect depth and bone refill without differences between TBH and TB groups.

Conclusions: Resolution of peri-implantitis after access surgery and decontamination of peri-implant surfaces with TiBrush™ with or without sodium hypochlorite is possible. However, the concomitant use of sodium hypochlorite has minor effect on treatment outcomes.

Key words: decontamination; experimental peri-implantitis; preclinical “in vivo” study; therapy

Accepted for publication 11 April 2016

Conflict of interest and source of funding statement

The authors declare that they have no conflict of interests.

This animal study was sponsored by Institut Straumann AG, Basel, Switzerland.

Peri-implantitis is an inflammatory disease with an infectious aetiology that affects osseointegrated implants, and is characterized by the presence of clinical signs of inflammation and progressive loss of supporting bone (Lang & Berglundh 2011).

Pathogenesis and treatment of peri-implant diseases were originally investigated in preclinical animal studies by means of an experimental breakdown of the soft and hard implant supporting tissues (Lindhe et al. 1992, Lang et al. 1993, Schou



et al. 1993, Marinello et al. 1995). In this model, peri-implantitis lesions were induced by submarginal placement of cotton ligatures around implants and cessation of plaque control regimen.

Claffey et al. (2008) in a review on surgical treatment of peri-implantitis concluded that open debridement including implant surface decontamination resolved peri-implantitis lesions and promoted bone fill. However, no single decontamination method was found to be superior.

In recent years, new debridement instruments for dental implants subjected to peri-implantitis were developed. A brush made of titanium bristles with a stainless steel shaft was recently commercialized for the open debridement of titanium surfaces in bone defects caused by peri-implantitis (Straumann® TiBrush™). Effects of titanium brushes on mechanical and sand-blasted/acid-etched titanium discs were proven in an in vitro study using confocal microscope and contact profilometry (Park et al. 2015). Treatment with titanium brushes did not significantly change the roughness parameters in machined or SLA implants.

In a human in vivo pilot study, sodium hypochlorite was found to show a significant bacterial effect against adhering bacteria (Gosau et al. 2010). Furthermore, sodium hypochlorite demonstrated a significant in vitro effect on *Candida albicans*, *Streptococcus sanguinis* or *Staphylococcus epidermidis* (Bürgers et al. 2012), species linked to peri-implant infections.

Implant surface decontamination procedures in previous experiments never included the use of titanium brushes or sodium hypochlorite. So far no data are available about its ability in the resolution of the disease and bone fill. Thus, the aim of the current study was to evaluate the effect of Straumann® TiBrush™ with the concomitant use of chlorhexidine and sodium hypochlorite in the treatment of experimental peri-implantitis in dogs.

Material and Methods

Animals

Eight healthy adult female Beagle dogs of 3 years of age (mean weight

13.9 kg) (Isoquimen, Barcelona, Spain) were used in the study. The Ethical Committee of the Rof Codina Foundation (Lugo, Spain) approved the study protocol (AE-LU-001/12/INV MED(02)/Others (04)/5-12). The animals were subjected to surgeries and housed in the Animal Experimentation Service Facility of the Rof Codina Foundation (Lugo, Spain). The experiment was carried out from April 2012 to May 2013.

All the experiments were performed according to Spanish and European regulations about care and use of research animals. In addition, this manuscript has been written in line with the ARRIVE statement (Kilkenny et al. 2010).

The dogs were monitored daily during the entire study procedure by a veterinarian accredited in laboratory animal science. During the experiment, the animals were maintained in a group kennel with indoor and outdoor areas. The indoor area presented a controlled temperature of $18 \pm 2^\circ\text{C}$ with natural light and air renewing. The animals were fed using a granulated dog food previously wetted in water, with individual bowls and free supply of water.

Study design and randomization

This study was designed as a randomized controlled trial with intra-subject control for the comparison of four treatment procedures. The study was performed in four surgical phases including (i) tooth extraction, (ii) implant placement, (iii) ligature-induced peri-implantitis and (iv) surgical treatment of peri-implantitis.

The experimental sites were randomly allocated to one of the three test treatment options according to a computer-generated randomization list on both sides of the mandible in all eight dogs. Distal implant in each hemimandible was used as negative control without treatment. Allocation to the treatment was concealed by means of sealed envelopes until the time of the surgical procedure.

Surgical procedures

The study was performed in three surgical phases (Fig. 1). All surgical procedures were done under sterile

conditions, in an animal operating theatre and under general anaesthesia induced by propofol (3–5 mg/kg/i.v., Propofol®; Abbott Laboratories, Kent, UK), and maintained on a concentration of 2.5–4% of isoflurane (Isoba-ve®; Schering-Plough, Madrid, Spain). The animals were first premedicated with medetomidine (20 mg/kg/i.m., Domtor; Esteve, Barcelona, Spain) and the pain controlled with the administration of morphine (0.4 mg/kg/i.m., Morfina Braun 2%; B. Braun Medical, Barcelona, Spain). During anaesthesia the animals were continuously monitored by a veterinarian category B or C, controlling electrocardiography, capnography, pulse oximetry and non-invasive blood pressure.

At the end of the procedures, atipamezole (50 mg/kg/i.m.; Esteve) was administered to revert the effects of the medetomidine.

Post-operative pain was controlled by the administration of morphine (0.2 mg/kg/i.m./6 h, Morfina Braun 2%; B. Braun Medical, Barcelona, Spain) and meloxicam as anti-inflammatory and analgesic treatment (0.2 mg/kg/l.m./SID, Metacam; Boehringer Ingelheim, Barcelona, Spain) during 5 days.

In the first surgery, the extraction of the mandibular 2nd, 3rd and 4th premolar (PM2-PM4) were performed. The teeth were hemisected and carefully removed with elevators and forceps in a flapless approach. Prophylactic administration of cefazolin (20 mg/kg/i.v., Kurgan; Normon, Madrid, Spain) and cefovecin (8 mg/kg/s.i.d./s.c., Convenia; Zoetis, Madrid, Spain) was performed intra-operatively. The animals were enrolled in a plaque control programme consisting in cleaning the teeth three times a week with gauzes embedded in chlorhexidine oral rinse 0.12% during the first 2 weeks and then three times a week with toothbrush and chlorhexidine gel.

In the second surgery, 3 months after tooth extraction, a full-thickness mucoperiosteal flap was elevated bilaterally in the mandible premolar region and a total of 48 implants were installed. Three Standard Roxolid® implants were placed in each side of the mandible (3.3 × 8 mm; Straumann® AG, Basel, Switzerland) and were covered with healing abutments (height: 1.5 mm). Mucoperiosteal



696 Carral et al.

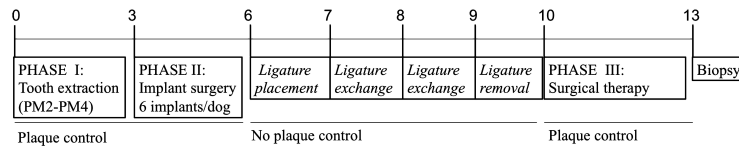


Fig. 1. Outline of the study (time intervals in months).

flaps were repositioned and primary wound closure was achieved with resorbable suture (Coated VICRYL™ Rapide; Ethicon US, LLC 2014).

After 3 months of non-submerged healing, 4-0 silk ligatures were placed in a submarginal position around the neck of each implant according to the method described by Lindhe et al. (1992), and the plaque control regime was interrupted. The ligatures were replaced once every month during 3 months, and finally removed when approximately 30% of the initial bone support was lost based on clinical and radiological examinations. The plaque accumulation period continued for an additional month (progression phase).

Four weeks after ligature removal, bilateral bucco-lingual incisions were made and full-thickness mucoperiosteal flaps were elevated to expose the respective implant defects. The granulation tissue in the bone defect was removed with titanium curettes. At this moment, the two mesial implants in each hemimandible were randomly allocated in three treatment groups: open treatment + non-submerged healing using (a) TiBrush™ + two cleaning agents (NaClO 0.1% and chlorhexidine 0.2%) TiBrush™ + one cleaning agent (chlorhexidine 0.2%) TB, (c) a plastic tip of an ultrasonic device (Piezon® Master 700 EMS, Switzerland) + one cleaning agent (chlorhexidine 0.2%) US (Fig. 2).

The mucoperiosteal flaps were repositioned. Primary wound closure was achieved with interrupted sutures and plaque control was again initiated consisting of cleaning the teeth three times a week with gauzes embedded in chlorhexidine oral rinse 0.12% during the first 2 weeks and then three times a week for 3 months until the end of the study.

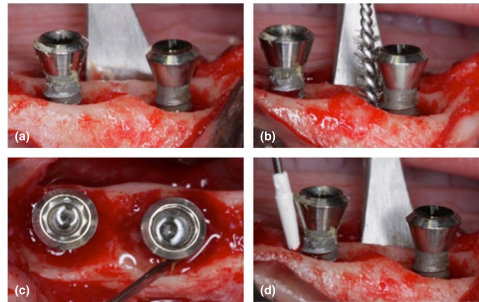


Fig. 2. Intra-operative views. Peri-implant lesions were randomly allocated in three treatment groups: open treatment + non-submerged healing using (1) Ti-Brush™ + two cleaning agents (NaClO 0.1% and Chlorhexidine 0.2%), (2) Ti-Brush™ + one cleaning agent (Chlorhexidine 0.2%) and (3) a plastic tip of an ultrasonic device + one cleaning agent (Chlorhexidine 0.2%).

Clinical measurements

Clinical measurements were assessed in four aspects per implant (mesial, distal, buccal and lingual) using a PCPUN15 periodontal probe (Hu-Friedy Co., Chicago, IL, USA). Measurements were performed before ligature placement, once every month during the experimental peri-implantitis, at the time of treatment and 3 months after therapy.

All clinical measurements were obtained by one previously calibrated investigator (CC) blinded to the experimental conditions.

- Modified plaque index (Mombelli et al. 1987) (PI)
- Modified gingival index (Mombelli et al. 1987) (GI)
- Probing depth (PD) measured from the mucosal margin (M) to the bottom of the pocket (BP).
- Recession (Rec) measured from the implant shoulder (S) to the mucosal margin (M)

- Clinical attachment level (CAL) measured from the implant shoulder (S) to the bottom of the pocket (BP).

The configuration of peri-implant bone defects was also assessed during the open flap surgery and the type of intra-osseous defect was identified.

Retrieval of specimens and histological preparation

After 3 months of healing, the dogs were first sedated with medetomidine (30 µg/kg/i.m.; Esteve) and then euthanized with an overdose of intravenous injection of sodium pentobarbital (40–60 mg/kg/i.v.; Doletal, Vetoquinol, France). Subsequently, the lower jaws were dissected and fixed in buffered 10% formaldehyde solution. Previous to fixation, the 48 implants were

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

retrieved with intact soft tissues and individually separated using a band saw.

The blocks containing the implant and the hard and soft tissues around the implant were dissected and processed for ground sectioning following the method described by Donath and Breuner (1982). The samples were dehydrated in a graded series of ethanol solutions and embedded in a light-curing resin (Technovit 7200 VLC; Heraeus-Kulzer GmbH, Werheim, Germany). From each specimen, one central bucco-lingual section through the implant was prepared using a band saw and mechanically micro-polished (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Germany) using 1200 and 4000 grit silicon carbide papers (Struers, Copenhagen, Denmark) obtaining samples with a thickness of approximately 50 μm . The slides were stained with Levai-Laczko (Laczko & Levai 1975).

Histomorphometrical analysis

For image acquisition a motorized light microscopy and a digital camera connected to a PC-based image capture system (BX51, DP71, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) were used. The points and

areas of interest were identified from the digital histological images in order to subsequently measure using a digital pen, coloured (Photoshop, Adobe, San José, CA, USA) and digitally measured using an automated image analysis system (CellSens, Olympus Corporation). Landmarks used were selected following guidelines previously published (Schwarz et al. 2011). All reference points in the histologic sections were marked by two examiners independently and thereafter compared and discussed to aim for congruence. Linear measurements were then obtained by one experienced investigator masked to the specific experimental conditions (MP) and expressed in millimetres and areas in mm^2 .

The following landmarks were identified on both the buccal and lingual sides in each implant using a digital pen (Fig. 3):

- Implant shoulder (IS),
- Margin of the peri-implant mucosa (PM),
- Apical border of the barrier epithelium (aBE),
- Apical extension of the inflammatory cell infiltrate (aICT),
- The most coronal level of bone in contact with the implant (fBIC),

- Bottom of the bone defect of the old non-remodelled bone (BD),
- Bone crest, defined as the most coronal point of the non-remodelled bone (BC).

Linear measurements were made between implant perpendicular lines from BD to BC [bone defect depth (BDD)] and from BD to fBIC [woven bone height (WBH)].

A region of interest (ROI) was defined as the sum of the intra-bony residual defect area (IRDA) plus the remodelled area (RmA). Remodelled area was defined as the area occupied by the new and remodelled bone. Relation between ROI and RmA was calculated and expressed as bone refill. In addition, the percentage of bone-to-implant contact and the proportions occupied by lamellar bone, bone marrow and woven bone in ROI were also determined following the same method.

Statistical analysis

The animal was chosen as the unit for the statistical analysis. The primary outcome parameter was WBH. Mean values and standard deviation of all parameters were calculated for each implant in each dog using a commercially available software program (SPSS[®] 20.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Analysis of variance (ANOVA) and post hoc testing Bonferroni for multiple comparisons was used for comparison between groups for histomorphometric analysis. For clinical measurements, change variable was calculated and analysis of variance (ANOVA) and post hoc testing Bonferroni correction was also calculated for intergroup analysis. The chi-squared test was used to compare the proportion of bone defects in each group based on Schwarz's classification (Schwarz et al. 2007). The null hypothesis was rejected at $p < 0.05$.

Results

Clinical measurements

No adverse events occurred related to the surgical protocol and during the animal recovery of the anaesthesia. However, one dog died 1 month before the end of the study for a hypovolemic shock induced by a

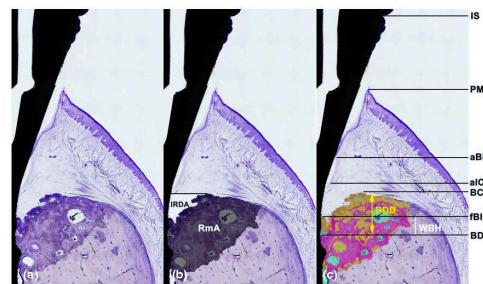


Fig. 3. Diagram of the histomorphometric measurements. IS: implant shoulder, PM: margin of the peri-implant mucosa, aBE: apical border of the barrier epithelium, aICT: apical extension of the inflammatory cell infiltrate, fBIC: the most coronal level of bone in contact with the implant, BD: bottom of the bone defect, BC: bone crest, BDD: bone defect depth, defined as the distance BD-BC, WBH: woven bone height, defined as the distance BD-fBIC, IRDA: intra-bony residual defect area, RmA: remodelled area, defined as the area occupied by the new and remodelled bone. Woven bone is represented by yellow, lamellar bone is represented by pink and bone marrow is represented by green.

mandible fracture by bite. Although samples of the mandible and the implants were fixed and processed for histological analysis, clinical measurements at the end of the study in one dog were lost.

Mean values of plaque index (PI), gingival index (GI), probing depth (PD), recession (R) and clinical attachment level (CAL) were calculated for the next time points: at baseline, once a month during the experimental peri-implantitis phase and 3 months after therapy.

At baseline, no statistically significant differences were observed in any of these parameters between test and control groups (ANOVA, $p < 0.05$). At the time of treatment, all implants exhibited large amounts of plaque and all clinical parameters were increased without statistically significant differences between groups. Three months after treatment all clinical parameters were improved, even in the control group. Mean PD reductions were statistically significant at all test groups compared with control, and although all implants in the test groups showed CAL gain, statistically significant differences were observed between TBH and TB with control group. No statistically significant differences were observed between US and control (Table 1).

Peri-implant bone defects

Open flap surgery revealed two different classes of peri-implant bone defects: Class I defects, characterized by intra-bony components and/or Class II defects characterized by horizontal bone loss (Schwarz et al. 2007).

Twenty-eight out of 48 implants presented intra-bony circumferential defects (Class Ie) associated with Class II defects. These were the most frequent defects found in the current study.

Four out of the 48 implants presented Class II defects without intra-bony components, three in the TBH group and one in the TB group.

In all, 18.8% of the implants presented Class II defect associated with Type Ic, 6.3% were Class Id defects, 4.2% were Class Ib defects and one implant in the control group and one implant in the TBH group presented a combined Class II + Class Ib defect and Class II + Class Id defect respectively. No statistically significant differences were observed between groups (Table 2).

Histomorphometric analysis

Histomorphometric analysis of the soft tissue interface revealed no statistically significant differences between groups in terms of length of

the barrier epithelium (PM-aJE), connective tissue (aJE-fBIC) and biological width (PM-fBIC) (ANOVA, $p > 0.05$).

The distance between the apical extension of the connective cell infiltrate (aICT) and the most coronal level of bone implant contact (fBIC) was shorter at control implants compared with implants in test groups. However, statistically significant differences were just observed between control, 0.20 (0.43) mm, and Ti-Brush groups: TB 1.10 (0.53) and TBH 0.67 (0.38) mm (Table 3).

Bone defect depth (BD-BC) was shorter at implants in all test groups compared with control, and this difference was statistically significant (ANOVA, $p > 0.05$). However, there were no statistically significant differences in the woven bone height (BD-fBIC) between control, 0.08 (0.1) mm, and test groups: US 0.17 (0.17), TB 0.21 (0.18) and TBH 0.21 (0.24) mm (ANOVA, $p > 0.05$) (Fig. 4).

In the ROI, bone refill was statistically significant shorter at implants in control group, 0.24 (0.28), compared with implants in test groups: US 0.63 (0.29), TB 0.84 (0.08) and TBH 0.65 (0.34) (ANOVA, $p > 0.05$). Moreover, the percentage of woven bone, lamellar bone and bone marrow in ROI was statistically

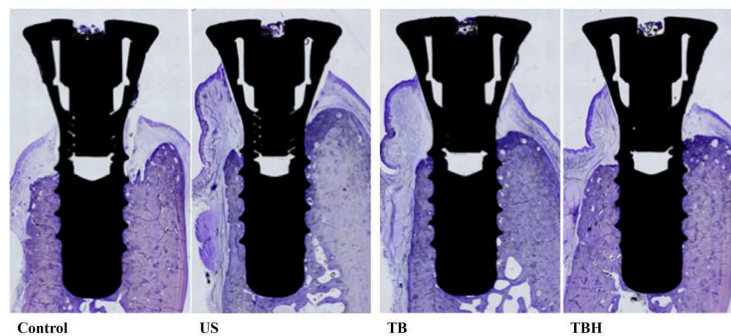


Fig. 4. Representative histological views of peri-implant wound healing in control, US, TB and TBH groups. A direct contact between the newly formed bone and the implant surface was limited to test groups (bucco/lingual aspect, original magnification $\times 40$).

Table 1. Clinical parameters

	TBH		TB		US		Control	
	Mean (SD)		Mean (SD)		Mean (SD)		Mean (SD)	
	(0)	(3)	(0)	(3)	(0)	(3)	(0)	(3)
PI	2.28 (0.57)	1.14 (0.73)	2.03 (0.89)	1.57 (0.81)	2.09 (0.88)	1.53 (0.81)	2.53 (0.49)	1.55 (0.72)
GI	1.91 (0.89)	0.93 (0.84)	2.37 (0.93)	0.68 (0.28)*	2.44 (0.84)	0.89 (0.45)	2.48 (0.59)	1.61 (0.65)
PD	4.91 (0.89)	2.87 (0.94)*	5.12 (1.22)	2.57 (0.31)*	5.31 (1.15)	2.86 (0.76)*	5.02 (0.63)	4.36 (0.74)
Rec	1.69 (1.14)	1.28 (0.92)	1.48 (0.79)	1.30 (0.8)	1.52 (1.19)	1.33 (0.76)	1.67 (0.95)	1.46 (0.89)
CAL	6.59 (1.59)	4.16 (1.5)*	6.59 (1.69)	3.73 (0.83)*	6.97 (2.12)	4.19 (0.98)	6.62 (1.19)	5.83 (1.3)

Mean scores and standard deviation (SD). (0) before therapy (n = 8). (3) 3 months after therapy (n = 7). PI, modified plaque index; GI, modified gingival index; PD, probing depth; Rec, recession; CAL, clinical attachment level. *p value < 0.05 (ANOVA). Test groups (TBH, TB and US) versus Control.

Table 2. Cross Tab; bone defect configuration distribution

Bone defect	TBH		TB		US		Control		Total	
	Recount	%	Recount	%	Recount	%	Recount	%	Recount	%
2	3	18.8	1	12.5	0	0	0	0	4	8.3
1b	0	0	0	0	1	12.5	1	6.3	2	4.2
1d	2	12.5	0	0	0	0	1	6.3	3	6.3
2 + 1b	0	0	0	0	0	0	1	6.3	1	2.1
2 + 1c	2	12.5	3	37.5	2	25	2	12.5	9	18.8
2 + 1d	1	6.3	0	0	0	0	0	0	1	2.1
2 + 1e	8	50	4	50	5	62.5	11	68.8	28	58.3
Total	16	100	8	100	8	100	16	100	48	100

Table 3. Histomorphometrical parameters

	TBH	TB	US	Control
	Mean (DS)	Mean (DS)	Mean (DS)	Mean (DS)
aICT-fBIC	0.67* (0.38)	1.10* (0.53)	0.58 (0.54)	0.20 (0.43)
BDD (BD-BC)	0.31* (0.44)	0.27* (0.20)	0.40* (0.44)	0.98 (0.42)
WBH (BD-fBIC)	0.21 (0.24)	0.21 (0.18)	0.17 (0.17)	0.08 (0.1)
Woven bone, %	28.61* (15.78)	33.03* (10.26)	24.84 (10.61)	10.75 (12.16)
Lamellar bone, %	30.18* (16.68)	39.77* (9.31)	28.99 (19.71)	11.47 (15.45)
Bone marrow, %	11.24* (7.15)	11.57* (6.87)	10.38 (8.0)	3.0 (4.46)
IRDA, %	39.97* (32.1)	15.63* (8.79)	35.8* (30.8)	74.78 (29.79)

*p Value < 0.05 (ANOVA). Test groups (TBH, TB and US) versus control. Ti-Brush significantly improve. Mean scores and standard deviation (SD) 3 months after therapy (n = 8).

aICT, apical extension of the inflammatory cell infiltrate; fBIC, the most coronal bone in contact with the implant; BD, bottom of the bone defect; BC, bone crest; BDD, bone defect depth (BD-BC); WBH, woven bone height (BD-fBIC); % of woven bone, lamellar bone and bone marrow in ROI (region of interest); IRDA, intrabony residual defect area.

significant higher in TiBrush™ groups compared with control. (Table 3).

Discussion

The results from the various examinations performed in this preclinical study in the dog model demonstrated that silk ligatures placed around osseointegrated implants and adjusted in a submarginal position will develop inflammatory lesions and bone loss, as was previously reported (Lindh et al. 1992,

Marinello et al. 1995, Zitzmann et al. 2004). Furthermore, circumferential bone loss was the most frequently observed type of defect configuration in the present investigation, as was also observed by (Schwarz et al. 2007).

The aim of the current study was to evaluate clinically and histologically a titanium brush with the concomitant use of chlorhexidine and sodium hypochlorite in the treatment of experimental peri-implantitis in dogs.

Different implant surface decontamination procedures have been

applied in preclinical in vivo experiments. A variety of tools are available for supra- and subgingival biofilm removal, such as curettes, ultrasonic devices, air abrasive devices or lasers used alone or combined with some chemical agents. However, these conventional treatment approaches have proven to be insufficient for obtaining a complete removal and elimination of both plaque biofilms and bacteria on roughened implant surfaces, and additional surgical interventions may be required in the order to completely eliminate the peri-implant infections and minimize the risk for a reinfection of the peri-implant pocket (Claffey et al. 2008, Renvert et al. 2008).

Some experimental studies suggested that it is possible to obtain re-osseointegration on a previously contaminated surface, although failed to identify a predictable method of achieving a complete resolution of the peri-implant defect (Persson et al. 1999, 2001a,b, 2004, Schwarz et al. 2006). However, although re-osseointegration may occur in experimentally induced peri-implantitis defects following therapy, results varied considerably within



and between studies and are unpredictable (Renvert et al. 2009).

Persson et al. (1999) in an experimental study in dogs found no differences between cleaning with saline and the use of abrasive pumice and a rotating brush in terms of re-osseointegration. Schou et al. (2003) in a study in monkeys failed to find differences between air-powder abrasive procedures, gauzed soaked in saline and citric acid or gauze soaked in alternately chlorhexidine and saline before bone regeneration with autogenous bone graft and ePTFE membrane.

Access surgery with closed healing has been observed to positively influence the rate of bone fill and re-osseointegration when compared with non-surgical decontamination of the implant surface with open healing (Schwarz et al. 2006). Grunder et al. (1993) investigated the effect of submerged and non-submerged healing and demonstrated no differences between them with and without the use of a non-reabsorbable membrane. In a human case series, Roos-Jansaker et al. (2007) indicated that advantages may exist to accomplished undisturbed healing whenever possible.

Recently, Carcuac et al. (2015) in a study in dogs reported that the local use of chlorhexidine has minor influence on resolution of peri-implantitis following surgical treatment and suggested that implant surfaces characteristics influence disease resolution in terms of inflammation.

Implant surface decontamination procedures in previous experiments never included the use of titanium brushes or sodium hypochlorite. So far no data are available about its ability in the resolution of the disease. Histomorphometrical results in this preclinical study with Roxolid[®] SLA implants and non-submerged healing demonstrated statistically significantly higher values in the distance between the apical extension of the connective cell infiltrate and the first bone-to-implant contact (aICT-CBI) at implants treated with Ti-Brush with or without the concomitant use of sodium hypochlorite compared with implants without treatment. And although the amount of WBH was not statistically significant different between test and control groups, the amount of bone

refill in ROI was higher in all test groups.

Nevertheless, these results should be interpreted with caution. The number of implants included in each treatment group was not the same. There were 16 implants in TiBrush[™] group with chlorhexidine and sodium hypochlorite (TBH), eight implants in TiBrush[™] group with chlorhexidine alone (TB), eight implants in the ultrasonic group (US) and 16 implants were used as control.

Moreover, it has been observed that the extension to which bone fill and re-osseointegration can be achieved is affected by the configuration of peri-implant bone defects (Schwarz et al. 2010). In the dog model, 1 month after tooth extraction, the resulting width of the alveolar ridge in the premolar and molar region may vary between 5 to 6 mm and 6 to 8 mm, respectively, and the circumferential width of the peri-implant defect usually is 1–2 mm (Schwarz et al. 2007). All distal implants in the current study were used as control and mesial implants were randomized in three test groups. Therefore, almost 70% of peri-implant bone defects at control sites presented circular bone resorption with the complete maintenance of the vestibular and oral compact bone with a high potential to bone fill, while the percentage of this kind of defects was smaller in test groups. Moreover, in TiBrush[™] groups four implants presented class II defects without intra-bony component and without regeneration capacity.

Therefore, and with the limitations of the present study, it was concluded that (1) access surgery and decontamination of the peri-implant surfaces with all tested methods significantly improved all clinical parameters in comparison with control. (2) No statistically significant differences were observed in WBH between groups; however, there were differences between test and control groups in terms of inflammation, bone defect depth and bone refill. (3) The concomitant use of sodium hypochlorite has minor effect on treatment outcomes.

References

Bürgers, R., Wittey, C., Hahnel, S. & Gosau, M. (2012) The effect of various topical

peri-implantitis antiseptics on *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, and *Streptococcus sanguinis*. *Archives of Oral Biology* **57**, 940–947.

Carcuac, O., Abrahamsen, I., Charalampakis, G. & Berglund, T. (2015) The effect of the local use of chlorhexidine in surgical treatment of experimental peri-implantitis in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **42**, 196–203.

Claffey, N., Clarke, E., Polyzos, I. & Renvert, S. (2008) Surgical treatment of peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 316–332.

Donath, K. & Bremner, G. (1982) A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schiff (sawing and grinding) technique. *Journal of Oral Pathology* **11**, 318–326.

Gosau, M., Hahnel, S., Schwarz, F., Gerlach, T., Reichert, T. E. & Bürgers, R. (2010) Effect of six different peri-implantitis disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 866–872.

Grunder, U., Hürzeler, M. B., Schüpbach, P. & Strub, J. R. (1993) Treatment of ligature-induced peri-implantitis using guided tissue regeneration: a clinical and histologic study in the beagle dog. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **8**, 282–293.

Kilkenny, C., Browne, W. J., Cuthill, I. C., Emerson, M. & Altman, D. G. (2010) Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology* **8** (6).

Laczko, J. & Leval, G. (1975) A simple differential staining method for semi-thin sections of ossifying cartilage and bone tissues embedded in epoxy resin. *Mikroskopie* **31S**, 1–4.

Lang, N. P. & Berglund, T. (2011) Peri-implant diseases: where are we now? Consensus of the 7th European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* **38**, 178–181.

Lang, N. P., Bragger, U., Walther, D., Buser, B. & Korumak, K. S. (1993) Ligature-induced peri-implant infection in cynomolgus monkeys. I. Clinical and radiographic findings. *Clinical Oral Implants Research* **4**, 2–11.

Lindhe, J., Berglund, T., Ericsson, I., Lijenberg, B. & Marinello, C. (1992) Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the Beagle dog. *Clinical Oral Implants Research* **3**, 9–16.

Marinello, C. P., Berglund, T., Ericsson, I., Klinge, B., Glantz, P. O. & Lindhe, J. (1995) Resolution of ligature-induced peri-implantitis lesions in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **22**, 475–479.

Monbaldi, A., van Ooster, M. A. C. & Schürch, E. Jr (1987) The microflora associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiology and Immunology* **2**, 145–151.

Park, J.-B., Jeon, Y. & Ko, Y. (2015) Effects of titanium brush on machined and sand-blasted/acid-etched titanium disc using confocal microscopy and contact profilometry. *Clinical Oral Implants Research* **26**, 130–136.

Persson, L. G., Araújo, M. G., Berglund, T., Grondahl, K. & Lindhe, J. (1999) Resolution of peri-implantitis following treatment. An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **10**, 195–203.

Persson, L. G., Berglund, T., Sennarby, L. & Lindhe, J. (2001a) Re-osseointegration after treatment of peri-implantitis at different implant surfaces: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **12**, 595–603.

Persson, L. G., Ericsson, I., Berglund, T. & Lindhe, J. (2001b) Osseointegration following

Surgical treatment of peri-implantitis in dogs 701

- treatment of peri-implantitis and replacement of implant components. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* 28, 258–263.
- Persson, L. G., Mouhyi, J., Berglundh, T., Sennerby, L. & Lindhe, J. (2004) Carbon dioxide laser and hydrogen peroxide conditioning in the treatment of peri-implantitis: an experimental study in the dog. *Clinical of Implant Dentistry and Related Research* 6, 230–238.
- Reuver, S., Polyzio, I. & Maguire, R. (2009) Reosseointegration on previously contaminated surfaces: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 20(Suppl. 4), 216–227.
- Reuver, S., Roos-Jansaker, A.-M. & Claffey, N. (2008) Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. *Journal of Clinical Periodontology* 35, 305–315.
- Roos-Jansaker, A.-M., Reuver, H., Lindahl, C. & Reuver, S. (2007) Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a prospective cohort study. *Journal of Clinical Periodontology* 34, 625–632.
- Schon, S., Holmsrup, P., Jørgensen, T., Skovgaard, L. T., Stoltz, K., Hjørting-Hansen, E. & Wenzel, A. (2003) Implant surface preparation in the surgical treatment of experimental peri-implantitis with autogenous bone graft and ePTFE membrane in cynomolgus monkeys. *Clinical Oral Implants Research* 14, 412–422.
- Schon, S., Holmsrup, P., Stoltz, K., Hjørting-Hansen, E. & Kormaa, K. S. (1993) Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth. Clinical and radiographic observations in Cynomolgus monkeys. *Clinical Oral Implants Research* 4, 12–22.
- Schwarz, F., Herten, M., Sager, M., Bieling, K., Sculean, A. & Becker, J. (2007) Comparison of naturally occurring and ligature induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs. *Clinical Oral Implants Research* 18, 161–170.
- Schwarz, F., Jepsen, S., Herten, M., Sager, M., Rothamel, D. & Becker, J. (2006) Influence of different treatment approaches on non-submerged and submerged healing of ligature induced peri-implantitis: an experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* 33, 584–595.
- Schwarz, F., Sager, M. & Becker, J. (2011) Peri-implantitis defect model. In: Giannobile, W. V. & Nevins, M. (eds). *Osteology guidelines for oral & maxillofacial regeneration*, pp. 197–224. London: Quintessence.
- Schwarz, F., Sahn, N., Schwarz, K. & Becker, J. (2010) Impact of defect configuration on the clinical outcome following surgical regenerative therapy of peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology* 37, 449–455.
- Zitzmann, N. U., Berglundh, T., Ericsson, I. & Lindhe, J. (2004) Spontaneous progression of experimentally induced peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology* 31, 845–849.

Address:
Cristina Carral
Periodontology Unit
School of Medicine and Dentistry
University of Santiago de Compostela
Rúa San Francisco s/n 15782 Santiago de
Compostela
Spain
E-mail: cristinacarral@hotmail.com

Clinical Relevance

Scientific rationale for the study: The evaluation of a new decontamination method combined Ti-Brush with sodium hypochlorite and chlorhexidine have not been tested in preclinical models.
Principal findings: Decontamination of peri-implant surfaces with

Ti-Brush significantly improved all clinical parameters in comparison with control. No statistically significant differences were observed in woven bone height between groups; however, there were differences between test and control groups in terms of inflammation, bone defect depth and bone refill. The

concomitant use of sodium hypochlorite has minor effect on treatment outcomes.
Practical implications: Resolution of peri-implantitis may occur after implant surface decontamination with Ti-Brush regardless the concomitant use of sodium hypochlorite.





ANEXO 3





ANEXO 3

Hojas de registro utilizadas para cada variable clínica (índice de placa, índice gingival, profundidad de sondaje, nivel clínico de inserción y recesión) en cada visita en cada perro.



Identification:	5	1	1	6	2	3	Date:	O	C	T	-	0	9	
-----------------	---	---	---	---	---	---	-------	---	---	---	---	---	---	--

CONFIDENTIAL

Animal Record Form

ARF 10-002

_____, _____, _____, _____
Sign *date* *Sign* *date*

PART 3: LIGATURE INDUCED PERIIMPLANTITIS (I)

Date: OCTOBER- 09-2012

ANIMAL GENERAL CONDITION

Weight: _____ kg Age: _____ months

General health: good _____

GENERAL ANESTHESIA

Ketalar 50 mg/ml:

Lot: _____ 10 ml: _____
Time sign

Midazolam 5 mg/ml:

Lot: _____ 1.5ml: _____
Time sign

Comments:

Identification: 5 1 1 6 2 3 Date: O C T - 0 9 **straumann**

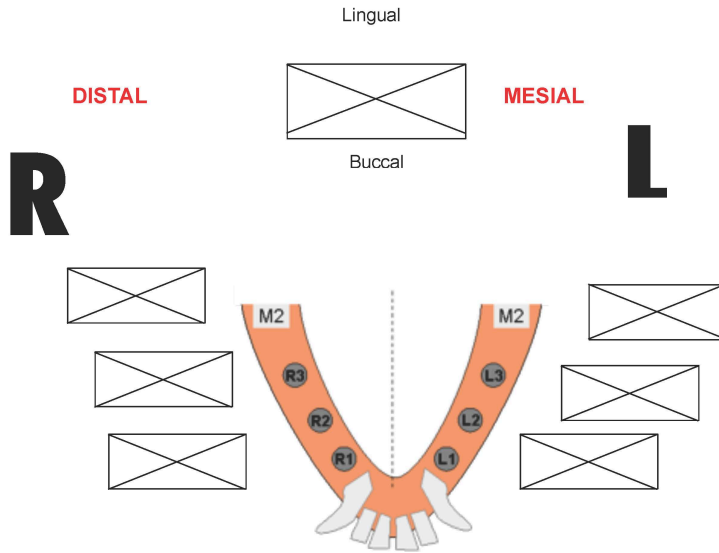
CONFIDENTIAL

Animal Record Form

ARF 10-002

CLINICAL MEASUREMENTS

CLINICAL ATTACHMENT LEVEL: S-BP



Identification:	5	1	1	6	2	3	Date:	O	C	T	-	0	9	
-----------------	---	---	---	---	---	---	-------	---	---	---	---	---	---	--

CONFIDENTIAL

Animal Record Form

ARF 10-002

RIGHT SIDE

Time Beginning at: _____ Finished at: _____

RIGHT
RIGHT
RIGHT
RIGHT

Operator:	_____	_____	sign
Assist:	_____	_____	sign
Monitor:	_____	_____	sign

Local anesthesia: Xylocain/Adrenalin Amount (ml): _____ Sign _____

RIGHT
RIGHT
RIGHT
RIGHT



Identification: 5 1 1 6 2 3 Date: O C T - 0 9 

CONFIDENTIAL

Animal Record Form

ARF 10-002

LEFT SIDE

Time Beginning at: _____ Finished at: _____

LEFT	Operator: _____	_____	sign
	Assist: _____	_____	sign
	Monitor: _____	_____	sign
LEFT			
LEFT			
LEFT			
LEFT			

ANEXO 4





ANEXO 4



HOSPITAL VETERINARIO
UNIVERSITARIO
ROF CODINA
 F U N D A C I O N
 D E E N S E Ñ A M E N T O S / n
 Estrada de Ourense, s/n
 Campus Universitario
 C.A.M.P.O. UNIVERSITARIO
 Tel.: 982 28 59 28 / Fax: 982 25 41 08
 27002 LUGO

Servicio de



D. Luis Felipe de la Cruz Palomino (DNI: 03778290B), director xerente da Fundación Rof Codina, remítelle a **comunicación de procedementos con animais de experimentación** a realizar nas nosas instalacións e cuxos datos son:

Centro usuario: Fundación Rof Codina (AE-LU-001)

Investigador responsable: Fernando María Muñoz Guzón (DNI: 02231460T)

Procedemento: Evaluación del efecto del Ti-Brush y un nuevo agente químico en el tratamiento de las perimplantitis.

Código: AE-LU-001 / 12/ INV MED(02)/ Outros(04)/ 5-12



Lugo, 13 de marzo de 2012

Asdo: Luis Felipe de la Cruz Palomino

SR/A. XEFE/A DO SERVICIO PROVINCIAL DE GANDERÍA.

DEPARTAMENTO TERRITORIAL DA CONSELLERÍA DO MEDIO RURAL DA PROVINCIA DE LUGO

La Fundación Rof Codina con domicilio en Estrada de Ourense s/n Facultad de Veterinaria USC 27002 Lugo le informa que los datos personales que usted nos ha proporcionado como consecuencia de la relación comercial, han sido incorporados a varios ficheros automatizados y la titularidad de la Fundación, debidamente inscritos en el Registro General de Protección de Datos que finalidad es permitir dicho relación y que los mismos serán comunicados a la Agencia Estatal de la Administración Tributaria en cumplimiento de las obligaciones legales oportunas del comercio electrónico. Podrá ejercitar sus derechos de acceso, modificación, cancelación u oposición de sus datos, dirigiendo una notificación al efecto, a la dirección anteriormente indicada.



Estrada da Granxa, s/n
Campus Universitario
Tel.: 982 820 920 / Fax: 982 254 108
27002 LUGO

Servicio de: _____

VALORACIÓN DE PROCEDIMIENTOS.

**COMITÉ DE ÉTICA DO HOSPITAL VETERINARIO UNIVERSITARIO ROF
CODINA**

Reunido o Comité de Bioética do HVU Rof Codina coa fin de estudar a comunicación de procedemento con animais de experimentación denominado:

Evaluación del efecto del Ti-Brush y un nuevo agente químico en el tratamiento de las perimplantitis. **Código:** AE-LU-001 / 12/ INV MED(02)/ Outros(04)/ 5-12

Do que é investigador principal:

Muñoz Guzón, Fernando María, DNI 02231460T e categoría acreditada: **D1 e D2**

Decide, de xeito unánime, valorar **favorablemente** este procedemento unha vez comprobado que cumpre todos os requirimentos esixidos pola normativa vixente.

Lugo a 9 de marzo de 2012

O secretario

Lucas Rigueira Rey

La Fundación Rof Codina con domicilio en Estrada da Granxa s/n Facultad de Veterinaria USC 27002 Lugo le informa que los datos personales que usted nos ha proporcionado como consecuencia de la relación comercial, han sido incorporados a varios ficheros automatizados o no automatizados de la Fundación, debidamente inscritos en el Registro General de Protección de Datos cuya finalidad es gestionar dicha relación y que los mismos serán comunicados a la Agencia Estatal de la Administración Tributaria en cumplimiento de las obligaciones legales oportunas así como a entidades financieras con las que trabaje esta Fundación para proceder al pago o cobro de los cantidades pertinentes. Podrá ejercitar sus derechos de acceso, rectificación, cancelación u oposición de sus datos, dirigiendo una notificación al efecto, a la dirección anteriormente indicada.



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DO MEDIO RURAL

Edificio Administrativo San Caetano
15781 SANTIAGO DE COMPOSTELA (A Coruña)
http://mediorural.xunta.es

**COMUNICACIÓN DE PROCEDIMENTOS CON ANIMAIS DE
EXPERIMENTACIÓN**

DATOS DO COMUNICANTE

APELIDOS E NOME: MUÑOZ GUZON, FERNANDO MARIA		DNI 02231460T	
EN CALIDADE DE <input type="checkbox"/> representante legal <input type="checkbox"/> responsable adm <input type="checkbox"/> titular <input checked="" type="checkbox"/> outros: Investigador Responsable			
CENTRO REPRESENTADO Fundación Rof Codina		CÓDIGO CENTRO AE-LU-001	
ENDEREZO Estrada da Granxa s/n		LOCALIDADE LUGO	
PROVINCIA LUGO	CODIGO POSTAL 27002	TELEFONO 982285928	FAX982254108

➤ **XUNTASE MEMORIA DESCRIPTIVA DO PROCEDIMIENTO COS SEGUINTE PUNTOS:**

<input type="checkbox"/> Denominación do procedemento
<input type="checkbox"/> Obxetivos do procedemento
<input type="checkbox"/> Metodoloxía do procedemento (con bibliografía)
<input type="checkbox"/> Xustificación da necesidade de utilización de animais para obter os resultados perseguidos. Incluir número e especies a utilizar.
<input type="checkbox"/> Duración e frecuencia do procedemento con data de inicio e terminación
<input type="checkbox"/> Destino final dos animais (co método de sacrificio se procede)
<input type="checkbox"/> Identificación do persoal investigador responsable
<input type="checkbox"/> Datos do centro responsable da estabulación durante o procedemento
<input type="checkbox"/> Informe de avaliación do Comité Ético do centro usuario, asinado polos compoñentes do mesmo
<input type="checkbox"/> Para os centros de titularidade da Consellería do Medio Rural, informe de avaliación do Comité de Bioética da Consellería de Medio Rural

O abaixo asinante COMUNICA o presente procedemento, **DESPOIS DE COMPROBAR QUE ÉSTE NON PRECISA AUTORIZACIÓN PREVIA E EXPRESA** (non se acolle a ningún dos supostos do anexo XI do R.D. 1201/2005, do 10 de outubro.

Lugo, a 8 de Marzo 2012
SINATURA DO SOLICITANTE

(A cubrir pola Administración)

LEXISLACIÓN APLICABLE: <ul style="list-style-type: none"> Real Decreto 1201/2005, do 10 de outubro, sobre protección dos animais utilizados para experimentación e outros fins científicos. Decreto 296/2008, do 30 de decembro, de protección dos animais utilizados para experimentación e outros fins científicos, incluída a docencia, e polo que se crea o Rexistro de centros de cría, de subministradores e usuarios e a Comisión Galega de Benestar dos Animais de Experimentación. Orde do 15 de setembro do 2006 pola que se crea o Comité de Bioética da Consellería do Medio Rural. Lei 1/1993, do 13 de abril, de protección dos animais domésticos e salvaxes en cativeiro. Decreto 153/1998, do 2 de abril, polo que se aproba o regulamento que desenvolve a Lei 1/1993, do 13 de abril. Lei 32/2007, do 7 de novembro, para o coidado dos animais, na súa explotación transporte, explotación e sacrificio. 	RECIBIDO	Nº EXPEDIENTE	
			DATA ENTRADA
		REVISADO CONFORME	DATA ENTRADA
			DATA SAIDA

SR/A. XEFE/A DO SERVICIO PROVINCIAL DE GANDERÍA.
DEPARTAMENTO TERRITORIAL DA CONSELLERÍA DO MEDIO RURAL DA PROVINCIA DE LUGO



MEMORIA DESCRIPTIVA DO PROCEDEMENTO

1- DENOMINACIÓN

Evaluación del efecto del Ti-Brush y un nuevo agente químico en el tratamiento de las perimplantitis.

LIÑAS DIRECTRICES PUBLICADAS SI NO

Referencias das publicacións:

2 – OBXECTIVOS

El objetivo es evaluar el efecto de un nuevo cepillo de titanio y un agente químico en el tratamiento de las infecciones sobre implantes dentales.

3-METODOLOXÍA DO PROCEDEMENTO (coa bibliografía que a reseña)

-Especies de animais a utilizar e número: 8 perras de raza beagle adultos.

-Citar o centro de orixe (oficialmente recoñecido) de cada especie utilizada: proceden de Isoquimen,S.L.; Carretera de sant Miquel del fai, Km 3,5; 08182 Sant Feliu de Codines, Barcelona, Spain; Tel. +34 938 66 06 51; Fax + 34 938 66 12 01; customerservices@isoquimen.eu.

-Centro usuario donde se executará o procedemento: Fundación Rof Codina.

-Condicions especiais que requiran os animais (se é o caso): Limpiezas periódicas e la cavidad oral con cepillo de dientes.

-Protocolos de anestesia e analgesia (produtos, vía de administración e doses): Acepromacina (0,1 ml), morfina (0,3 ml), Propofol (30 mg) y mantenimiento con isoflurano al 2 %.

-Protocolo cirúrxico (se é o caso): en la primera cirugía se procederá a la extracción de los premolares y molares inferiores. A los 3 meses se procederá a la colocación de 3 implantes a cada lado de la mandíbula. A los dos meses se colocarán ligaduras de algodón alrededor de los implantes para generar una infección a nivel de los tejidos blandos que rodean al implante. Estas ligaduras serán sustituidas cada 3 semanas durante 3 meses. Posteriormente los implantes serán aleatoriamente tratados mediante uno de los siguientes protocolos:

1. Control negativo.
2. Control positivo: tratamiento estándar actual (limpieza ultrasónica, clorhexidina y solución salina estéril).
3. Ti-Brush más solución salina estéril.
4. Ti-Brush más agente químico.

. Tras 4 meses de curación los animales serán sacrificados.

-Tratamentos que recibirán os animais: analgesia y antibioterapia postoperatoria.

- 1.-Lindhe, J. & Meyle, J. Peri-implant diseases: consensus report of the sixth European Workshop on Periodontology. J. Clin. Periodontol. 2008; 35, 282-285.
- 2.-Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. J. Clin. Periodontol. 2008; 35: 286-291.
- 3.-Heitz-Mayfield LJA. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. J. Clin. Periodontol. 2008; 35: 292-304.
- 4.-Lang NP, Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG. Histological probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. Clin. Oral Impl. Res. 1994; 5: 191-201.
- 5.-Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. Periodontol. 2000 1998; 17:63-76
- 6.-Renvert S, Roos-Jansaker A-M, Claffey N. Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri implantitis: a literature review. J. Clin. Periodontol. 2008; 35: 305-315.



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DO MEDIO RURAL

Edificio Administrativo San Caetano
15781 SANTIAGO DE COMPOSTELA (A Coruña)
http://mediorural.xunta.es

- 7.-Salvi, G. E., Aglietta, M., Eick, S., Sculean, A., Lang, N. P. & Ramseier, C. A. Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared to experimental gingivitis in man. Clin. Oral Impl. Res. 2011; 000-000.
- 8.-Claffey, N., Clarke, E., Polyzois, I. & Renvert, S. Surgical treatment of peri-implantitis. J. Clin. Periodontol. 2008; 35: 316-332.
- 9.-Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljemberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the Beagle dog. Clin. Oral Impl. Re. 1992; 3: 9-16.
- 10.-Schwarz F, Herten M, Sager M, Bieling K, Sculean A, Becker J. Comparison of naturally occurring and ligature induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs. Clin. Oral Impl. Res. 2007; 18: 161-170.
- 11.-Lang, N. P. & Berglundh, T. (2011) Peri-implant diseases: Where are we now? Consensus of the 7th European Workshop on Periodontology. J. Clin. Periodontol. 2011 ; 38: 178-181.
- 12.-Mombelli A, van Oosten MA, Schuch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. Oral Microbiol Immunol 1987;2: 145-51.
- 13.-Donath, K. Preparation of Histological Section (by the Cutting-Grinding Technique for Hard Tissues and Other Materials Not Suitable to be Sectioned by Routine Methods)- Equipment and Methodological Performance Norderstedt: EXAKT-Kulzer Publication. Evans, C. 1993

4. XUSTIFICACIÓN DA NECESIDADE DE UTILIZACIÓN DE ANIMAIS PARA OBTER OS RESULTADOS PERSEGUIDOS.

Sinalar os motivos polos cales non é posible un método alternativo coa filosofía da redución, refinamento, e reemplazo.

- Non existe método alternativo ao procedemento proposto
- Existe método alternativo pero non está validado (citar dita referencia bibliográfica)

5 - DURACIÓN E FRECUENCIA DO PROCEDEMENTO (con data de inicio e terminación)

Inicio: Junio 2012.

Finalización: Mayo 2013.

El experimento se realizará una sola vez.

6 - DESTINO FINAL DOS ANIMAIS (co metodo de sacrificio si procede)

Ao finalizar o procedemento de experimentación:

- está previsto manter os animais con vida. Citar destino posterior dos animais:
- está previsto sacrificarlos. Explicar o método de eutanasia e o destino autorizado dos subproductos (R. 1774/2002).
- A eutanasia realizase mediante sobredose IV de barbitúricos (pentobarbital sódico). Os restos biolóxicos se almacenan conxelados no centro ate a súa remisión ó crematorio da Facultade de Veterinaria de Lugo.

7 - IDENTIFICACIÓN DO PERSOAL INVESTIGADOR RESPONSABLE

NOMBRE E TITULACIÓN (INDICAR OS DATOS COMPLETOS)	NIF	CUALIFICACIÓN GRUPO
Antonio González Cantalapiedra. Profesor Titular. Fac. Veterinaria. U.S.C.	09.280.718 B	Cat. B, C, D1 e D2
Mónica López Peña. Profesora Titular. Fac. Veterinaria. U.S.C	33.310.220 X	Cat. B, C, D1 e D2



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DO MEDIO RURAL

Edificio Administrativo San Caetano
15751 SANTIAGO DE COMPOSTELA (A Coruña)
http://mediorural.xunta.es

Fernando María Muñoz Guzón. Parga Pondal. Fac. Veterinaria. U.S.C.	02.231.460 T	Cat. B, C, D1 e D2
Mariano López García. Profesor Asociado.USC.	33335893 S	Cat. B
María Permuy Mendaña.Becaria predoctoral. USC.	33330524 M	Cat. B
Natalia Miño Fariña. Profesora Asociada.USC.	32833495 Y	Cat. B
Óscar Varela López. Profesor Asociado.USC.	53169742 K	Cat. B

8 – DATOS DO CENTRO RESPONSABLE DA ESTABULACIÓN DURANTE O PROCEDEMENTO

Localización , responsable, instalacións, etc.

Fundación Rof Codina.

Xerente: Luis Felipe de la Cruz Palomino

Establecemento rexistrado AE LU001

9 – XÚNTASE COPIA DO INFORME DE AVALIACIÓN DO PROCEDEMENTO, DO COMITÉ ÉTICO DO CENTRO USUARIO, ASINADO POLOS COMPOÑENTES DO MESMO

10– DATOS PARA QUE O SOLICITANTE ASIGNE O CÓDIGO DE PROCEMENTO:

(A cubrir polo solicitante segundo as instrucións que se recollen a continuación)

CATEGORÍA PRINCIPAL	CATEG. SECUNDARIA	TIPO TEST (no seu caso)
FUN 01		
INV MED 02	Outros 04	
PROD MED 03		
PROD VET 04		
TOX 05		
DIG ENF 06		
EDUC FORM 07		
OUTROS 08		

Código que se o solicitante asigna ao procedemento

(A encher polo solicitante, utilizando as instrucións que se recollen a continuación (ao dorso), co código de rexistro do centro, ano, código principal, secundario e tipo de test no seu caso)

Núm. Rexistro do Centro/ 09 / código principal/ código secundario/ tipo test

AE-LU-001 / 12/ INV MED(02)/ Outros(04)/ 5-12

Data e sinatura do comunicante:

8-3-12

Conflictos de interés

No existen conflictos de interés en esta investigación.
El estudio fue financiado por el Instituto Straumann AG, Basilea,
Suíza.









