

RUGOSIDAD SUPERFICIAL DEL ZIRCONIO PARA IMPLANTES DENTARIOS Y LA ADHESIÓN DE BIOFILM

RESUMEN

Autores

Dra. Butler, Teresa

Dr. Lazo, Sergio

Dr. Lazo, Gabriel

Od. Basal, Roxana Lia

Od. Escudero Giacchella, Ezequiel

Od. Friso, Nélide Ester

Od. Viscovik, Cristina

Od. Alfaro, Gabriel

Od. Amaro, Emilio

Od. Merlo, Diego

Od. Belloni, Federico

Od. Pazos, Fernando

Especialista Ivanov, Marcela

Od. Cucchetti, Diana Eva

Asignatura de Histología

Facultad de Odontología. UNLP.

Calle 51 entre 1 y 115 La Plata.
(1900).

Pcia. de Buenos Aires, Argentina
dikybutler@yahoo.com.ar

El zirconio fue bien reconocido como un biomaterial estético y resistente para la fabricación de implantes dentarios. La biocompatibilidad que presenta en relación a los tejidos subyacentes a las piezas dentarias, también arrojaron excelentes resultados. En estudios de investigación en los que se comparó la adhesión del biofilm en el titanio y zirconio, la formación y adhesión del mismo fue escasa en el segundo material. El objetivo de este trabajo fue analizar la adhesión de biofilm en relación a la rugosidad superficial del óxido de zirconio. Para analizar la rugosidad superficial se utilizó el sistema EZEIMAGE a través de Microscopía Electrónica de Barrido. Para la observación de las Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml) adheridas a los cortes de zirconio se realizaron siembras con cepas activadas de cocos y bacilos orales, en medio de cultivo líquido agar sangre al 5 %, incubadas a 37 °C en condiciones de anaerobiosis. Los resultados obtenidos indicaron que la rugosidad superficial en los cortes analizados no era significativa. Los datos obtenidos en relación al desarrollo del biofilm sobre las muestras del biomaterial, dieron un número estadísticamente no significativo de $p > 0,05$. Por lo tanto, la fase experimental de este trabajo indica que las irregularidades que presenta el zirconio sobre su superficie no favorecen la adhesión del biofilm como otros materiales, pudiendo ser considerado para la confección de futuros implantes dentarios.

ABSTRACT

The zirconium was recognized like sthetic and resistant material to the manufacture of dental implants. The biocompatibility that presents in relation to the underlying tissue of teeth, also yielded excellent results. In research studies where adhesion of biofilm on titanium and zirconium were compared, its formation and addition was low in the second material. The aim of this project was analyze the addition of biofilm in relation to the superficial rugosity of zirconium oxide. To analyze the surface rugosity EZEIMAGE system was used system through Scanning Electron Microscopy. For observation of Colony Forming Units per milliliter (CFU/ml) attached to zirconium cuts was realized plantings strains of oral coccus and bacillus activated, in liquid medium crop blood agar at 5% incubated to 37°C in anaerobic conditions. The obtained results indicated that the surface rugosity in the analyzed curts was not significant. The obtained data in relation to the development of biofilm on biomaterial samples, showed a statistically insignificant number of $p > 0.05$. Therefore, the experimental phase of this project indicates that the irregularities that presents zirconium on its surface do not favor the addition of biofilm like other materials, it could be considered to the confection of futures dental implants.

INTRODUCCIÓN

Ciertos autores observaron desde hace relativamente muy pocos años, que el mejoramiento estético del zirconio, permitía que este material fuera utilizado para la confección de carillas en el sector anterior, o bien, en tratamientos pos-quirúrgicos, para la fabricación de pilares dentarios. El óxido de zirconio, posee una excelente resistencia a la corrosión y se ha demostrado su biocompatibilidad con los tejidos dentarios y una alta capacidad de loading.⁽¹⁾

El mencionado biomaterial en sus comienzos fue introducido en algunos países para la elaboración de soportes de implantes dentarios, en reemplazo del titanio, debido a que el segundo de los materiales, provocaba una coloración grisácea o teñía los tejidos adyacentes a la pieza dentaria, pudiendo además, generarse una periimplantitis.

El rol de las bacterias en el desarrollo de la periodontitis, ha sido extensamente investigada por diferentes científicos, observando a la *Porphyromona gingivalis* y el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, como los microorganismos más patológicos y resistentes presentes en la periodontitis y en la periimplantitis.⁽²⁾⁽³⁾ Algunos autores reportan ⁽¹⁾ que luego de 5 semanas de colocados los implantes de titanio y zirconio, las bacterias poseen tendencia a la adhesión y colonización sobre la superficie de los tejidos de soporte⁽⁴⁾ Estos mecanismos siempre se ven favorecidos por el sistema de "sensing quórum" a través del cual las bacterias reciben ciertas señales para su atracción, y el desplazamiento (swarming) sobre superficies adherentes.⁽⁵⁾⁽⁶⁾

Otro de los elementos que podría favorecer la colonización bacteriana, es la altura de las rugosidades registradas en el material. En recientes estudios realizados sobre cortes de zirconio, se observó que el mecanismo de sinterización disminuirían las imperfecciones del material, evitando la instalación de los microorganismos. Piconi Corrado, Rimondini L, Cerroni L; 2011, indican que es escasa la literatura disponible que describan los resultados clínicos de los implantes de zirconio.⁽⁷⁾ Sin embargo, Blatsche y Voltz; 2006, reportaron que en 34 pacientes implantados con zirconio en Alemania, después de un seguimiento de 4 meses para los implantes inferiores, y de 6 meses para los implantes superiores, se observó que en el 98 % de los casos se había logrado una osteointegración estable, con buena densidad del hueso cortical, mientras que el examen clínico de los pacientes, mostró la ausencia de estados patológicos o inflamatorios, en los tejidos blandos circundantes.⁽⁸⁾

Por los motivos expuestos, el objetivo de este trabajo fue analizar la adhesión de biofilm en relación a la rugosidad del óxido de zirconio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizó la altura rugosidad de la superficie de 28 muestras de zirconio obtenidas a partir de bloques del biomaterial

(dióxido de zirconio), la misma se relacionó con la adhesión de bacterias orales analizadas "in vitro".

Análisis de la altura de la rugosidad por sistema de EZEIMAGE

Para la obtención de las muestras se realizaron cortes de dióxido de zirconio con piedras abrasivas y fresas para zirconio. Las medidas de cada corte fueron de aproximadamente 1 cm² por 0,50 cm de alto. La superficie de los mismos se analizó con el sistema EZEIMAGE.

Para ello se utilizó un microscopio Electrónico de Barrido (MEB) modelo Quantum 200, con magnificación 3000 X. Para la medición de las alturas se aplicó la técnica de superposición de imágenes y par de ángulos de 5°, realizando tres mediciones por cada corte. La medida utilizada fue en μ . Los datos obtenidos fueron registrados en una tabla Excell para ser analizados estadísticamente mediante la prueba de varianza, considerando como significativo $p < 0,05$.

Procesado "in Vitro" de los cortes de zirconio.

Con el propósito de realizar un estudio "in vitro" del biofilm formado sobre muestras de zirconio, se realizaron 28 cortes en total, de dicho material. Los mismos se colocaron en saliva artificial durante 24 horas, conteniendo cepas activadas de estreptococos TCC349 y bacilos TS890 orales, para reproducir condiciones similares a las de la cavidad bucal (ver ítem 2.4). De dichas muestras se tomó 0,1 ml y fueron sembradas en medio de cultivo agar sangre al 5 % (ítem 2.3) incubadas a 37 °C durante 72 horas, en condiciones de anaerobiosis.

Posteriormente, se realizó el recuento de las Unidades Formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) utilizando para ello un microscopio óptico Olymplus HF y la placa de Frost. Los datos obtenidos fueron volcados en una tabla Excell y se analizaron estadísticamente mediante la prueba de varianza.

Medio de cultivo agar sangre

El medio de cultivo agar sangre al 5 % se puede utilizar para el desarrollo de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se utilizó un medio de cultivo marca Merck.

Componentes:

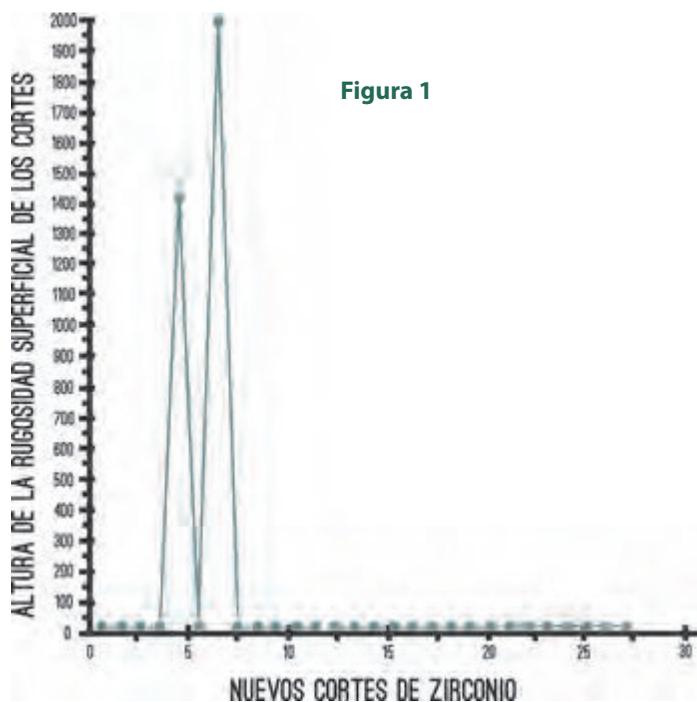
Cloruro de sodio	6g
Agar nutritivo	10g
Agua destilada	900cm ³
Sangre de carnero al 5 %	c.s.

Activación de las cepas

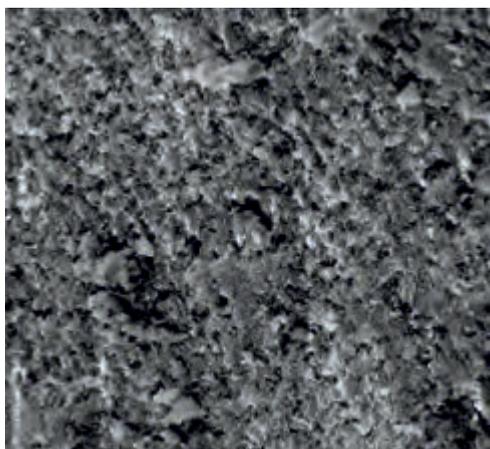
La reconstitución de las cepas TCC349 y TS890, se realizó en 1 ml de caldo nutritivo, incubadas a 37° C en ambiente de CO₂, durante 24 horas, siendo posteriormente sembrados en 10 ml en Agar en Agar mitis salivarius a 37 °C durante 48 horas, en condiciones de anaerobiosis.

RESULTADOS

Los datos de las alturas de los cortes de zirconio fueron analizados estadísticamente utilizando la prueba de varianza. Los resultados de las medias de las alturas de los diferentes cortes de zirconio señalan dos curvas ascendentes, mostrando como valores máximos los hallados en los cortes N° 5 y 7 (figura 1). En el resto de las muestras del biomaterial, se observa un importante descenso en relación a la medida de la característica física antes mencionada, con escasas diferencias entre las mismas.



En los cortes de zirconio analizados por el sistema EZEIMAGE a través de MEB, se observó una superficie muy irregular sobre un plano de aspecto globular, en algunos casos, con posibles porosidades que pueden predisponer la adhesión microbiana. Sin embargo, de acuerdo a los datos obtenidos en la prueba de varianza, fue observado que el análisis estadístico de las medias de las alturas de la rugosidad, no arrojó un número estadísticamente significativo, siendo $p > 0,05$ (figura 2).



Se examinó la presencia de biopelícula, obtenida a partir de cultivos mixtos realizados en agar sangre al 5%, de ce-

pas activadas de cocos y bacilos orales. El recuento de las UFC/ml de las bacterias observadas en el biofilm analizado "in vitro", adheridas sobre las muestras de los cortes problema, arrojó un rango estadísticamente no significativo. Los cortes número 7 y 8 mostraron una importante presencia de bacterias, con predominio de las formas cocoides, mientras que en el resto de los cortes solo se hallaron escasas y aisladas UFC/ml, tal como muestra la figura 3.



Siendo la rugosidad una característica física importante para la adhesión de biofilm, los valores de las UFC/ml observadas sobre los cortes de zirconio estudiado, no fueron significativas en el desarrollo de la biopelícula.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se ha realizado un análisis estructural del aspecto superficial en 28 cortes de zirconio, y un estudio cuantitativo de la formación "in vitro" de biofilm representativo de la zona gingival de la cavidad oral.

En relación a las características antedichas, el presente estudio no demostró importantes diferencias entre los distintos cortes de zirconio analizados. Los microorganismos incluidos en este estudio, están entre los pioneros presentes en los procesos inflamatorios de la gingiva. En concordancia con algunos autores (Quiryem et al 2006; Kumar et al 2012; Socransky et al 1998) los microorganismos observados en el análisis "in vitro" de biofilm, incluyen especies bacterianas encontradas con frecuencia alrededor de las piezas dentarias, como colonizadores tempranos o tardíos⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾. El análisis estructural indica que el material en cuestión es susceptible a la adherencia bacteriana, presentando un aspecto fino y entrelazado, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el desarrollo de biofilm entre los cortes. En estudios realizados "in vitro" de la adherencia de biofilm en titanio, hidroxiapatita y zirconio, se observó que los tres materiales son susceptibles a la acumulación de placa, sin embargo, el zirconio fue el material que no presentó diferencias estadísticamente significativas en el recuento de UFC/ml.⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾

Se han encontrado resultados contradictorios en otros trabajos científicos, donde la adherencia bacteriana "in vitro" sobre dos tipos de zirconio mostró que la adherencia del *Streptococcus mutans* era mayor que sobre el titanio a las

Hasta el momento, por la característica física de superficie analizada en el biomaterial, y el escaso desarrollo de biofilm analizados en esta etapa experimental, podría indicarse que el zirconio sería un posible material de elección para la futura fabricación de los implantes dentarios en nuestro mercado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Meyenberg KH, Lutly H, Scharer P. Zirconia posts: A new all ceramic concept for novital abutment teeth. *J Esthet Dent* 1995; 7:73-80
2. Van Winkelhoff HJ, Goene RJ, Benschop C, Folner T. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res* 2000; 11:511-20
3. Zhao L, Wu YF, Mena S, Yang H, Ou Yang YL, Zhou XD. Prevalence of fim A genotypes of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status in chinese adults. *J Periodontal Res* 2007, 42: 511-17
4. Umut Duygn B, Boynuegui D E, Duman AN, Gökolp P, Balos K. Bacterial adhesion and colonization differences between zirconium oxide and titanium alloys: an in vivo human study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2011; volume 26, number 1, pp. 101-107.
5. Daniels Ruth, Vanderleydem J, Michiels J. Quorum sensing and swarming migration in bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 2004 june; 28 (3): 261-89
6. Oliva X, Oliva J, Oliva JD. One year follow up of first consecutive 100 zirconia dental implants in humans: a comparison of two different rough surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22: 430-5
7. Piconi C, Rimondini L, Cerroni L. El Zirconio en los implantes dentales. *El zirconio en Odontología* ed. Amolca, 1º ed., 2011; cap. 5, pp. 136-55
8. Blatshe C, Voltz U. Soft and hard tissue response to zirconium dioxide dental implants-a clinical study in man. *Neuro Endocrin Lett* 2006; 27 (Suppl 1):69-72
9. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, et al. 2006. Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res* 17: 25-37.
10. Kumar PS, Mason MR, Brooker MR, O'Brien K. (2012) Pyrosequencing reveals unique microbial signatures associated with healthy and failing dental implants. *J Clin Periodontol*. May; 39(5): 425-433.
11. Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent Jr. RL. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25: 134-144.
12. Vidal Fernández Eva. Formación de biofilms bacterianos sobre distintas superficies de implantes dentales. Tesis de Maestría de Ciencias Odontológicas. Universidad Complutense de Madrid. Junio 2013, pp.
13. Furst MM, Salvi GE, Lang NP, et al. (2007). Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res* 18:501-508.
14. Lee A. y Wang H-L. (2010). Biofilm Related to Dental Implants. *Implant Dentistry*; volume 19, number 5: 18-21
15. Rimondini L, Cerroni L, Carrassi A, Torricelli P. (2002) Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: an in vitro and in vivo study. *Int.J Oral Maxillofac Implants* 17: 793-8.
16. Mombelli A. y Décaillet F. (2011). The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol* 38 (Suppl. 11): 203- 213
17. Nyvad, B., y M. Kilian. (1987). Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand. J Dent Res* 95:369-380.