



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS  
CLÍNICAS VETERINARIAS**

Facultade de Veterinaria  
Campus de Lugo  
E-27002 Lugo (Spain)  
Telf. 982 285 900, ext. 22741  
Correo electrónico: ccvsec@lugo.usc.es

## **EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE UN IMPLANTE DENTAL (IPX Nanoblast plus<sup>®</sup>)**

**Documento realizado por el Grupo de Investigación 1708  
(Cirurxía, radioloxía e ecografía experimental veterinaria) de la  
Universidad de Santiago de Compostela para Galimplant, S.L.U.**

7 de Mayo de 2015.

# **1. OBJETIVO**

Evaluación biológica de las muestras de un implante dental en base a la norma UNE-EN ISO 10993: 2007 (Evaluación biológica de los productos sanitarios) parte 6 (Ensayos relativos a los efectos locales después de la implantación).

## **2. MATERIALES Y METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

### **2.1. Implantes.**

#### **2.1.1. Descripción del material a ensayar (composición del producto).**

El implante a objeto a evaluación está fabricado de titanio grado 4 conforme a la norma ISO-5832-3:1999. El fabricante del implante es Galimplant S.L.U., Sarria, Lugo (España).

#### **2.1.2. Método de fabricación.**

El fabricante parte de una varillas de 4 mm de diámetro de titanio grado 4 que mecaniza hasta obtener la forma y tamaño deseados.

#### **2.1.3. Tipo de superficie.**

Una vez mecanizado, la superficie del implante se trata mediante un chorreado de óxido de aluminio de distinta granulometría y un triple grabado ácido posterior. esta superficie recibe el nombre de Nanoblast plus®.

#### **2.1.4. Forma y tamaño de los implantes.**

Es un implante dental autorroscante (Surgimplant®) de conexión interna hexagonal con cono morse, con un diámetro de plataforma de 3,5 mm, un diámetro del implante de 3,5 mm y una longitud de 10 mm. Referencia: IPX 3510; N° de lote: 201409056.

### **2.1.5. Procedimiento de preparación de la superficie.**

Se realiza un tratamiento superficial a base de un chorreado de óxido de aluminio de distinta granulometría y un triple grabado ácido posterior.

### **2.1.6. Limpieza, manipulación y esterilización utilizadas.**

Tras su fabricación se introducen en cubas ultrasónicas para eliminar impurezas del chorreado y posteriormente se someten a un proceso triple de ataque ácido con tres ácidos fuertes distintos; este procedimiento elimina toda contaminación inorgánica. A continuación, se introducen en un plasma frío con el fin de eliminar toda materia orgánica existente en la superficie del implante. Los tres procesos anteriores se realizan en salas con ambiente controlado absoluto. Finalmente, se procede al envasado en cabinas de flujo laminar y se esterilizan mediante radiación gamma. a una dosis de 25 KGy.

### **2.1.7. Descripción del material de control.**

El implante de control está fabricado en titanio grado 4 conforme a la norma ISO-5832-2:1999. Es un implante dental autorroscante del modelo Bone Level de superficie SLA<sup>®</sup>, con un diámetro de plataforma de 4,1 mm, un diámetro del implante de 4,1 mm y una longitud de 10 mm. Referencia: 043.032S; N° de lote: AK508. El fabricante del implante es Straumann AG, Basilea, Suiza.

### **2.1.8. Motivo de selección del material de control.**

El control utilizado es de un fabricante que se considera referencia en implantología a nivel mundial. La composición, forma y tamaño son muy similares a los utilizados en el material de ensayo.

## **2.2. Animales e implantación.**

**2.2.1. Origen:** Los animales utilizados fueron suministrados por Granja cunícola San Bernardo, S.L., Tulebras, Navarra. Esta granja está calificada como centro suministrador de animales de laboratorio.

**2.2.2. Edad:** entre 18 y 21 semanas al inicio de la cuarentena. Aproximadamente 6 meses al inicio del procedimiento de implantación.

**2.2.3. Sexo:** Machos.

**2.2.4. Raza:** Conejo Blanco de Nueva Zelanda.

**2.2.5. Condiciones de alojamiento, dieta y peso.**

Los animales fueron alojados en jaulas individuales en un sala del animalario experimental de la Facultad de Veterinaria de Lugo (Código de centro: LU-27002-AE) en condiciones de temperatura (15-21° C), humedad, ventilación y fotoperiodo controlados según anexo II de la directiva 86/609/CEE. El periodo de cuarentena se estipuló en 21 días, cumpliendo los requisitos normativos del animalario. Los animales fueron alimentados con pienso seco preparado en forma de pellets, esterilizado y especialmente fabricado para la alimentación de animales de laboratorio. Su peso al llegar era entre 3,7 y 4 Kg. El responsable de bienestar animal del centro, así como el personal del establecimiento y los investigadores velaron por la salud de los animales durante todo el experimento.

**2.2.6. Muertes inesperadas.**

Cinco días después de la intervención quirúrgica durante la administración de medicamentos, el animal codificado como número 2 sufre un episodio de paresia del tercio posterior, del que no se recupera aún administrándole medicación específica. Tres días después fallece. Debido a esto se le excluye del análisis histomorfométrico y semicuantitativo.

**2.2.7. Procedimiento de implantación.**

Una vez transcurrido el periodo de cuarentena los animales fueron preparados para el experimento mediante tranquilización (medetomidina y ketamina, vía intramuscular) e inducción anestésica con mascarilla de isoflurano al 5% hasta alcanzar efecto. El mantenimiento de la anestesia se realizó con mascarilla de isoflurano al 2%.

El campo quirúrgico fue depilado mediante el empleo de una maquinilla eléctrica y desinfectado con una solución de povidona iodada y alcohol. El campo fue protegido utilizando paños de campo estériles y un paño fenestrado adherido a la piel en el lugar de incisión de la piel.

El abordaje fue un abordaje lateral distal del fémur, incidiendo lateralmente la piel y el tejido subcutáneo para posteriormente disecar la musculatura y exponer mediante un elevador del periostio la superficie lateral del cóndilo femoral lateral. Llegados aquí se procedió al fresado del hueso a baja velocidad según indicación del fabricante del implante control y objeto del estudio con el empleo de un motor modelo intrasurg 300 de la marca Kavo. Una vez colocado el implante, en sentido lateromedial, se procedió a la sutura de la herida mediante el empleo de vicryl 3-0 en planos profundos y nylon 3-0 para la piel.

Tras el cierre de la herida volvimos a aplicar povidona iodada sobre la herida y esperamos la recuperación anestésica para reintegrarlos a su alojamiento, donde continuaron durante todo el periodo experimental.

Postoperatoriamente el dolor fue controlado con buprenorfina (0,01-0,03 mg/kg/i.m./BID) durante 3 días y meloxicam (0,2 mg/kg/i.m.) durante 5 días. Como profilaxis antibiótica utilizamos enrofloxacin (5 mg/kg/12 horas, pasando a 100mg/litro de agua del bebedero durante 3 semanas).

#### **2.2.8. Número de implantes colocados por animal, lugar y periodo de observación.**

En todos los animales se colocó un implante en cada fémur distal. En total se colocaron 20 implantes en 10 animales, dos implantes por animal. Para evitar errores por el lado de implantación fueron colocados 5 implantes en fémures izquierdos y 5 en derechos de cada uno de los tipos. El periodo de ensayo utilizado fue de 12 semanas.

### **2.3. Recuperación y procedimiento histológico.**

#### **2.3.1. Técnica de recuperación.**

Tras el periodo de ensayo se procedió al sacrificio de los animales mediante el uso de una sobredosis de barbitúricos por vía intravenosa. Posteriormente se

recuperaron los fémures distales mediante disección y el empleo de una sierra de huesos. Los especímenes fueron sumergidos en una solución de formol tamponado al 10% durante un mínimo de 2 semanas hasta el momento de su procesado. Para su identificación utilizamos un código compuesto por un número y una letra. El número indicaba el animal (1 al 10) y la letra si era la extremidad derecha o izquierda (R ó L).

### **2.3.2. Número de implantes recuperados por animal.**

Se recuperaron la totalidad de los implantes.

### **2.3.3. Descripción de la técnica histológica.**

Tras el tallado de las muestras a fragmentos más pequeños, se procedió a la deshidratación de las muestras en concentraciones crecientes de etanol (80, 96, 100 y 100) en pasos de 3 días. La inclusión se realizó en un agitador de vaivén utilizando una resina en base de glicolmetacrilato y fotopolimerizable a concentraciones crecientes en solución alcohólica y pasos de 3 días. La polimerización tuvo lugar mediante el empleo de luz azul de alta intensidad con equipamiento específico. Los bloques obtenidos se prepararon para su sección y desbaste mediante maquinaria del sistema Exakt (Exakt Aparatbau GMBH, Hamburgo, Alemania). Una vez obtenidas las láminas delgadas fueron teñidas mediante tinción de Levai Laczko.

Las muestras obtenidas fueron fotografiadas digitalmente a distintos aumentos utilizando estéreo microscopio y microscopio óptico. Posteriormente fueron analizadas y medidas las imágenes utilizando programas de análisis de imagen (Image Pro Premier, Media Cybernetics, USA; CellSens, Olympus, Japan) con un observador que no conocía qué implante estaba analizando.

### 3. EVALUACIÓN

En la siguiente tabla se indican las posiciones de los implantes según tipo, animal y extremidad.

Animal / Lado	Derecho (R)	Izquierdo (L)
1	Control	Ensayo
2	Control	Ensayo
3	Control	Ensayo
4	Ensayo	Control
5	Control	Ensayo
6	Ensayo	Control
7	Ensayo	Control
8	Ensayo	Control
9	Ensayo	Control
10	Ensayo	Control

#### 3.1. Evaluación macroscópica.

Macroscópicamente la mayoría de los especímenes presentaban una anatomía normal. En dos de las extremidades se observaron discretos signos de artritis (4L y 8R) con alteraciones degenerativas del cartílago articular. Histológicamente estos signos no se manifestaban en alteraciones óseas.

#### 3.2. Evaluación histológica.

La evaluación histológica fue realizada por técnicas de evaluación semicuantitativa según anexo E, tabla E.3 de la norma ISO 10993-6:2007. En dicha evaluación se cuantifican las distintas células inflamatorias, así como la presencia de neovascularización, fibrosis e infiltrado adiposo. La tabla siguiente muestra los resultados más significativos.

	Muestra de ensayo										Muestra de control									
	1L	3L	4R	5L	6R	7R	8R	9R	10R	1R	3R	4L	5R	6L	7L	8L	9L	10L		
Número del animal:	1L	3L	4R	5L	6R	7R	8R	9R	10R	1R	3R	4L	5R	6L	7L	8L	9L	10L		
Infiamación polimorfonuclear	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Linfocitos	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
Células plasmáticas	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
Macrófagos	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0		
Células gigantes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
<b>SUB-TOTAL (x2)</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>		
Neovascularización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Fibrosis	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1		
Infiltrado adiposo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
<b>SUB-TOTAL</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>		
<b>TOTAL</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>		
<b>TOTAL DEL GRUPO</b>	<b>12 / 9 = 1.33</b>										<b>15 / 9 = 1.66</b>									
<b>PROMEDIO<sup>a</sup></b>	<b>ENSAYO (-) CONTROL = 1.33 - 1.66 = -0.33 (0)</b>																			
Necrosis traumática	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Detritus extraños	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Nº de sitios examinados	Todo el contorno del implante.																			

<sup>a</sup> Se utiliza para determinar la valoración irritante mostrada a continuación como la conclusión. Una diferencia negativa se registra como cero.

Con los datos aquí reflejados tenemos que llegar a la conclusión de que, en las condiciones de nuestro estudio, la muestra de ensayo se considera como “no irritante”.

#### **3.2.1. Distancia de la interfase implante-tejido a las zonas no afectadas.**

Se observa tejido óseo normal en contacto con ambos tipos de implantes. Si en algún caso no se observa contacto es debido a un artefacto en la deshidratación durante el proceso de inclusión. En los implantes 1L, 3L y 4R se observa una discreta fenestración apical producida durante la colocación de los implantes. No obstante, la herida producida en la cortical fue reparada sin complicaciones observables.

En los implantes control números 3R, 6L, 7L y 8L se observa, en algunos lugares cercanos a la rosca, la presencia de fragmentos de hueso producidos durante la colocación de los implantes y que aún no se han remodelado en su totalidad. Sin embargo estos no afectan a la integración del implante y suponemos que serían reemplazados por hueso neoformado si se hubiera mantenido el estudio durante más tiempo.

#### **3.2.2. Extensión de la fibrosis y de la inflamación.**

La inflamación y fibrosis no se considera significativa ni incompatible con la osteointegración de ambos implantes.

#### **3.2.3. Cambios en la morfología del tejido.**

No se observan cambios fuera de la normalidad.

#### **3.2.4. Número de células inflamatorias (polimorfonucleares, linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos, macrófagos y células multinucleadas.**

Ver tabla de análisis semicuantitativo.

#### **3.2.5. Presencia de necrosis.**

No se observa en ninguno de los grupos.

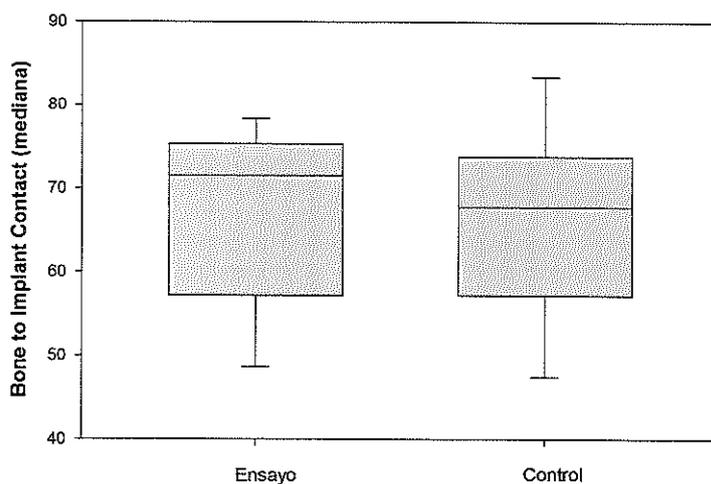
#### **3.2.6. Residuos de material, infiltraciones adiposas, granuloma.**

No se observa en ninguno de los grupos.

### 3.2.7. Área de contacto con el hueso, si existiera.

Se midió utilizando imágenes de todo el contorno de los implantes a 40 aumentos, considerando el porcentaje de contacto con el hueso ó BIC como el porcentaje de superficie del implante que tenía contacto directo con el hueso en relación a la superficie total del implante en su porción endósea. Los resultados se expresan en la siguiente tabla:

Animal	Ensayo	Control
1	53,59	47,42
3	77,12	73,12
4	78,37	69,53
5	71,53	55,78
6	73,54	74,55
7	63,65	67,79
8	71,92	83,46
9	60,77	58,61
10	48,68	67,59
<b>Media + SD</b>	<b>66,57 ± 10,51</b>	<b>66,43 ± 10,89</b>



Para observar si las diferencias entre ambos eran significativas se procedió a realizar una t de student con muestras pareadas y no, obteniendo como resultado que no había diferencias entre los dos tipos de implantes.

## **4. Evaluación final.**

### **4.1. Comparación de la respuesta entre las muestras ensayo y control.**

Los dos tipos de implantes consiguen osteointegrarse de forma satisfactoria. Las diferencias en la evaluación semicuantitativa indican que los tejidos responden de forma adecuada a la implantación, sin signos de inflamación ni necrosis en ninguno de los casos.

### **4.2. Descripción de la respuesta biológica.**

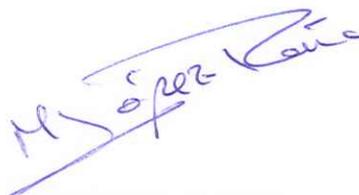
Los implantes objeto de estudio se integran en el tejido óseo correctamente, obteniendo unos porcentajes de contacto óseo semejantes a los implantes control. El proceso de cicatrización ósea es el habitual alrededor de implantes endóseos. No se observan reacciones inflamatorias de cuerpo extraño ni se observan detritos extraños ni fibrosis en el tejido que rodea a los implantes.

### **4.3. Conclusión.**

En las condiciones de este estudio la muestra de ensayo tiene una respuesta biológica adecuada y hemos de considerarla como biocompatible.



Antonio González Cantalapiedra  
Profesor Titular de Universidad



Mónica López Peña  
Profesora Titular de Universidad

Lugo, 7 de Mayo de 2015

**Anexo: Comunicación de autorización del procedimiento**



XUNTA DE GALICIA  
DELEGACIÓN TERRITORIAL  
DE LUGO  
Xefatura Territorial da Consellería  
do Medio Rural e do Mar

Ronda da Muralla, 70  
LUGO

galicia

MR110250

Julio A. Seijas Vázquez  
Coordinador da RIAIDT do Campus de Lugo  
Edificio Cactus, Campus de Lugo  
27002 Lugo

**Asunto: Comunicación de autorización de proxecto.**

Remítolle Resolución de autorización do proxecto "Evaluación de implantes dentais segundo norma UNE-EN ISO 10993-6" do que é responsable o investigador D. Fernando María Muñoz Guzón e que se vai a realizar no centro usuario de experimentación animal da RIAIDT da USC, Campus de Lugo (AE-LU-002).

Lugo, 2 de xullo de 2014.

O xefe do servizo provincial de ~~Gandería~~

PA

Belén Ferrero Rodríguez





## RESOLUCIÓN DE AUTORIZACIÓN DE PROXECTOS DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

Expediente núm.:008/14

Interesado:Fernando María Muñoz Guzón

Procedemento: RESOLUCIÓN DE AUTORIZACIÓN DE PROXECTOS DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

Data de inicio: 1 de setembro de 2014

Forma de inicio: solicitude do interesado

### ANTECEDENTES

O interesado, como responsable do proxecto **Evaluación de implantes dentais segundo norma UNE-EN ISO 10993-6**, presentou con data 19 de xuño de 2014 e rexistro de entrada 72151/RX 660954 de 19 de xuño de 2014, solicitude para a realización do proxecto de experimentación animal cuxos datos detállanse a continuación

Denominación do proxecto: **Evaluación de implantes dentais segundo norma UNE-EN ISO 10993-6.**

Nome do centro usuario: Animalario da RIAIDT da USC, Campus de Lugo (AE-LU-002).

Persoa responsable do proxecto: Fernando María Muñoz Guzón

Establecemento onde se realizarán os procedementos do proxecto (ou lugar xeográfico no caso de traballos de campo): Animalario da RAIDDT da USC, Campus de Lugo (AE-LU-002).

Clasificación do proxecto : **X**Tipo I  Tipo II  Tipo III

### CONSIDERACIÓNS LEGAIS E TÉCNICAS

- O Real decreto 53/2013, de 1 de febreiro (B.O.E. nº 34, do 8 de febreiro), polo que se establecen as normas básicas aplicables para a protección dos animais utilizados en experimentación e outros fins científicos, incluíndo a docencia, establece no seu artigo 33 as condicións de autorizacións dos proxectos con animais de experimentación.
- O artigo 89 da Lei 30/1992, de 26 de novembro, do réxime xurídico das Administracións Públicas e do procedemento administrativo común (B.O.E. núm. 285, 27 de novembro de 1992), modificada pola Lei 4/1999, de 14 de xaneiro, establece que a resolución que poña fin o procedemento decidirá todas as cuestións expostas polos interesados e aquelas outras derivadas do mesmo.





9. Esta xefatura territorial é competente para ditar resolución de conformidade co artigo 11 do Decreto 245/2009 de 3/ de abril, polo que se regulan as delegacións territoriais da Xunta de Galicia e o Decreto 46/2012, de 19 de xaneiro, polo que establece a estrutura orgánica da Consellería do Medio Rural e do Mar e do Fondo Galego de Garantía Agraria.

Revisada por parte do Servizo Provincial de Gandería de Lugo a documentación achegada na solicitude e o resultado **favorable** da avaliación do proxecto, realizada polo órgano habilitado Sección de Experimentación animal do Comité de Bioética da Universidade de Santiago de Compostela, este Departamento Territorial **RESOLVE**,

- AUTORIZAR o proxecto solicitado

A autorización deste proxecto terá unha **duración de 5 ANOS**, transcorridos os cales, deberá renovar a autorización do mesmo.

A autorización é unicamente válida nas condicións que figuran no expediente. Ante calquera cambio significativo no proxecto que poida ter efectos negativos sobre o benestar dos animais, deberá solicitar a confirmación da autorización ao Servizo Provincial de Gandería.

Esta autorización poderá ser suspendida no caso de que o proxecto non se leve a cabo de acordo coas condicións de autorización e retirala previo expediente tramitado ao que se lle dará audiencia.

Contra a presente resolución, que non pon fin á vía administrativa, poderá interpor **recurso de alzada** ante o conselleiro de Medio Rural da Xunta de Galicia no prazo **dun mes** contado a partir da recepción da notificación da presente resolución, conforme coa Lei 30/1992, do 26 de novembro, (B.O.E. núm. 285, 27 de novembro de 1992), de Réxime Xurídico das Administracións Públicas e do Procedemento Administrativo Común na súa redacción dada pola Lei 4/1999, do 13 de xaneiro.

Lugo, a 2 de xullo de 2014



Chefe do Departamento Territorial de Medio Rural e do Mar de Lugo

Asno.: José Ramón Losada Fernández

