



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
INSTITUTO SUPERIOR DE INVESTIGACIÓN Y
POSTGRADO
ESPECIALIDAD DE IMPLANTOLOGÍA ORAL**

**COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE *Staphylococcus
epidermidis* EN LA INTERFASE IMPLANTE–PILAR, EN
DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES**

Autor: Morales Andrade Pedro Alexis

Tutor: Dr. David Alejandro García López

Quito, Octubre 2017



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
INSTITUTO SUPERIOR DE INVESTIGACIÓN Y
POSTGRADO
ESPECIALIDAD DE IMPLANTOLOGÍA ORAL

COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE *Staphylococcus*
***epidermidis* EN LA INTERFASE IMPLANTE–PILAR, EN**
DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES

Proyecto de investigación presentado como requisito previo a la obtención del
título de Implantólogo oral

Autor: Morales Andrade Pedro Alexis

Tutor: Dr. David Alejandro García López

Quito, Octubre 2017

DERECHOS DE AUTOR

Yo, Pedro Alexis Morales Andrade, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE *Staphylococcus epidermidis* EN LA INTERFASE IMPLANTE-PILAR, EN DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES, modalidad Proyecto de Investigación, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, concedo a favor de la Universidad Central del Ecuador una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Central del Ecuador para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de titulación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

La autora declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Firma:  _____

Pedro Alexis Morales Andrade

C.C. 1711720274

Dirección electrónica: pedro_alexis1@hotmail.com

APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Dr. David García, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación, elaborado por **PEDRO ALEXIS MORALES ANDRADE**, cuyo título es: **COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE *Staphylococcus epidermidis* EN LA INTERFASE IMPLANTE–PILAR, EN DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES**, previo a la obtención del Grado de Especialista en Implología Oral: considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios en el campo metodológico y epistemológico, para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal examinador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación determinado por la Universidad Central del Ecuador.

En la ciudad de Quito, a los 10 días del mes de Octubre del 2017.


.....
TUTOR: DAVID GARCIA LOPEZ
DR(A)
CI: 1802558625

APROBACIÓN DE LA PRESENTACIÓN ORAL/TRIBUNAL

El Tribunal constituido por: (Presidente del tribunal), (Vocal de tribunal), Dra. (Vocal del tribunal). Luego de receiptar la presentación oral del trabajo de titulación previo a la obtención del título (o grado académico) de Especialista en Implantología Oral presentado por el señor Pedro Alexis Morales Andrade. Con el título: COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE *Staphylococcus epidermidis* EN LA INTERFASE IMPLANTE – PILAR, EN DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES.

Emite el siguiente veredicto: 9,40

Fecha: 28 Noviembre 2017.

Para constancia de lo actuado firman:

	Nombre y Apellido	Calificación
Presidente	Dr. Juan Benenaula	9
Vocal 1	Dr. Alejandro Farfán	9,60
Vocal 2	Dra. Frecia Morales	9,60

Firma



The block contains three handwritten signatures in blue ink, each corresponding to a member of the tribunal listed in the table. The signatures are written over horizontal dotted lines.

DEDICATORIA

Este proyecto está dedicado a las personas que más me han influenciado en mi vida, dándome los mejores consejos, guiándome y haciéndome una persona de bien, con todo mi amor y afecto se los dedico a mi familia: Wilma, Galo, Galito, Jason y Paula.

Pedro.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por permitirme tener y disfrutar a mi familia y amigos, gracias a mi familia por apoyarme en cada decisión y proyecto por permitirme cumplir con excelencia en el desarrollo de esta tesis, gracias a la vida porque cada día me demuestra lo hermosa que es y lo justa que puede llegar a ser. Gracias por creer en mí.

No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa bondad y apoyo, lo complicado de lograr esta meta se notado menos. Les agradezco y hago presente mi gran afecto hacia ustedes, mi hermosa familia.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DERECHOS DE AUTOR	ii
APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
APROBACIÓN DE LA PRESENTACIÓN ORAL/TRIBUNAL.....	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vii
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE GRÁFICOS	xii
LISTA DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema	2
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
1.3. Justificación.....	4
1.4. Hipótesis.....	4
1.4.1. Hipótesis alternativa.....	5
1.4.2. Hipótesis nula.....	5
CAPÍTULO II.....	6
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Partes del implante	6

2.2.	Tipos de conexiones	6
2.3.	Tipos de pilares	7
2.4.	Interfases en los sistemas de implantes	8
2.5.	La interfase implante-pilar	8
2.6.	Colonización por microorganismos.....	10
2.6.1.	Staphylococcus epidermidis.....	11
2.6.1.1.	Características principales del Staphylococcus epidermidis ...	12
2.6.1.2.	Factores de virulencia	12
CAPÍTULO III.....		14
3.	DISEÑO METODOLÓGICO	14
3.1.	Diseño del estudio	14
3.2.	Sujetos y tamaño de la muestra	14
3.3.	Criterios de inclusión y exclusión	15
3.3.1.	Criterios de inclusión	15
3.3.2.	Criterios de exclusión.....	15
3.4.	Operacionalización de variables.....	16
3.5.	Estandarización	17
3.6.	Técnicas e instrumentos de investigación	17
3.6.1.	Medición de variables y procedimientos	29
3.7.	Aspectos bioéticos	30
CAPÍTULO IV.....		31
4.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	31
4.1.	Resultados	31
4.2.	Discusión	34
CAPÍTULO V		36
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	36

5.1. Conclusiones	36
5.2. Recomendaciones	37
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXOS	42

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Resultados de la presencia del de Staphylococcus epidermidis en la interfase implante–pilar de las diferentes marcas	31
Tabla 2 Resultados descriptivos del T-Student.....	32
Tabla 3 Prueba de T-Student.....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Cepa de Staphylococcus Epidermidis, medio Stuart.....	18
Figura 2 Inoculación en agar sangre	19
Figura 3 Cepa inoculadas	19
Figura 4 Toma de muestra para observación de características de Spp. Epidermidis	20
Figura 5 Prueba de Catalasa.....	20
Figura 6 Peróxido de hidrogeno, observando desprendimiento de burbujas de gas	21
Figura 7 Staphylococcus epidermidis sembrado	22
Figura 8 Implantes B.....	22
Figura 9 Implantes A.....	23
Figura 10 Apertura de Implante B	23
Figura 11 Apertura de Ucla B	23
Figura 12 Apertura de tornillo de indexación B.....	24
Figura 13 Torquimetro con llave universal de 1.2	24
Figura 14 Torque en la interfase implante pilar	24
Figura 15 Interfase Implante pilar.....	25
Figura 16 Interfase implante pilar “A”.....	25
Figura 17 Interfase implante pilar A y B	25
Figura 18 Se sumerge la interfase implante pilar en el tioglicolato.....	26
Figura 19 Interfase implante pilar en tioglicolato	26
Figura 20 Incubación del tioglioclato por 48 horas	26
Figura 21 Interfase implante pilar inoculado	27
Figura 22 Retiro de ucla.....	27
Figura 23 Toma de muestra del sector interno del ucla	27
Figura 24 Incubación de las muestras obtenidas de la interfase implante pilar de A y B.....	28
Figura 25 Cultivo de la interfase implante pilar B.....	28
Figura 26 Cultivo de la interfase implante pilar A.....	28
Figura 27 Microscopia electrónica SEM implante B.....	29
Figura 28 Microscopia electrónica SEM implante A	29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Comparación de la presencia del de Staphylococcus epidermidis en la interfase implante – pilar de las diferentes marcas	32
Gráfico 2 Media de las muestras	33

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado de realización del procedimiento experimental en el laboratorio clínico “Villa Lab”

Anexo 2. Certificado de resultados del laboratorio clínico “Villa Lab”

Anexo 3. Solicitud de envío de Cepas del Instituto Nacional de Investigación de Salud Pública INSPI Dr. Leopoldo Izquieta Pérez.

Anexo 4. Certificado de adquisición de insumos de laboratorio en “Netlab” laboratorio clínico con triple reconocimiento internacional.

Anexo 5. Certificado de contratación del microscopio electrónico de la Universidad De Las Fuerzas Armadas – Centro de Nanociencia y Nanotecnología.

Anexo 6. Acta de entrega de la metodología y resultados realizados en la Universidad De Las Fuerzas Armadas – Centro de Nanociencia y Nanotecnología.

Tema: Comparación de la cantidad de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar, en diferentes marcas de implantes.

Autor: Morales Andrade Pedro Alexis

Tutor: Dr. David Alejandro García López

RESUMEN

Objetivo: Determinar la cantidad de *Staphylococcus epidermidis* que se deposita en la interfase implante–pilar, en dos diferentes marcas de implantes. **Metodología:** Es un estudio experimental in vitro, donde se analizaron 20 implantes y 20 pilares rectos de conexión externa de dos diferentes casas comerciales (Conexao y Bionnovation) sumergidas en cajas Petri con agar sangre incubando por 72 horas y analizando el ADN de las colonias que se impregnan en la interfase del implante, evaluados a partir de una muestra de saliva que posteriormente fueron sumergidos en una cepa de patrón liofilizado de *Staphylococcus epidermidis* durante 72 horas y analizando que cantidad de este microorganismo ingresa en la interfase implante–pilar, midiéndose por unidades formadoras de colonias y con visualización a través de microscopía electrónica de barrido. **Resultados:** En la interfase implante–pilar de Bionnovation exhibe la menor presencia de *Staphylococcus epidermidis* entre un rango de 0-2000 UFC/ml, en cambio la interfase implante–pilar de Conexao presenta la mayor cantidad de microorganismo en un rango de 12000 – 19000 UFC/ml. Además, la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Bionnovation con un promedio de 800 UFC/ml, es menor que la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante – pilar de Conexao con 1.560 UFC/ml. **Conclusión:** Se determinó que la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Conexao es moderada y la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Bionnovation es leve. Además se comprobó estadísticamente que la adhesión, formación y cantidad de la *Staphylococcus epidermidis* es dependiente de las superficies que colonicen ($p < 0,05$).

PALABRAS CLAVES: IMPLANTES/OSEOINTEGRACIÓN/INTERFASE IMPLANTE-PILAR/BACTERIAS/ *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Topic: Comparison of the amount of Staphylococcus epidermidis in the implant - abutment interphase in different implant brands.

Author: Morales Andrade Pedro Alexis

Tutor: Dr. David Alejandro García López

ABSTRACT

Objective: to determine the amount of Staphylococcus epidermidis that settles in the abutment – implant interphase with two different implant brands. **Methodology:** it is an experimental study In-vitro. There were analyzed 20 implants and 20 straight abutments of external connection from two different brands (Conexao y Bionnovation), submerged in blood agar for incubation during 72 hours. It was also analyzed the DNA of the colonies that settle in the implant, evaluated from a sample of saliva, which were later submerged in a strain of the lyophilized Staphylococcus epidermidis for 72 hours; and the amount of such microorganism that enters the implant-abutment interphase, measuring the units that form colonies through an electronic microscope. **Results:** the implant-abutment interphase made with Bionnovation shows a smaller amount of Staphylococcus epidermidis, ranging from 0-200 UFC/ml. on the other hand, with the interphase made with Conexao the amount goes from 12000 – 19000 UFC/ml. Also, the presence of Staphylococcus epidermidis in the interphase implant-abutment with Bionnovation, with an average of 800 UFC/ml is smaller than the presence of Staphylococcus epidermidis in the interphase implant-abutment with Conexao, which average is 1,560 UFC/ml. **Conclusion:** it was determined that the presence of Staphylococcus epidermidis in the interphase implant-abutment with Conexao is moderate, whereas the presence of such microorganism with Bionnovation is mild. Also, it was statistically demonstrated that the settlement, formation and amount of Staphylococcus epidermidis depends on the surfaces these colonize ($p < 0,05$).

KEY WORDS: IMPLANTS / BONE INTEGRATION /INTERPHASE IMPLANT-ABUTMENT / STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El reemplazo de las piezas dentarias perdidas por estructuras análogas que se unen a los tejidos determina un gran progreso clínico en el campo de la odontología (1). Los implantes de uso dental se han empleado de manera exitosa alrededor de 45 años, los cuales se basan en un principio fundamental, la osteointegración, ésta se puede definir como el enlace directo tanto funcional como estructural entre dos elementos principales, la superficie del implante al que se lo somete a una carga funcional y el hueso ordenado y vivo; existiendo así también varios factores para que se produzca la misma con éxito, entre los que podemos citar: remodelación y reparación tisular, y la capacidad de cicatrización (2).

Por otro lado, la osteointegración por sí misma no determina el éxito en el tratamiento, por esto se ha llevado a cabo el perfeccionamiento de la elaboración de los implantes tanto a nivel mecánico como estético y por ende se perfeccionan también los procesos clínicos. (3).

Para poder alcanzar la estética y la salud de los tejidos que se encuentran alrededor del implante, es indispensable la unión entre los tejidos duros y blandos, los tejidos periimplantares blandos se los divide en epitelio queratinizado oral, el cual se continúa con el epitelio de unión, y el tejido de conjuntivo el cual contiene abundantes fibras colágenas. (3)

El tejido periimplantar blando antes mencionado es dependiente en su parte inferior de un andamiaje de tejido duro, el cual es el hueso, éste se remodela de forma permanente, en circunstancias normales, pero este equilibrio se puede ver afectado y conllevar a la pérdida del mismo alrededor del implante, determinada por varios factores, entre los cuales encontramos: la clase de implante utilizado, la presencia de la interfase implante-pilar, la existencia de microorganismos, si encontramos o no tejido queratinizado, la calidad de tejido blando alrededor del implante y la

técnica quirúrgica. Después de haber conseguido la osteointegración, la conexión protésica seleccionada va a ser quien determine la estabilidad del implante. (4)

La supervivencia del implante y la presencia de microorganismos en la interfase del implante y su pilar dentro del tratamiento de rehabilitación se verá alterado por la estabilidad que se logre en este aspecto. Una de las desventajas citadas al momento del uso de materiales conformados por titanio en la confección de elementos transmucosos es en aspecto estético ya que su color se puede apreciar a través de los tejidos blandos. (5)

1.1. Planteamiento del problema

Este estudio se basa en identificar y comparar por medio de microscopia electrónica y pruebas de laboratorio clínico la cantidad de *Staphylococcus epidermidis* que se deposita en la interfase Implante – pilar de diferentes casas comerciales. Teniendo en cuenta que dentro del país no existen estudios que comparen la susceptibilidad que tienen la interfase implante – pilar para que adhiera este microorganismo, ésta investigación busca comparar cuál de las diferentes casas de implantes más utilizadas en el posgrado de implantología oral de la Universidad Central del Ecuador es más propensa a colonizar este tipo de microorganismo en la interfase (pilar-implante), siendo esto imprescindible para evitar futuras complicaciones periimplantares.

La Peri-implantitis es la inflamación de los tejidos blandos alrededor de un implante caracterizada por la pérdida progresiva del tejido óseo de soporte. Se sugiere que la pérdida ósea asociada a peri-implantitis varía entre los sujetos y se caracteriza, en la mayoría de los casos, por una progresión no lineal, los criterios de éxito exigen un promedio de pérdida de hueso inferior a 1,5 mm durante el primer año de la inserción de la prótesis y posteriormente menos de 0,2 mm de pérdida ósea anual.

Tratar la enfermedad peri-implante, una vez que la pérdida ósea ya haya ocurrido es irreversible, y la falla del implante sigue siendo una consecuencia de la terapia.

Por lo tanto, es prudente para evitar la colonización bacteriana al tener un sello adecuado entre la interfaz implante-pilar (4).

Desde un punto de vista biológico el microgap entre el implante y el pilar pueden servir como reservorio para bacterias que inicia y perpetúa en una respuesta inflamatoria con el potencial de inducir una peri-implantitis y juegan un papel importante en el proceso de pérdida de hueso, además de producir los micromovimientos del implante (3).

La mayoría de los sistemas de implantes dentales se componen de dos partes principales: el pilar y cuerpo del implante. Estudios recientes indican que en la restauración de implantes dentales la presencia de microgaps entre el implante-pilar puede causar fugas microbianas o un almacenamiento de las mismas en esta interfase, pudiendo penetrar a través de un espacio tan pequeño como de 10 μm (4).

Por lo que se plantea el siguiente problema de investigación, ¿En cuál de las dos diferentes interfases de implantes se depositarán mayor o menor o igual cantidad de *Staphylococcus epidermidis*?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Determinar la cantidad de *Staphylococcus epidermidis* que se deposita en la interfase implante–pilar, en dos diferentes marcas de implantes.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Verificar la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Conexao.
2. Verificar la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Bionnovation.

3. Conocer en cual interfase implante–pilar se deposita mas *Staphylococcus epidermidis*.

1.3. Justificación

2. Los implantes presentan inevitablemente un micro gap entre el implante y el pilar. La filtración bacteriana a través de este micro-gap en la interfaz implante-pilar está bien probada ya que en estudios realizados se observa la colonización de la parte interna de la conexión. Estos espacios, una vez colonizados, pueden constituir un reservorio bacteriano. Posteriormente podría contaminar el entorno de un accesorio e interferir con la salud de los tejidos periimplantarios (3).
3. El interior de la conexión es un entorno con baja concentración de oxígeno y lejos de la respuesta defensiva inflamatoria de los tejidos peri-implantales, proporcionando así un entorno perfecto para el desarrollo de bacterias que pueden estar particularmente relacionadas con patología periimplantaria. (3)
4. El *Staphylococcus epidermidis* constituye uno de los microorganismos más destacables en la producción de patologías periimplantares, entre las cuales se encuentran la periimplantitis o mucositis, por eso se estima que el 12-22% de los pacientes implantados serán diagnosticados con peri-implantitis en un término corto de 5 años (6).
5. Existen un sin número de implantes dentales con sus respectivos pilares, cada uno fabricado de diferente manera, la poca higiene en ese sector es un ambiente adecuado para la proliferación de bacterias. (6)
6. Por ende, el presente estudio tiene como relevancia conocer en cuál de las dos marcas de implantes con sus respectivas interfases existe mayor acumulación de microorganismos y así evitar un porcentaje más elevado de una futura periimplantitis. Cabe destacar que no existe un estudio en el país comparando

la cantidad que se deposita de *Staphylococcus epidermidis* en la conexión implante pilar de las dos marcas de implantes. (3)

6.1. Hipótesis

6.1.1. Hipótesis alternativa

La adhesión, formación y cantidad de la *Staphylococcus epidermidis* es dependiente de las superficies que colonicen.

6.1.2. Hipótesis nula

La adhesión, formación y cantidad de la *Staphylococcus epidermidis* no es dependiente de las superficies que colonicen.

CAPÍTULO II

7. MARCO TEÓRICO

2.1. Partes del implante

El implantes está constituido por un cuerpo, el cual consta de tres componentes: el cuerpo, módulo crestal y ápice. La plataforma que compone al implante tiene la función de soportar al pilar y además resiste las cargas axiales, como dato adicional se menciona que esta posee un elemento anti rotacionales, el cual puede hallarse en la parte interna del cuerpo del implante (conexión interna) o encima de la misma (conexión externa). (7)

2.2. Tipos de conexiones

Dentro de las ventajas que se han presentado en la conexión hexagonal externa podemos citar: compatibilidad entre los distintos sistemas, acción anti rotacional y recuperabilidad (7) pero también se han demostrado varias desventajas entre las cuales tenemos: fractura o desajuste del tornillo de fijación, la existencia de micro movimientos los cuales se producen por una altura baja del hexágono, pobre resistencia a los movimientos laterales y rotación, y la existencia de un espacio en la interfase implante pilar mayor, lo que puede conllevar a la pérdida ósea (8). Varios estudios realizados han demostrado que entre un 30.7% y 49% en los implantes de conexión externa, los tornillos de fijación tienden a perderse (9). En cuanto a las conexiones de tipo internas, entre las cuales podemos encontrar octogonal, hexagonal, cónica y triangular, han demostrado una mejor adaptación entre conectores, dando como resultado una adecuada interposición entre el implante y el pilar protésico (10).

Por otra parte la conexión hexagonal interna presenta varias ventajas entre las cuales tenemos: se puede colocar adecuadamente el implante en una etapa, posee características anti rotacionales, estabilidad alta, posee una fácil conexión del pilar, es conveniente para restaurar un solo diente, distribuye de mejor manera las fuerzas

y resiste de forma adecuada las fuerzas de rotación; la conexión interna del tipo cónica se fundamenta en un principio muy importante, el cual es “cono en un cono” lo que condiciona una íntima unión entre el pilar y el implante. Entre las desventajas que presenta tenemos: se hace difícil ajustar las divergencias de los ángulos entre los accesorios ya que existe una pared lateral que se aprecia más delgada en la parte de la conexión (11).

Esta conexión se desarrolló por Stephen Ambrose Morse en el año de 1864, y se implementó en el área de implantología en el año 1985 en Estados Unidos por Thomas D. Driskell. La fricción del pilar y el implante va a condicionar la estabilidad y la fijación del pilar más no del tornillo de fijación (12). Se considera a una conexión Morse cuando la al sumar los ángulos internos de sus componentes nos da como resultado valores menores a 3.014° de divergencia, aparte no se usan tornillos de fijación. Aquellos implantes en los cuales los ángulos poseen valores mayores a 3.014° son considerados cónicos y usan un tornillo de fijación para proveer retención. Dentro de las ventajas de las conexiones cono Morse y cónica es que producen una adecuada distribución de las fuerzas lo que ayuda al posicionamiento de los pilares. (10)

2.3. Tipos de pilares

El elemento encargado de retener al componente protésico es el pilar, éste es el que produce la retención ya sea de una prótesis fija o de una removible. El mismo a su vez puede clasificarse dependiendo del mecanismo por el que sujeta al elemento protésico; entre los cuales tenemos cementado o atornillado, además, se puede subdividir en agulados o rectos, dependiendo de la relación que tengan con el eje axial del implante. (13)

Los pilares los podemos clasificar en:

- ◆ Tipo de elaboración:
 - Parcialmente calcinables o calcinables
 - Personalizados
 - Prefabricados en serie en zirconia o titanio. (2)

◆ Técnica de fabricación, los personalizados se pueden clasificar en:

- Con técnicas CAD/CAM, en alúmina, titanio y zirconia
- Fundidos de forma convencional
- Con titanio mediante láser
- Mediante refuerzo de grafito polimetacrilato o fibra de carbono (2)

Los pilares fabricados con diseño asistido por computadora/manufactura asistida por computadora (CAD/CAM) tienen ventajas destacables, entre las cuales tenemos:

- Material homogéneo para su elaboración puesto que su origen es de un bloque sólido
- Ha logrado producir angulaciones con el objetivo de corregir las posiciones que pueden llegar a ser desfavorables para los implantes.
- Adecuadas propiedades mecánicas
- Las imperfecciones son mínimas ya que no precisa de fundir la cera y ciertos pasos que pueden elevar el aspecto económico del proceso.
- Ayuda a perfeccionar el perfil emergencia de la restauración. (2)

2.4. Interfases en los sistemas de implantes

Cuando el implante-pilar es colocado, se va a producir la formación de distintas interfases, entre las cuales podemos citar:

- Implante-pilar
- Implante-tornillo de fijación
- Hueso-implante (2)

2.5. La interfase implante-pilar

Éstos determinan una cavidad que se produce en la unión del pilar y el implante, esta zona puede ser un reservorio de microorganismos que conllevarían a la inflamación de los tejidos que se encuentran alrededor de la interfase implante-pilar y por lo tanto, pueden producir la destrucción del tejido, también a nivel biomecánico, se han podido observar ciertos problemas, tales como el aflojamiento

del tornillo de fijación por micro movimientos. El desajuste o la falta de ajuste pasivo producido entre las partes pueden fracturar a los componentes de la prótesis, ya sea al implante o al tornillo de fijación, ya que se produce una distribución inadecuada de las fuerzas no axiales y por ende una sobrecarga al pilar. (13)

Existen tres factores principales descritos como los posibles causantes de micro espacios, entre los cuales se pueden citar:

- La producción de micro movimientos en la fase implante-pilar
- Tolerancia en la manufactura
- Movimientos fisiológicos durante la carga oclusal. (14)

Se han delimitado disímiles técnicas que van a ayudar a medir la interfase pilar-implante, entre las cuales tenemos: medir una sección transversal, utilización de un explorador mediante examen visual y visión directa. La última antes mencionada tiene como ventaja el no ser destructiva, por lo que nos permite divisar cambios en diferentes condiciones, pero en cierto ocasiones son subjetivas puesto que los extremos redondeados no nos permiten la receptibilidad para tomar las medidas. (14)

La visión en una sección transversal tiene como ventaja de ser más precisa y nos permite repetir las mediciones, pero no el seguimiento de la muestra en condiciones y tiempos distintos (15). Kano et al (15) en el 2007, plantea un sistema para la clasificación fundamentado en el microespacio horizontal y vertical que se produce en la interfase implante-pilar, así:

- (A) la desadaptación vertical se puede definir como el espacio vertical el cual es medido a partir del punto 0 en línea, mediante el punto más exterior del implante, sin contar el extremo redondo y la zona del pilar.
- (B) la desadaptación horizontal se puede definir como la discrepancia desde el punto 0 hasta el extremo exterior del pilar, cuando el pilar se aprecia más ancho que el implante, quiere decir que hay un contorno horizontal sobreextendido. (14)

La relación y la relación de tamaño de la interfase y la cantidad de bacterias que pueden colonizar, ha sido muy estudiada, ya que este aspecto tiene importancia clínica. (14)

2.6. Colonización por microorganismos

Luego de 30 minutos de finalizada la cirugía se produce la colonización de las bacterias, ésta contaminación se puede producir por:

- Microorganismos que se encuentran en el medio oral
- Contaminación que se haya producido en la primera o segunda fase de la cirugía. (16)

Los microorganismos y los productos de los mismos que se encuentran cerca de la cresta ósea, van a producir una respuesta por parte de los tejidos, lo que puede conllevar a una peri implantitis, dando como resultado una reabsorción del hueso, y en último caso, un fallo en el implante, en este aspecto, la distancia de la brecha en la interfase es de gran importancia, ya que su tamaño se mostrará como un ambiente adecuado para acumular microorganismo, aparte, existe una estrecha relación entre el aspecto biológico y el biomecánico (16). Ricomini et al (17) en el año 2010, en un estudio in vitro evaluaron la adhesión de bacterias y la pérdida de la pre carga en la interfase pilar-implante en implantes con conexión hexagonal externa e interna cónica, en proceso de fatiga mecánica y termociclado, en donde determinan que dichos sistemas presentan una pérdida de torque luego de ser sometidas a éstas condiciones; en cuanto a la colonización bacteriana, se determinó que el tornillo del pilar que se encuentra en la conexión externa no presentaba contaminación, en contraste con las conexiones cónicas que se presentan bacterias en el tornillo. (17)

Prudente et al (18) en el 2012, efectuaron un estudio de carácter in vitro el cual fue dividido en dos fases, la inicial radicó en la comparación de disímiles concentraciones de la bacteria y la segunda comparó la micro filtración de la bacteria, en función del torque que se empleó en el pilar, dando como resultado que la concentración más eficaz para la realización de los ensayos in vitro es de 0.5 ml, con el objetivo de no llevar a un sobre flujo bacteriano que pueda conllevar a un

falso positivo, aparte, determinaron que no existe una estrecha relación entre la concentración bacteriana y los valores de torque aplicados. (17)

Distintos autores han comparado la filtración de bacterias en diferentes sistemas de implantes, con varios tipos de conexiones, tanto en condiciones dinámicas como estáticas, con disímiles clases de pilares, sometidos a la acción de 17 distintos tipos de microorganismos como hongos y bacterias, inclusive con endotoxina y sustancias como rodamina b, evaluaron la filtración en dos sentidos, desde la parte externa del implante a la parte interna y viceversa. Jansen et al (19) en 1997, ejecutaron medidas del ajuste marginal en la interfase pilar-implante sometidas a condiciones estáticas, de trece diferentes sistemas con la ayuda de un microscopio de barrido, analizaron la filtración de bacterias desde la parte interna a la externa, dando como resultado que la brecha marginal obtuvo un resultado menor a 10µm, esto para todos los sistemas pre fabricados, el pilar Octa modificado obtuvo un resultado de el espacio de 12 µm y su media de 5µm (17).

Ningún sistema analizado evitó la fuga de bacterias. Calla et al (20) en el 2005, identificaron a las bacterias con la ayuda de sondas de ADN, de muestras que fueron obtenidas de 32 pacientes rehabilitados con implantes, determinando que la colonización de bacterias en el interior del implante se produce en los 25 días luego de la segunda fase de la cirugía y la implementación del pilar de cicatrización.

Fürst et al (21) et al en el año 2007, en un estudio con el objetivo de analizar la colonización temprana de los implantes a base de titanio después de su implementación y durante las 12 semanas iniciales posteriores al acto quirúrgico obteniendo como resultado que los microorganismos se adhieren luego de la colocación del implante (21).

2.6.1. Staphylococcus epidermidis

Dentro de las bacterias que se aíslan de manera más frecuente en los laboratorios de microbiológicos (1), son los estafilococos coagulasa-negativo, dentro de este grupo encontramos al *S. epidermidis*, el cual tiene como características principales ser novobiocina sensible y coagulasa negativo, se lo consideraba como un germen contaminante de cultivos, pero ahora se lo conoce como un importante patógeno el

cual va a producir varias enfermedades entre las cuales tenemos: endocarditis de la válvula nativa, infecciones de vías urinarias en los hospitales, bacteremia en pacientes que cuyo sistema inmunológico está suprimido, osteomielitis, infecciones en los dispositivos de uso médicos y cuerpos extraños como marcapasos, prótesis articulares, implantes, válvulas cardíacas protésicas, catéteres de diálisis peritoneal y endovenosos, injertos vasculares y fístulas para hemodiálisis) y endoftalmitis post cirugía ocular.(20)

2.6.1.1. Características principales del *Staphylococcus epidermidis*

- Muy resistente
- En un coco gram + que crece en colonias de 1,2 mm de diámetro aproximadamente.
- No hemolítico en agar sangre y no móvil. (20)

Se puede clasificar en tres grupos:

- Anaerobio facultativo: crece por fermentación o respiración aeróbica
- Coagulasa negativa
- Catalasa positiva (20)

Se considera positiva para producir ureasa, utiliza sacarosa, glucosa y lactosa para la formación de productos ácidos, las infecciones producidas por *S. epidermidis* son nosocomiales, oportunistas y está asociada en general a catéteres, cirugías en implantes de las prótesis. (7)

2.6.1.2. Factores de virulencia

La adherencia de la bacteria es eficaz siempre y cuando se produzca biofilm o exopolisacáridos (slime), por lo que se puede adherir a zonas como sondas, catéteres vasculares y prótesis, a propósito que este biofilm actúa como defensa ya que hace difícil el transporte de los antibióticos. (7)

El mecanismo por el cual la difusión de los antibióticos se dificulta es porque se crea una biopelícula multicapa la cual se forma por la adherencia de otras bacterias

gracias a sus cápsulas llamadas PIA (polisacárido de adhesión intercelular) la cual está compuesta de un polisacárido sulfatado. La formación de la biopelícula va a hacer que el metabolismo de las bacterias decaiga, esta disminución del metabolismo bacteriano junto con la alteración de la difusión de los medicamentos antibióticos va a dificultar a los mismos el combatir con eficiencia esta clase de infección. (7)

CAPÍTULO III

8. DISEÑO METODOLÓGICO

8.1. Diseño del estudio

Estudio experimental in vitro.

8.2. Sujetos y tamaño de la muestra

Conexión implante pilar de dos casas comerciales contaminadas con *Staphylococcus epidermidis*.

La muestra fue escogida bajo la referencia de Murillo S. Pita en el 2016 (31), la misma que evaluó 24 Implantes y 24 pilares rectos de conexión externa de dos diferentes casas comerciales (EH – bident y TI – Bioneck TRI Rp) sumergidas en cajas Petri con agar sangre incubando por 72 horas y analizando el ADN de las colonias que se impregnan en la interfase del implante, evaluado a partir de una muestra de saliva. En el presente estudio se evaluaron las dos casas comerciales más utilizadas en el posgrado de implantología oral de la Universidad Central del Ecuador (CONEXAO Y BIONNOVATION), la misma que estuvo conformada por 20 implantes y 20 pilares rectos de conexión morse, los cuales se sumergieron en una cepa de patrón liofilizado de “*Staphylococcus epidermidis*” durante 72 horas y se analizó que cantidad de este microorganismo ingresa en la interfase implante – pilar, midiéndose por unidades formadoras de colonias y con visualización a través de microscopia electrónica de barrido.

La investigación se realizó por muestreo no probabilístico por conveniencia de 20 implantes y 20 pilares rectos.

8.3. Criterios de inclusión y exclusión

8.3.1. Criterios de inclusión

- Cepa liofilizada de *Staphylococcus epidermidis* obtenida en El Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI Leopoldo Izquieta Pérez. ATCC 25175
- Implantes obtenidos en las casas comerciales Bionnovation y Conexión.
- Diámetro de 4 mm.
- Conexión morse indexado.
- Pilares obtenidos en las respectivas casas comerciales Bionnovation y Conexión, de cinta de 1,5 mm metálica (ucla), para conexión morse indexado.

8.3.2. Criterios de exclusión

- Contaminación del implante al momento de manipularlo
- Falta de torque en el tornillo de conexión implante pilar.
- Exceso de torque en el tornillo de conexión implante pilar.
- Contaminación en los aditamentos protésicos al momento de manipular.
- Al momento de retirar el aditamento protésico que se contamine la conexión implante pilar.
- Cinta de diferente medida que no sea 1,5 mm.
- Pilar para otro tipo de conexión que no sea morse indexado.

8.4. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	CLASIFICACIÓN	INDICADOR CATEGÓRICO	ESCALA DE MEDICIÓN
Interfase implante pilar de conexao	Espacio que queda entre la unión del aditamento protésico y el implante, conocido con las siglas IAJ correspondientes al término inglés implant-abutment junction (1).	Independiente	Cuantitativa ordinal	Leve Moderada Severa	< 10000 50000/65000 >100000
Interfase implante pilar de bionnovation	Parte de un implante que da soporte y retención una prótesis o a su subestructura (Misch.et al)	Independiente	Cuantitativa ordinal	Leve Moderada Severa	< 10000 50000/65000 >100000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Microorganismo aerobio caracterizado por ser nobiacina sensible y coagulasa negativo (1)	Dependiente	Cualitativa nominal	Presencia Ausencia	1 0

8.5. Estandarización

Para que el presente estudio tenga validez y confiabilidad fue necesario:

Se utilizó una cepa ATCC proporcionada por el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública Dr. Leopoldo Izquieta Pérez INSPL. El Laboratorio especializado “Villa Lab” y el clínico a cargo del Mgs. Byron Villacis Bioquímico Clínico con equipos e instrumentos del área analítica y de las instalaciones verificados según el Programa de Mantenimiento de Equipos e Infraestructura. (Anexo A)

Los medios de crecimiento, selectivos, transporte y pruebas bioquímicas fueron suministradas por el laboratorio clínico de referencia NETLAB Laboratorios Especializados, primer laboratorio ecuatoriano con triple reconocimiento internacional de calidad, mediante Certificación ISO 9001: 2008, ISO 151589. (Anexo B)

El Operador capacitado del Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales de la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), para preparación y conteo bacteriano por campo con SEM de la muestra previo a SEM.

El manejo de los implantes se realizó bajo normas de bioseguridad estandarizadas, en la unión implante pilar siendo manejados por un implantólogo capacitado.

8.6. Técnicas e instrumentos de investigación

Para esta investigación se trabajó con implantes adquiridos respectivamente en las casas comerciales con los aditamentos protésicos.

Los medios de crecimiento selectivo agar sangre, tioglicolato y pruebas bioquímicas manitol fueron suministrados por el laboratorio clínico Netlab. (Anexo B)

La cepa de *Staphylococcus epidermidis* fue suministrada por el Instituto Izquieta Pérez el cual fue trasladado en el medio Stuart.



Figura 1 Cepa de Staphylococcus Epidermidis, medio Stuart
Fuente y elaboración: Pedro Morales

La parte experimental se realizó en el laboratorio clínico “Villa Lab” de la ciudad de Quito. La calidad de las cepas y el medio de cultivo se mantuvieron en refrigeración entre 2 a 8° C. para que los resultados fuesen confiables inmediatamente luego de la recepción (4). (Anexo A)

Se sacó de refrigeración y se esperó un tiempo para que se ambientará la cepa y el agar. Se procedió a realizar una siembra del medio Stuart al agar selectivo, siguiendo un proceso de estriado, en seguida se llevó a la incubadora “globe” 37° C el cual estaba controlado por medidores de temperatura calibrados por 24 a 72 horas (16).

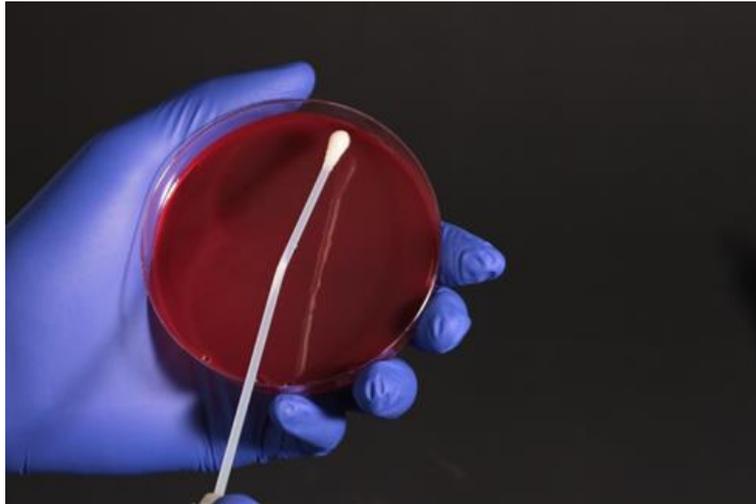


Figura 2 Inoculación en agar sangre
Fuente y elaboración: Pedro Morales

Posterior a la incubación se observó las características morfológicas macroscópicas obtenidas en el agar sangre, características que coincidían con el género de *Staphylococcus* que es un microorganismo muy resistente, representado por cocos Gram positivos no móviles que crecen en colonias de aproximadamente 1,2 milímetros de diámetro (4).

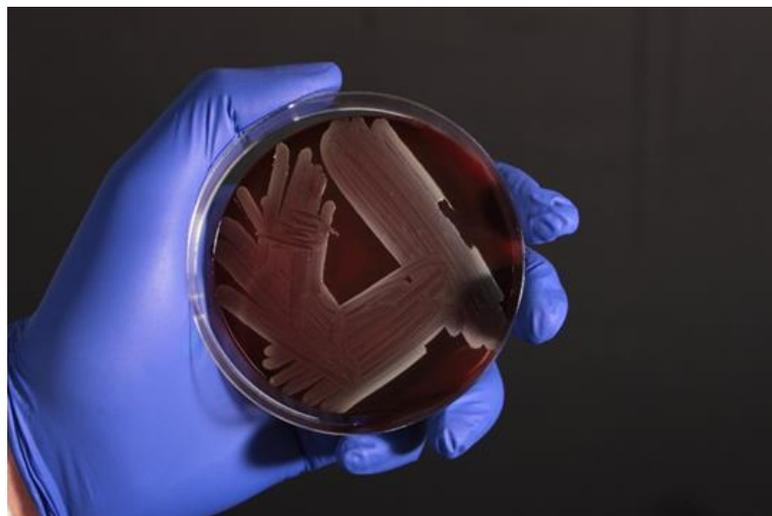


Figura 3 Cepa inoculadas
Fuente y elaboración: Pedro Morales

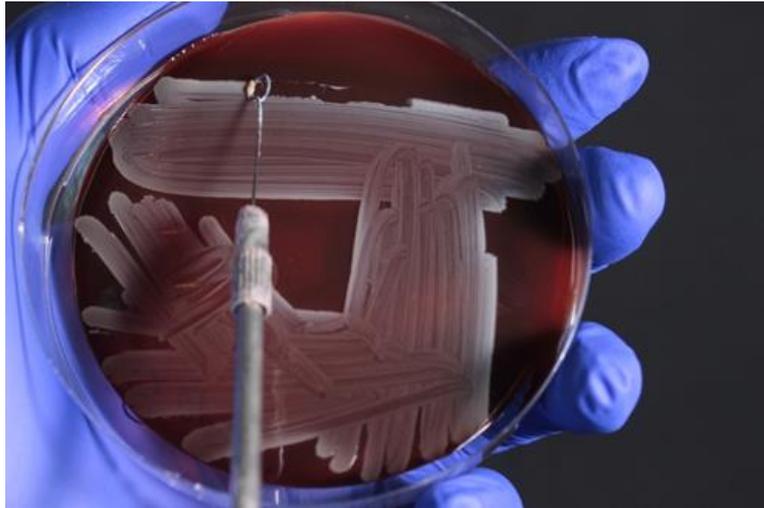


Figura 4 Toma de muestra para observación de características de Spp. Epidermidis
Fuente y elaboración: Pedro Morales

Se realizó una tinción gram en la cual se esperó visualizar cocos gram positivos dispuestos en racimos para asegurarnos estar trabajando con el género *Staphylococcus*, se realizó la prueba de catalasa la cual consiste en tomar una colonia en mención, llevarla a un cubre objeto y colocarle peróxido de hidrogeno, observando desprendimiento de burbujas de gas, indicando un resultado de catalasa positivo, al realizar la prueba de coagulasa, es decir, homogenizar una colonia de bacterias más plasma no se visualiza la formación de coagulo indicativo de prueba de coagulasa negativo (22).

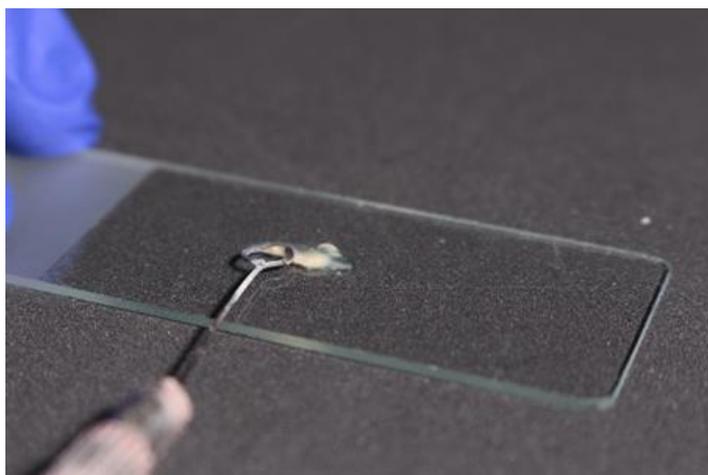


Figura 5 Prueba de Catalasa
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 6 Peróxido de hidrogeno, observando desprendimiento de burbujas de gas
Fuente y elaboración: Pedro Morales

Para asegurar la presencia de la especie de epidermidis se realizó la prueba bioquímica de manitol, el cual es un medio rosado donde la positividad se refleja en color amarillo, donde no se refleja positivismo quiere decir que es negativo y se confirma que en el género y especie es positivo para *Staphylococcus epidermidis*.

Una vez identificada la bacteria comenzó la investigación con los implantes, utilizando el caldo nutritivo tioglicolato (medio líquido), se procedió a colocar los implantes, a cada casa comercial se la representó con un número para evitar conflicto, casa comercial 1 y casa comercial 2 con sus respectivos pilares de base metálica a un torque de 30 N previo a la colonización con el *Staphylococcus epidermidis*, los implantes se los manejó con normas de bioseguridad utilizando pinzas de titanio para la manipulación, evitando así que existiera contaminación de otras bacterias, se colocaron en los tubos con tioglicolato y se adicionó una porción de colonia de *Staphylococcus epidermidis* previamente sembrada en el agar sangre de conejo con un asa calibrada en el caldo nutritivo de tioglicolato e inmediatamente se llevó a incubación a 37° C. durante 24 h a 72 h.; a las 24 horas de incubación con el tioglicolato se procedió a tomar de la porción de la interfase implante – pilar de cada casa comercial una muestra de *Staphylococcus epidermidis*, realizando una siembra en agar sangre de conejo para incubar a 37° por 24 h para observar que cantidad de bacterias crecieron en ese tiempo, realizándose el mismo procedimiento

a las 48 y 72 horas. Posterior al análisis para evaluar el crecimiento o no de la interfase implante – pilar se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias y se verificó si la bacteria es *Staphylococcus epidermidis*, después de la siembra se realizó nuevamente las pruebas de género y especie siguiendo los protocolos microbiológicos estandarizados del caso.



Figura 7 *Staphylococcus epidermidis* sembrado
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 8 Implantes B
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 9 Implantes A
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 10 Apertura de Implante B
Fuente y elaboración: Pedro Morales

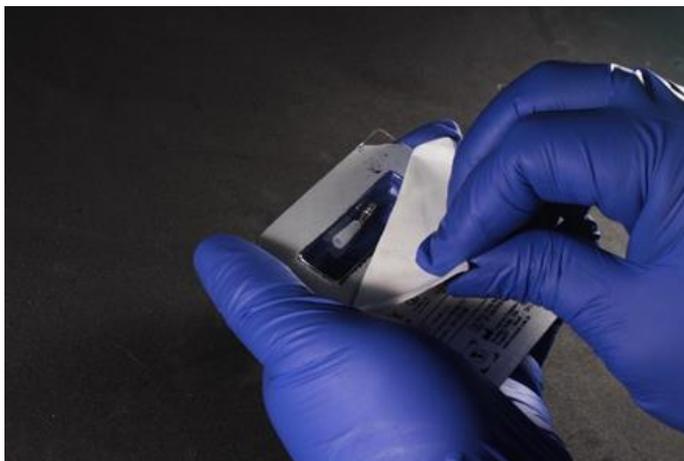


Figura 11 Apertura de Ucla B
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 12 Apertura de tornillo de indexación B
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 13 Torquimetro con llave universal de 1.2
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 14 Torque en la interfase implante pilar
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 15 Interfase Implante pilar
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 16 Interfase implante pilar "A"
Fuente y elaboración: Pedro Morales

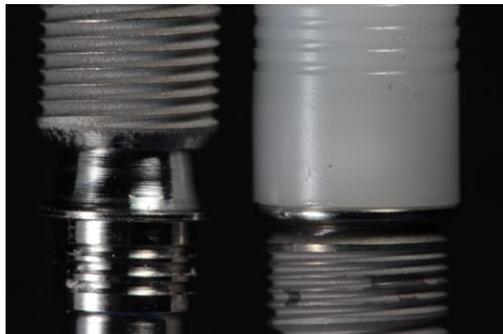


Figura 17 Interfase implante pilar A y B
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 18 Se sumerge la interfase implante pilar en el tioglicolato
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 19 Interfase implante pilar en tioglicolato
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 20 Incubación del tioglicolato por 48 horas
Fuente y elaboración: Pedro Morales

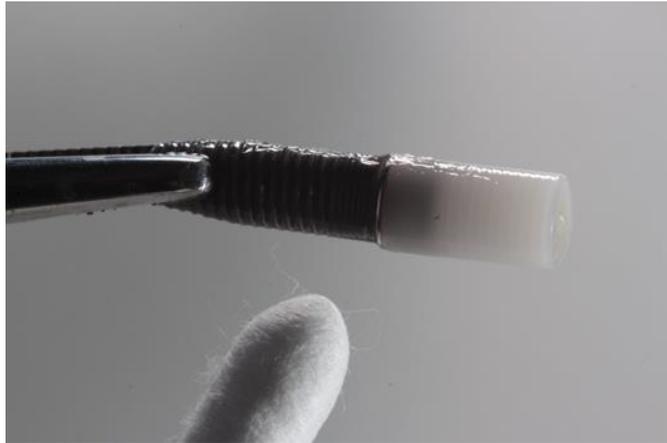


Figura 21 Interfase implante pilar inoculado
Fuente y elaboración: Pedro Morales

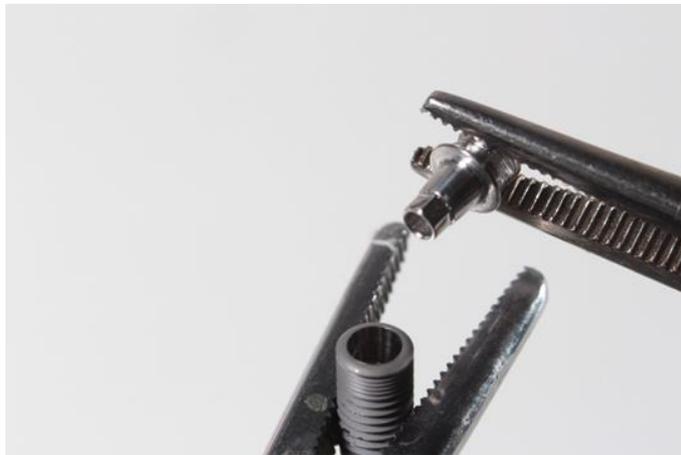


Figura 22 Retiro de ucla
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 23 Toma de muestra del sector interno del ucla
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 24 Incubación de las muestras obtenidas de la interfase implante pilar de A y B
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 25 Cultivo de la interfase implante pilar B
Fuente y elaboración: Pedro Morales



Figura 26 Cultivo de la interfase implante pilar A
Fuente y elaboración: Pedro Morales

El manejo de desechos se manejó de acuerdo al protocolo realizado en el laboratorio. (Anexo B)

Una vez realizado el procedimiento en el laboratorio “Villa Lab” se tomaron los implantes colonizados y fueron colocados en una caja Petri estéril para trasladar a la Universidad de las Fuerzas Armadas E.S.P.E donde la muestra se preparó de acuerdo al protocolo para poder observar en el Microscopio Electrónico de Barrido a un aumento de 10000 en una escala de 100 micras.

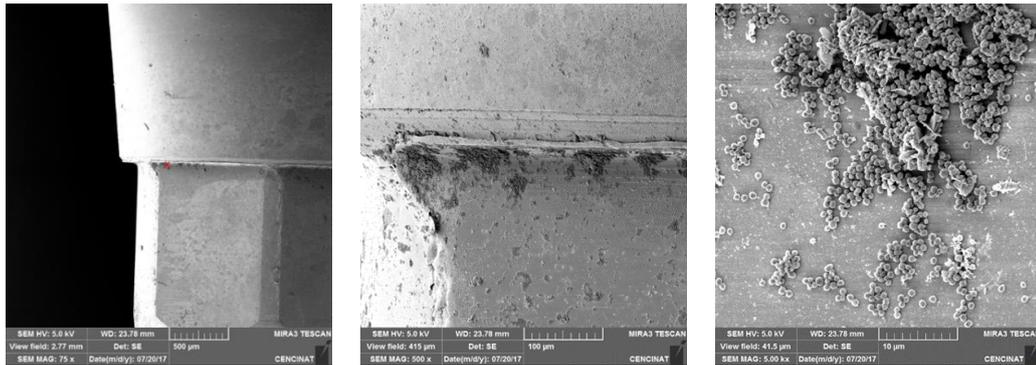


Figura 27 Microscopia electrónica SEM implante B
Fuente: Ing. Karla Vizuet **Elaboración:** Pedro Morales

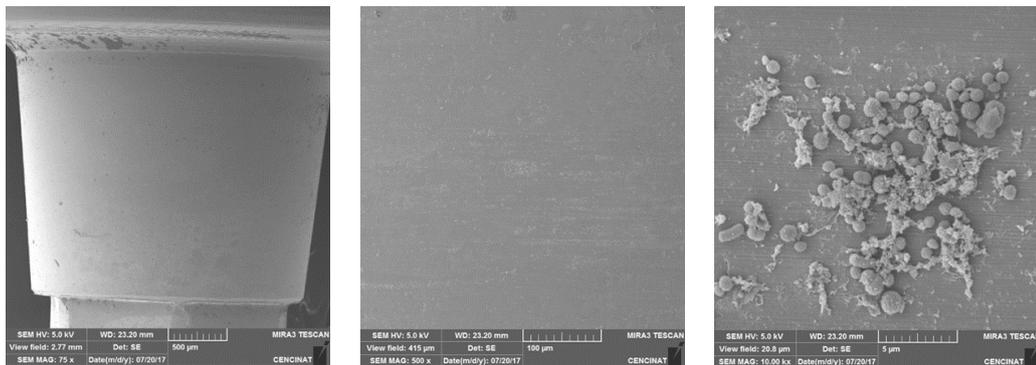


Figura 28 Microscopia electrónica SEM implante A
Fuente: Ing. Karla Vizuet **Elaboración:** Pedro Morales

8.6.1. Medición de variables y procedimientos

En cuanto al análisis e interpretación de la información, los datos fueron incluidos, depurados y organizados en el programa Microsoft Excel 2010, posteriormente los datos que se obtuvieron se introdujeron en una base de datos, construida a través del software IBM SPSS 21.0 (Statistical Package for Social Sciences, IBM).

Se utilizaron medidas de estadística descriptiva, es decir medias, desviaciones estándar, medianas, mínimos, máximos y proporciones, posteriormente se aplicó el test de normalidad (Kolmogorov-Smirnov); para evaluar la acumulación o no del *Staphylococcus epidermidis*, la interfase del implante se elaboró con el Test de Chi cuadrado con nivel de significancia de 5%.

8.7. Aspectos bioéticos

La investigación es de carácter in vitro, por lo tanto, no representó ningún riesgo potencial a la comunidad ni para los ocupantes de los laboratorios, debido a que se manejó con los protocolos de bioseguridad de cada laboratorio, además se evitó contaminación de las muestras durante el estudio.

El beneficio que representa esta investigación es de gran impacto dentro del país para generar nuevos conocimientos para la comunidad científica, así mismo se beneficiará a los estudiantes, ya que podrán contar con un material teórico para futuras investigaciones, además que les permita conocer cuál implante utilizado en el posgrado de implantología oral evita la colonización de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante pilar. Siendo sometida a revisión del comité de investigación de la facultad de odontología para previa aprobación.

CAPÍTULO IV

9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

9.1. Resultados

Datos descriptivos

Para facilitar la interpretación de los resultados se representará en siglas la identificación de los implantes y la presencia de bacterias:

A: presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante – pilar de Bionnovation.

B: presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante – pilar de Conexao.

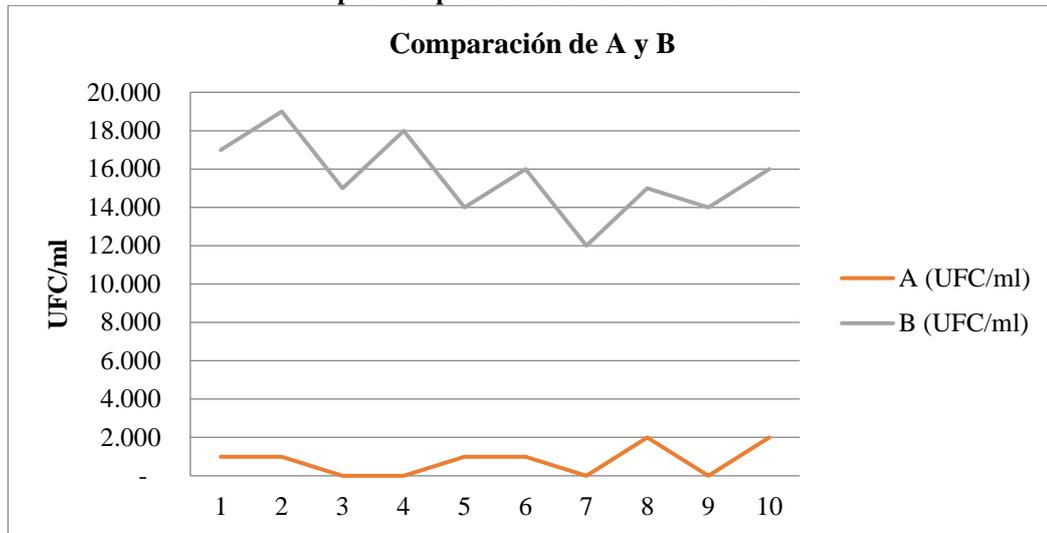
Tabla 1 Resultados de la presencia del de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de las diferentes marcas

Muestras	A (UFC/ml)	B (UFC/ml)
1	1.000	17.000
2	1.000	19.000
3	0	15.000
4	0	18.000
5	1.000	14.000
6	1.000	16.000
7	0	12.000
8	2.000	15.000
9	0	14.000
10	2.000	16.000
Promedio	800	15.600

Fuente: Investigación **Autor:** Pedro Morales

Con la información referenciada en la tabla 1 se representa el siguiente gráfico.

Gráfico 1 Comparación de la presencia del de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante – pilar de las diferentes marcas



Fuente: Investigación Autor: Pedro Morales

A través de lo reportado en la tabla 1 y el gráfico 1 se demuestra que en la interfase implante–pilar de Bionnovation exhibe la menor presencia de *Staphylococcus epidermidis* entre un rango de 0-2000 UFC/ml, en cambio la interfase implante–pilar de Conexao presenta la mayor cantidad de microorganismo en un rango de 12000 – 19000 UFC/ml.

Estudio estadístico

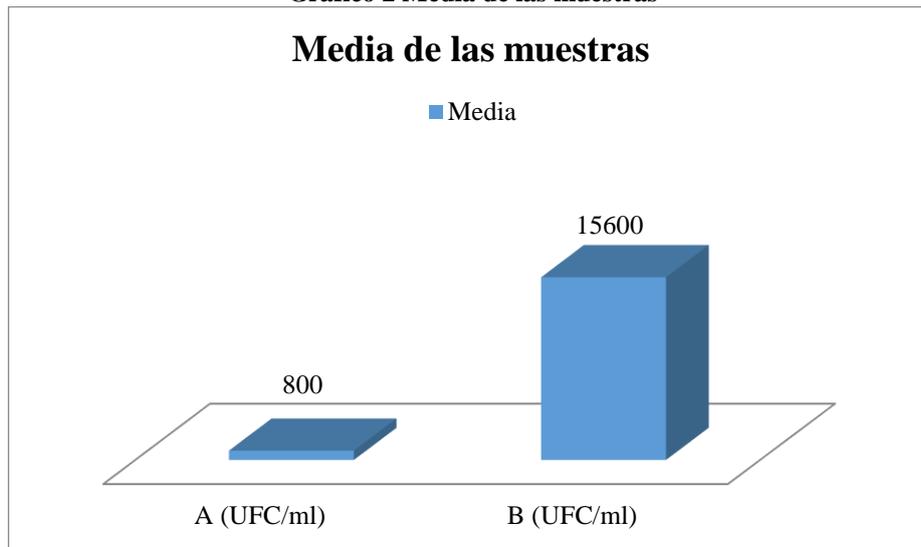
Mediante el T-Student se aprobará o rechazará la hipótesis de la investigación, al contrastar las medias de las muestras del estudio. A continuación, se presenta la media, desviación estándar y el error estándar de la Muestra A y B.

Tabla 2 Resultados descriptivos del T-Student

Muestras		Media	N	Desviación estándar	Media de error estándar
Par 1	B (UFC/ml)	15600,00	10	2065,591	653,197
	A (UFC/ml)	800,00	10	788,811	249,444

Fuente: Investigación Autor: Pedro Morales

Gráfico 2 Media de las muestras



Fuente: Investigación **Autor:** Pedro Morales

La presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Bionnovation con un promedio de 800 UFC/ml, es menor que la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante – pilar de Conexao con 1.560 UFC/ml.

Tabla 3 Prueba de T-Student

Muestras	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
				Inferior	Superior			
Par 1 B (UFC/ml) - A (UFC/ml)	14800,00	2043,96	646,36	13337,84	16262,16	22,90	9	,000

Fuente: Investigación **Autor:** Pedro Morales

Al comparar B (UFC/ml) - A (UFC/ml), entre sí; se evidencia que el valor de significancia es $P < 0,05$. Se rechaza la H_0 ; y acepto H_1 . Por lo tanto, la adhesión, formación y cantidad de la *Staphylococcus epidermidis* es dependiente de las superficies.

9.2. Discusión

Las infecciones asociadas a los implantes siguen siendo un desafío muy grande para los pacientes y los médicos después de la cirugía. Las bacterias que se adhieren a los dispositivos implantados pueden colonizar la superficie y desarrollar un biofilm resistente, que a la vez conduce a una infección crónica que es resistente a los mecanismos de defensa del huésped y medicación antimicrobianas (23,24).

En base a lo antes expuesto es que se fundamenta la presente investigación, donde se demostró la adhesión, formación y cantidad de la *Staphylococcus epidermidis* es dependiente de las superficies mediante un estudio in vitro, en este caso de la interfase implante–pilar de Conexao, el cual presentó la mayor cantidad de microorganismo en un rango de 12000 – 19000 UFC/ml que la interfase implante–pilar de Bionnovation, además se confirmó que existió diferencia estadísticamente significativa al contrastar las medias de las Unidad Formadoras de Colonia de *Staphylococcus epidermidis* que adhirió a los dos tipos de implantes utilizados en la investigación.

En vista de que al revisar la literatura sobre el tema no se encontró estudio en el país donde se comparen la susceptibilidad que tienen la interfase implante–pilar para que se adhiera el *Staphylococcus epidermidis*. Por esta razón, se referenciaría la investigación de Rabelo et al. (2014) (25), en la cual estudiaron la fuga de *Streptococcus sanguis* en varios implantes–pilar de diferentes marcas, entre el que se encontraba el Conexao, demostrando que en el implante morse de forma hexagonal interno Conexao se presentó una contaminación bacteriana de *Streptococcus sanguis* ATCC10556 del 62,50%. Con esto se evidencia que la interfase implante–pilar Conexao es propensa a contaminarse con microorganismos, lo que puede originar diversas enfermedades peri implante, debido a que los implantes se someten a cargas funcionales hay intercambio de fluidos entre medio interno y externo que aumenta la infiltración bacteriana en el área peri-implante y por lo tanto existe mayor riesgo de la colonización bacteriana al no tener un sello adecuado entre la interfaz implante-pilar (4,26,27).

Aloise et al. (2010) (28), han confirmado que la microfiltración se produce en ambas direcciones, desde las partes internas de los implantes hasta el entorno externo y viceversa. Las medidas notificadas para prevenir o minimizar la contaminación bacteriana de la interfaz implante-pilar, tales como el uso de materiales de sellado, la descontaminación de la cavidad del implante interno, el uso de la aleación de memoria de forma y diferentes geometrías de conexión, no han tenido éxito (29).

La colonización de las bacterias en la interfaz de implantación depende de factores como la precisión en la interfaz implante-pilar de diferentes sistemas de implantes y su ajuste marginal, los valores de par de cierre también alteran la capacidad de sellado de los pilares (27,30).

Además, el estudio de Assunção et al. (2009) (4), indican que en la restauración de implantes dentales la presencia de microgaps entre el implante-pilar puede causar fugas microbianas o un almacenamiento de las mismas en esta interfase, pudiendo penetrar a través de un espacio tan pequeño como de 10 μm .

De acuerdo a Lakha et al. 2015, (31) la penetración microbiana a través del microgaps existe invariablemente de la interfaz implante-pilar. Esta mínima apertura ha demostrado ser una fuente potencial de infiltración microbiana y peri-implantitis que conduce a fracaso de implantes, ya que ofrece un ambiente acogedor para la colonización de bacterias. Aunque las conexiones cónicas han demostrado una mejor capacidad de sellado, el microintervalo existe invariablemente en la interfaz, por lo que se puede afirmar que ninguna conexión ha eliminado completamente la formación de micro-huecos o ha conducido a un entorno estéril dentro de la conexión del implante. Esta información concuerda con los reportado en la presente investigación.

CAPÍTULO V

10. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

10.1. Conclusiones

Se determinó que la presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Conexao, se mantuvo en un rango de 12000-19000 UFC/ml, reportando una media de 15600 UFC/ml, estimando una presencia bacteriana moderada.

La presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la interfase implante–pilar de Bionnovation, estuvo entre un rango de 0-2000 UFC/ml, con una media de 800 UFC/ml, considerado como una contaminación bacteriana leve.

La interfase implante–pilar donde se depositó mayor cantidad de unidad formadora de *Staphylococcus epidermidis* por cada ml fue en la interfase implante–pilar de Conexao, con una diferencia de 14800 UFC/ml con respecto a la otra marca de implante. También, se comprobó estadísticamente que la adhesión, formación y cantidad de la *Staphylococcus epidermidis* es dependiente de las superficies que colonicen ($p < 0,05$).

10.2. Recomendaciones

Se recomienda utilizar la interfase implante–pilar de Bionnovation, durante el procedimiento de implantes dentales por presentar menor adhesión, formación y cantidad de la bacteria *Staphylococcus epidermidis*.

Los médicos y los fabricantes que la adhesión, formación y cantidad de la *Staphylococcus epidermidis* es dependiente de las superficies que colonicen, por lo tanto es probable la colonización microbiana en el microgaps y la parte interna del implante puede dar lugar al colapso del implante por la inflamación tisular.

Para próximos estudios considerar el tamaño de la interfase entre el implante y el pilar, para poder asociar con la cantidad de bacterias que se puedan adherir en el microgaps.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tenenbaum H, Bogen O, Séverac F, Elkaim R, Davideau J, Huck O. Long-term prospective cohort study on dental implants: clinical and microbiological parameters. *Clinical Oral Implants Research*. 2017 enero; 28(1): p. 86-94.
2. Derks J, Hakansson J, Wennström J, Tomasi C, Larsson M, Berglundh T. Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population: early and late implant loss. *Journal of Dental Research*. 2015 marzo; 94(3): p. 44-51.
3. Sakka S, Baroudi K, Nassani M. Factors associated with early and late failure of dental implants. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 2012 noviembre; 3(4): p. 258-261.
4. Assunção W, Barão V, Tabata L, Gomes E, Delben J, dos Santos P. Biomechanics studies in dentistry: bioengineering applied in oral implantology. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2009 julio; 20(4): p. 1173-1177.
5. D'Ercole S, Tripodi D, Marzo G, Bernardi S, Continenza M, Piattelli A, et al. Microleakage of bacteria in different implant-abutment assemblies: an in vitro study. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. 2015 julio; 13(2): p. 174-180.
6. Al-Radha A, Dymock D, Younes C, O'Sullivan D. Surface properties of titanium and zirconia dental implant materials and their effect on bacterial adhesion. *Journal of Dentistry*. 2012 febrero; 40(2): p. 146-153.
7. Norton M. An in vitro evaluation of the strength of an internal conical interface compared to a butt joint interface in implant design. *Clinical Oral Implants Research*. 1997 agosto; 8(4): p. 290-298.
8. Assenza B, Tripodi D, Scarano A, Perrotti V, Piattelli A, Iezzi G, et al. Bacterial leakage in implants with different implant-abutment connections: an in vitro study. *Journal of Periodontology*. 2012 abril; 83(4): p. 491-497.
9. Koutouzis T, Wallet S, Calderon N, Lundgren T. Bacterial colonization of the implant-abutment interface using an in vitro dynamic loading model. *Journal of Periodontology*. 2011 abril; 82(4): p. 613-618.

10. Tirado A. Biomechanical study of prosthetic interfaces: A literature review. *Dental Press Implantology*. 2013 octubre; 7(4): p. 90-97.
11. Maeda Y, Satoh T, Sogo M. In vitro differences of stress concentrations for internal and external hex implant-abutment connections: a short communication. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2006 enero; 33(1): p. 75-78.
12. Coppedê A, Bersani E, de Mattos MG, Rodrigues R, Sartori I, Ribeiro R. Fracture resistance of the implant-abutment connection in implants with internal hex and internal conical connections under oblique compressive loading: an in vitro study. *The International Journal of Prosthodontics*. 2009 junio; 22(3): p. 283-286.
13. Rimondini L, Marin C, Brunella F, Fini M. Internal contamination of a 2-component implant system after occlusal loading and provisionally luted reconstruction with or without a washer device. *Journal of Periodontology*. 2001 diciembre; 72(12): p. 1652-1657.
14. Saidin S, Abdul M, Sulaiman E, Abu N. Effects of different implant-abutment connections on micromotion and stress distribution: prediction of microgap formation. *Journal of Dentistry*. 2012 junio; 40(6): p. 467-474.
15. Kano S, Binon P, Curtis D. A classification system to measure the implant-abutment microgap. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2007 noviembre-diciembre; 22(6): p. 879-885.
16. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GDBG, Catamo G, et al. Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. *Journal of Periodontology*. 2001 septiembre; 72(9): p. 1146-1150.
17. Ricomini A, Silva F, Gouveia F, da Silva W, Del Bel A. Preload loss and bacterial penetration on different implant-abutment connection systems. *Brazilian Dental Journal*. 2010; 21(2): p. 123-129.
18. Tesmer M, Wallet S, Koutouzis T, Lundgren T. Bacterial colonization of the dental implant fixture-abutment interface: an in vitro study. *Journal of Periodontology*. 2009 diciembre; 80(12): p. 1991-1997.

19. Jansen V, Conrads G, Richter E. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 1997 julio-agosto; 12(4): p. 527-540.
20. Callan D, Cobb C, Williams K. DNA probe identification of bacteria colonizing internal surfaces of the implant-abutment interface: a preliminary study. *Journal of Periodontology*. 2005 enero; 76(1): p. 115-120.
21. Fürst M, Salvi G, Lang N, Persson G. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clinical Oral Implants Research*. 2007 agosto; 18(4): p. 501-508.
22. Smith N, Turkyilmaz I. Evaluation of the sealing capability of implants to titanium and zirconia abutments against *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Fusobacterium nucleatum* under different screw torque values. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2014 septiembre; 112(3): p. 561-567.
23. Costerton J, Stewart P, Greenberg E. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science*. 1999 mayo; 284(5418): p. 1318-1322.
24. Unosson E, Tsekoura E, Engqvist H, Welch K. Synergetic inactivation of *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus mutans* in a TiO₂/H₂O₂/UV system. *Biomatter*. 2013 octubre; 3(4): p. 1-6.
25. Rabelo G, Olate S, Pozzer L, Cavalieri L, Rodrigues J, Albergaría J. Bacterial contamination along implant-abutment interface in external and internal-hex dental implants. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2014; 7(3): p. 580-585.
26. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa G, Di Bonaventura G, et al. Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. *Journal of Periodontology*. 2001 septiembre; 72(9): p. 1146-1150.
27. Tabrez L, Mohit K, Supriya K, Ramandeep S. Bacterial colonization at implant – abutment interface: a systematic review. *Journal of Dental Specialities*. 2015; 3(2): p. 176-179.

28. Aloise J, Curcio R, Laporta M, Rossi L, da Silva A, Rapoport A. Microbial leakage through the implant-abutment interface of Morse taper implants in vitro. *Clinical Oral Implants Research*. 2010 marzo; 21(3): p. 328-335.
29. Nassar H, Abdalla M. Bacterial leakage of different internal implant/abutment connection. *Future Dental Journal*. 2015 diciembre; 1(1): p. 1-5.
30. Alves D, Carvalho P, Martinez E. In vitro microbiological analysis of bacterial seal at the implant-abutment interface using two morse taper implant models. *Brazilian Dental Journal*. 2014 enero-febrero; 25(1): p. 48-53.
31. Lakha T, Kheur M, Kheur S, Sandhu R. Bacterial colonization at implant – abutment interface: a systematic review. *J Dent Specialities*. 2015 Marzo; 3(2): p. 176-179.

ANEXOS

Quito, 26 de Junio de 2017

Señores,

Universidad Central del Ecuador

Facultad de Odontología

Por medio de la presente certifico que el señor Pedro Alexis Morales Andrade con cédula de identidad 1711720274, realizará la parte experimental de su estudio **COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS EN LA INTERFASE IMPLANTE-PILAR EN DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES** en las instalaciones del Laboratorio Clínico Especializado VILLA LAB, con permiso de funcionamiento número MSP-2017-Z09-0019093 Avalado por el Ministerio de Salud Pública.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Diana Portilla

Bioquímica Clínica

Jefa de Laboratorio Clínico Especializado VILLA LAB

Diana Portilla O
Bioquímica Clínica
Libro: 9 Folio: 97 N° 21

"Confiabilidad en su diagnóstico"



A quien corresponda,

Por medio de la presente certifico que el señor Pedro Morales con C.I. 1711720274 realizó la parte experimental de su estudio **COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE *Staphylococcus epidermidis* EN LA INTERFASE IMPLANTE – PILAR, EN DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES** en el Laboratorio Clínico Especializado "VILLA LAB".

Los resultados obtenidos son los siguientes:

REPETICIÓN	A (UFC/ml)	B (UFC/ml)
1	1000	17000
2	1000	19000
3	0	15000
4	0	18000
5	1000	14000
6	1000	16000
7	0	12000
8	2000	15000
9	0	14000
10	2000	16000

Atentamente:

Byron Villacís Sánchez

Bioquímico Clínico

Magíster en Seguridad y Prevención de Riesgos del Trabajo

Magíster en Administración de Empresas

	Solicitud de Envío de Cepas		Código:	F-RAM-
	Marco-Proceso:	Proceso Interno:	Edición:	00
	Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y de Referencia Nacional	Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	26/06/20

<p style="text-align: center;">DATOS DE PEDIDO</p> <p>Fecha(dd/mm/aaaa): <u>6/7/17</u></p> <p>Unidad/ Hospital Solicitante: <u>Villa Salud</u></p> <p>Dirección de envío: <u>Av. Ajuní y Huigra 515-162</u></p>	<p style="text-align: center;">DATOS DE CUSTODIO DE LA CEPA</p> <p>Nombre: <u>Pedro Alexis Morales Andrade</u></p> <p>e-mail: <u>pedro-alexis1@hotmail.com</u></p> <p>Teléfono: <u>0995868055</u></p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Nº	Microorganismo	Cantidad	Uso ¹	Observaciones
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	I	
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

¹USO: Control de Calidad (CC); Docencia (D); Investigación (I); Investigación y desarrollo (I+D).

ACUERDO DE TRANSFERENCIA DE MATERIAL CRN-RAM

El presente acuerdo junto con las cepas implica la aceptación de su contenido y de la política del CRN-RAM¹ al respecto. El CRN-RAM usa los microorganismos obtenidos y caracterizados dentro de la vigilancia, o de instituciones con colecciones de cultivo certificadas para realizar investigaciones y control de calidad interno. Estando dentro de nuestras facultades el recibir cepas del laboratorio Supra Nacional y suministrar derivados a los laboratorios miembros de la Red RAM- Ecuador.

La transferencia de estos microorganismos excluye una posterior distribución del receptor² o comprador, es decir no puede distribuir el MGR³ a nadie fuera de su institución. El CRN-RAM suministra MGRs para fines de análisis, referencia, bioensayos, control y docencia o investigación académica. No para aplicación comercial, el receptor debe seguir los tests y procedimientos de referencia estándar.

Alcance
 CRN-RAM no se hace responsable de las implicaciones que pueda generar el mal uso de MGRs por parte de los receptores o terceras personas, por lo que el receptor asume cualquier riesgo y responsabilidad relacionados con la recepción, manipulación, almacenamiento, eliminación, transferencia y uso del MGR. El receptor está de acuerdo en que cualquier actividad llevada a cabo con los MGRs debe realizarse de acuerdo con todas las directrices, leyes y regulaciones aplicables. El receptor acepta incluir los correspondientes agradecimientos al CRN-RAM y conviene de manera expresa que los trabajos susceptibles de protección intelectual generados por el uso de los MGRs otorguen el debido reconocimiento intelectual al CRN-RAM.

Garantía
 El CRN-RAM garantiza la viabilidad de los MGRs enviados por un periodo de 15 días. La falta de viabilidad debe ser informada dentro de este periodo de tiempo, para lo cual el CRN-RAM reenviará nuevamente los MGRs. En caso de que el receptor incumpla con los procedimientos de manejo de dichos MGRs el CRN-RAM no se hace responsable.

Definiciones
 CRN-RAM: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos.
 MGR ("Microbial Genetic Resources"): Recursos Genéticos Microbianos. Microorganismos y/o material genético que no ha sido modificado.
 RECEPTOR: Entidad legal o individuo que recibe el MGR del suministrador.

El usuario ha leído y acepta las condiciones del MTA del CRN-RAM



Firma:	Firma:
Custodio de la Cepa	Responsable CRN-RAM



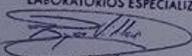
Quito, 26 de Junio de 2017

Señores,
Universidad Central del Ecuador
Facultad de Odontología

Por medio de la presente certifico que el señor Pedro Alexis Morales Andrade con cédula de identidad 1711720274, adquirió medios selectivos de cultivo, caldos de crecimiento bacteriano y pruebas bioquímicas diferenciales, para realizar la parte experimental de su estudio **COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS EN LA INTERFASE IMPLANTE-PILAR EN DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES.**

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

NETLAB
LABORATORIOS ESPECIALIZADOS

Byron Villacís

Bioquímico Clínico
Magíster en Seguridad y Prevención de Riesgos del Trabajo
Magíster en Administración de Empresas

Sangolquí, 26 de Junio del 2017

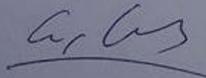
Universidad Central del Ecuador
Facultad de Odontología

De mi consideración:

Por medio de la presente carta constato que el Od. Pedro Alexis Morales Andrade con cédula nro. 1711720274 ha contratado horas de servicio en el microscopio electrónico de barrido para realizar su estudio: **COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS EN LA INTERFASE IMPLANTE-PILAR, EN DIFERENTES MARCAS DE IMPLANTES**, el mismo que el proyecto de Tesis de Grado previo a la obtención del título de Especialista en Implantología Oral.

Particular que comunico para que se realicen los trámites pertinentes

Atentamente,



Carlos Arroyo Rodríguez, Ph.D.
Jefe del Laboratorio de Caracterización del Nanomateriales
Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT)
Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE



ACTA DE ENTREGA

ACTA N°: SEM_JULIO_35
Número de páginas: 2
Solicitado por: Pedro Alexis Morales Andrade
Autor informe: Ing. Karla Vizuete A.
Dirección: Av. General Rumiñahui S/N
Fecha de emisión: 24/07/2017

GENERALIDADES

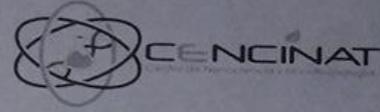
En referencia a la FACTURA N° 001-001-000007437 emitida por la empresa pública ESPE-INNOVATIVA de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, se completó las dos horas de uso contratadas por el cliente con la preparación y medición de varios *Aditamentos protésicos tipo UCLA colonizados con S. epidermis* en el microscopio electrónico de barrido (SEM), alto vacío, TESCAN MIRA3 FEG del Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales de la ESPE.

METODOLOGÍA

Primero, los aditamentos fueron fijados con el buffer Glutaraldehído-Sorenson al 4%, después fueron postfijados con Tetraóxido de Osmio al 1%. Para deshidratarlos se utilizó una serie creciente de etanol (30%, 50%, 70%, 90% y 100%) por 15 minutos cada una. A continuación fueron almacenados en un desecador por 24 horas.

Los aditamentos colonizados fueron pegados en soportes para microscopía utilizando cinta doble faz de carbono. Seguidamente estos fueron recubiertos con oro como material conductor para su observación en el microscopio. Para este fin, se utilizó un evaporizador de sputter coating Quorum Q105R bajo las siguientes condiciones: 15 mA y 80 mTorr por 30 segundos para producir una capa con espesor aproximado de 20 nm.

Los portamuestras fueron insertados en el carrusel del microscopio electrónico de barrido TESCAN MIRA 3. Se observó las muestras con un voltaje de 10 kV y se obtuvo varias microfotografías de cada aditamento a diferente magnificación.



RESULTADOS

Se obtuvieron varias microfotografías de cada una de las muestras entregadas.

OBSERVACIONES

- Las muestras ensayadas fueron proporcionadas por el solicitante.
- Los resultados (microfotografías) fueron entregados en formato electrónico.

Ensayo elaborado por:

Ing. Karla Vizúete A.
Técnica del Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales
Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT)
Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE

Supervisado por:

Carlos Arroyo, Ph.D
Jefe del Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales
Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT)
Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE

Pedro Morales
1711 720 274

