

Evaluación de la colonización bacteriana de la interfase implante-pilar en implantes de conexión interna: estudio piloto*

Asterlis Buitrago Osuna 1
 Martha Lucía Sarmiento Delgado 2
 Carlos Alberto Serrano Méndez 3
 Sandra Consuelo Henao Riveros 4

Evaluation of bacterial colonization of the implant-abutment interface in implants with internal connection: pilot study *

Resumen:

Introducción: la interfase implante-pilar da lugar a la formación de un espacio, cuyo tamaño varía de acuerdo a variables como las tolerancias de maquinado, los micro-movimientos, el tipo de fabricación de los aditamentos protésicos y el material de los mismos. Este espacio, en cercanía a los tejidos peri-implantares, es una oportunidad para la movilización de microorganismos de forma bidireccional, desencadenando eventualmente respuesta tisular. **Objetivo:** comparar la filtración de *Echerichia coli* (*E. coli*) en la interfase de implantes de conexión interna con pilares prefabricados y personalizados. **Materiales y métodos:** nueve implantes (Osseotite® Tapered Certain®, 3i Biomet) fueron divididos en tres grupos basados en el tipo de pilar utilizado. Grupo 1 pilares prefabricados Provide®, grupo 2 pilares personalizados Encode® Titanio, grupo 3 pilares personalizados Encode® Zirconia. Los pilares fueron conectados a los implantes y fueron ciclados según la norma ISO 14801:2007 (250.000 ciclos) en un dispositivo de carga dinámica. Fueron sumergidos en caldo infusión cerebro corazón (BHI) inoculado con *E. coli*. Se tomaron muestras y se midió la turbidez del medio. Se realizó test ANOVA para comparar el tamaño de la interfase implante-pilar. **Resultados:** se encontró que todas las muestras filtraron en diferentes proporciones. **Conclusiones:** todas las muestras mostraron filtración de *E. coli*.

Palabras clave: Carga bacteriana; implantes dentales; interfase implante-pilar; titanio; microbiología; CAD/CAM.

Abstract

Background: the implant-abutment interface leads to the formation of a space whose size varies according to different variables such as machining tolerances, micro-movements, the type of fabrication of prosthetic devices and the fabrication material. This space in close proximity to the peri-implant tissues is an opportunity for the colonization of microorganism bidirectionally, eventually triggering tissue response. **Objective:** to compare the filtration of *Echerichia coli* (*E. coli*) in the interface of implants of internal connection with prefabricated and customized abutments. **Materials and methods:** nine implants (Osseotite® Tapered Certain®, 3i Biomet) were divided into three groups based on the type of abutment used. Group 1 prefabricated abutment Provide®, Group 2 customized abutment Encode® Titanium, Group 3 customized abutment Encode® Zirconia. The implants were connected to the abutments and cycled according to ISO 14801:2007 norm (250,000 cycles) in a dynamic loading device. They were immersed in brain heart infusion (BHI) medium inoculated with *E. coli*. Samples were taken and the turbidity of the medium was measured. An ANOVA test was performed to compare the size of the implant-abutment interface. **Results:** All samples were found to be colonized in different proportions. **Conclusions:** All samples showed *E. coli* colonization.

Key words: Bacterial load; dental implants; Dental Implant-Abutment Interface; titanium; microbiology; CAD-CAM.

* Artículo original de investigación derivado del trabajo final de especialidad en periodoncia. Financiado por la División de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Convocatoria del segundo corte del año 2014. DIB oficio 332-15-ID 28419.

1 Odontóloga. Especialista en Periodoncia. Estudiante de Maestría en Odontología de la Universidad Nacional de Colombia. Línea de Investigación en Materiales Dentales. Grupo de investigación en Biomecánica. Contacto: > abuitragoo@unal.edu.co

2 Odontóloga. Especialista en Prosthodontia. Magister en Odontología. Profesor asistente. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Facultad de Odontología. Departamento de Salud Oral. Línea de Investigación en Materiales Dentales. Grupo de investigación en Biomecánica. Contacto: > mlsarmientod@unal.edu.co

3 Odontólogo. Especialista en Periodoncia. Magister en Ciencias Odontológicas. Profesor asociado Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Facultad de Odontología. Departamento de ciencias básicas. Grupo de Investigación en Periodoncia. Contacto: > caserranom@unal.edu.co

4 Bacterióloga. Magister en Microbiología. Profesor asociado. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Facultad de Medicina. Departamento de Microbiología. Grupo de Investigación en enfermedades infecciosas. Contacto: > schenaor@unal.edu.co

CITACIÓN SUGERIDA

Buitrago Osuna A, Sarmiento Delgado ML, Serrano Méndez CA, et al. Evaluación de la colonización bacteriana de la interfase implante-pilar en implantes de conexión interna: estudio piloto. *Acta Odontol Col* [en línea] 2018 [fecha de consulta: dd/mm/aaaa]; 8(2): 41-51. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actaodontocol/index>

Recibido	Aprobado	Publicado
26/09/2017	12/06/2018	01/07/2018



Introducción

Se ha reportado que los implantes de dos piezas generan una pérdida ósea peri-implantar aproximada de 1,5 mm durante el primer año de carga. Esto obedece a diferentes causas dentro de las cuales se encuentra: trauma quirúrgico, sobrecarga oclusal, peri-implantitis, posición y tamaño de la interfase implante-pilar, formación del ancho biológico, respuesta inmune y factores de estrés (1).

La unión entre la superficie del pilar y la plataforma del implante da lugar a la formación de la interfase implante-pilar, esta zona es susceptible a ser colonizada por bacterias que son capaces de formar reservorios en la cavidad interna del implante y que además se movilizan de manera bidireccional y pueden desencadenar activación de mecanismos inmunes tisulares, que eventualmente se traducen en pérdida ósea peri-implantar, afectando así el éxito del tratamiento (2, 3).

El tamaño y el comportamiento de la interfase son afectados por diferentes factores biomecánicos como el tipo de conexión, los micromovimientos, la precarga y el material del tornillo de fijación, el material y el tipo de fabricación del pilar protésico. La adaptación de las partes y la pérdida del ajuste pasivo puede conducir a fractura de los componentes, además, funcionalmente puede causar sobrecarga (4). Por este motivo, diferentes estudios se han enfocado en el análisis del comportamiento de la interfase, bajo condiciones estáticas (5) y dinámicas (6, 7), comparando: diferentes tipos de conexiones disponibles (3, 8, 9), filtración utilizando diversos microorganismos – bacterias y hongos– (1) o productos bacterianos como la endotoxina(10).

Los pilares protésicos disponibles son elaborados por diferentes mecanismos y en diversos materiales: pilares prefabricados en serie en titanio o zirconia; pilares calcinables o parcialmente calcinables; y pilares personalizados en titanio, alúmina o zirconia elaborados por diseño asistido por computador (CAD) y manufactura asistida por computador (CAM) (11). La zirconia es alrededor de 10 veces más dura que el titanio (12), por lo cual puede generar daños en la plataforma del implante. Stimmelmayer *et al* (12) concluyeron en su estudio que el desgaste en la plataforma de implantes conectados a pilares de zirconia fue mayor en comparación con aquellos conectados a pilares de titanio. Yeliz Cavusoglu *et al* (13) compararon las interfaces de implantes (bone-level Regular Crossfit Straumann) conectados a pilares elaborados en titanio y zirconia, utilizando microscopía electrónica de barrido luego de ser sometidos a carga dinámica. Encontraron que la interfase titanio-titanio presentó pequeñas áreas de desgaste y deformación mínima, en contraste con la interfase titanio-zirconia, donde se observó una superficie dramáticamente afectada (13, 14).

Hamilton *et al* (15) compararon el ajuste de componentes verticales y horizontales en pilares prefabricados versus realizados con manufactura CAD/CAM, encontrando que los pilares prefabricados SynOcta (Straumann Standard Plus®) y Nobel Esthetic presentaron un tamaño de la interfase menor con respecto a los pilares personalizados Nobel ProCera CAD/CAM titanio, con un valor $p = 0,002$ y $p = 0,059$ respectivamente. Este estudio concluye que se puede encontrar espacios mayores entre los componentes internos de los pilares elaborados mediante CAD/CAM, en comparación con los prefabricados. Se pueden encontrar diferencias en los diseños de la conexión y esto puede afectar

el ajuste de los componentes internos con los pilares, estas diferencias generadas en el ajuste traen consecuencias en la estabilidad, a nivel técnico y biológico.

El comportamiento biomecánico de la interfase y el material de los componentes juegan un papel importante en la capacidad de bloquear el paso de microorganismos. Autores como Jansen *et al.* (8) evaluaron en 1997 la microfiltración en conexiones externas e internas (Astra, Bego, Degussa, Friatec, Mathys, Nobel Biocare, Straumann, and S. & W. Dental-Med) encontrando que todas presentaron presencia de *E. coli* en su porción interna, concluyendo así que ninguna fue 100% eficaz bloqueando la filtración. Al igual que Smith *et al.* (16) evaluaron la filtración de *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* en la interfase de implantes NoberBiocare de conexión interna hexagonal, conectados con pilares en titanio y zirconia. Pudieron concluir que existe variación en la filtración de microorganismos de acuerdo al tipo de pilar utilizado y el material del mismo.

Dado el incremento acelerado en el uso de pilares personalizados realizados mediante técnicas de CAD/CAM, el objetivo de este estudio fue evaluar la filtración de bacterias en la interfase implante-pilar de implantes con conexión interna sometidos a carga dinámica, con pilares prefabricados y personalizados en titanio y zirconia. La hipótesis nula fue que la filtración de microorganismos es igual para todos los pilares.

Materiales y métodos

Tipo de estudio: experimental *in vitro*.

Este trabajo fue revisado y aprobado por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia CIE 312-14.

Se utilizaron como muestra 9 implantes de titanio de conexión interna hexagonal (titanio grado IV, 4 x 11.5 mm, Osseotite® Tapered Certain®, 3i Biomet). Los pilares prefabricados en titanio Provide® tenían dimensiones de altura 5,5 mm y de diámetro 4.8 mm. Los pilares personalizados Zirkozahn® (Milling unit M5) elaborados en titanio y zirconia mediante técnica CAD/CAM se realizaron tomando como referencia los pilares Provide®. El complejo implante-pilar fue ensamblado con un torque de 20N cm, se sometió a carga dinámica en un dispositivo estandarizado según la norma ISO/FDIS 14801:2007(17), previo a la evaluación microbiológica, similar a lo expuesto por Alves en 2016 (18).

Grupos de estudio

Los grupos de estudio se dividieron de la siguiente forma: grupo 1 pilares prefabricados en titanio Provide®, grupo 2 pilar personalizado en titanio CAD-CAM Encode® y grupo 3 pilar personalizado en zirconia CAD-CAM Encode®.

Figura 1. Dispositivo de carga cíclica.



Fuente: elaboración propia.

Evaluación del tamaño de la interfase implante-pilar

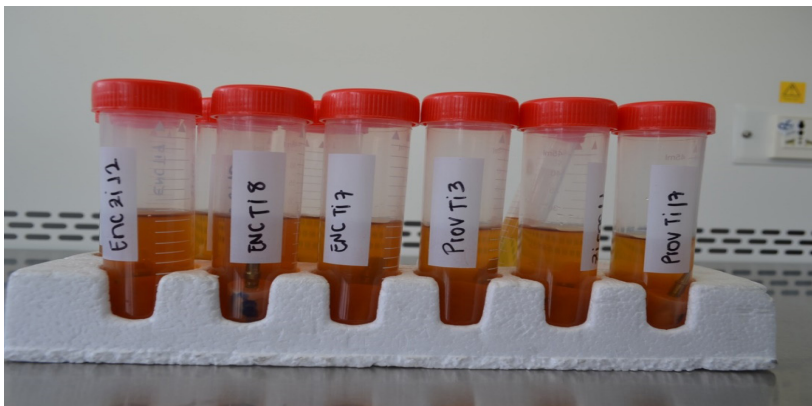
Se tomaron tres fotografías de cada complejo implante-pilar utilizando microscopía electrónica de barrido (MEB, Microscopio FEI Quanta 200-r) con magnificaciones 50x, 500x y 3000x. Esta última fue utilizada para realizar la medición de la interfase con el software analizador de imágenes Image J del National Institutes of Health, tomando 8 mediciones sobre la microfotografía y posteriormente se obtuvo el promedio (19).

Condiciones de cultivo bacteriano

Se realizó el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 35218 en agar nutritivo por 24 horas, en incubadora a 37°C. Posteriormente se sembró en caldo infusión cerebro corazón (Brain heart infusión BHI) Oxoid a una escala de Macfarland 0.5 (1x10⁸ unidades formadoras de colonias).

Utilizando una cámara de flujo laminar, se selló la chimenea de cada pilar con Systemp. onlay Ivoclar Vivadent®. Cada complejo implante-pilar fue sumergido en un tubo con 25 ml de caldo BHI contaminado con *E. coli* y se introdujeron en incubadora por 24 horas a 37°C. Control positivo: un análogo estéril sumergido en un medio contaminado. Control negativo: medio BHI sin contaminar se puso a incubar.

Figura 2. Complejo implante-pilar sumergido en caldo BHI inoculado con *E. coli*.



Fuente: fotografía original

Toma de la muestra

Se utilizó un microbrush estéril para la toma de la muestra en la plataforma del implante una vez desensamblados los pilares y se introdujo en un tubo con 1 ml de medio BHI estéril. El tornillo de fijación se introdujo en un tubo de ensayo con medio BHI estéril. Se incubaron por 24 horas más.

Evaluación de la filtración

Se observó la presencia de filtración por la turbidez en el medio y fue evaluada mediante espectrofotometría (espectrofotómetro Génesis 20), registrando el valor de la absorbancia.

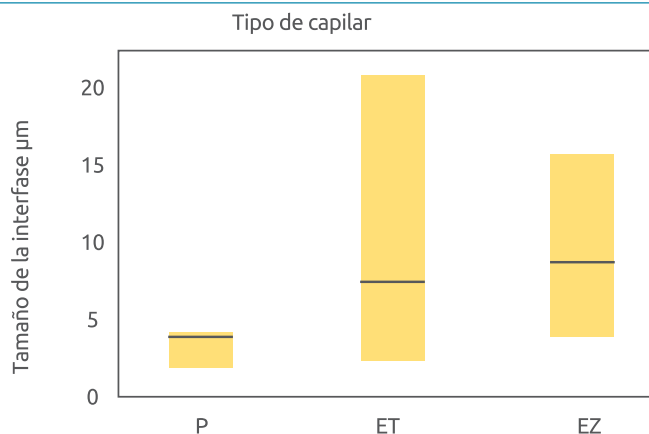
Resultados

Se observaron variaciones en el tamaño de la interfase implante-pilar entre los grupos de estudio. Los implantes ensamblados con pilares prefabricados elaborados en titanio presentaron los valores más bajos.

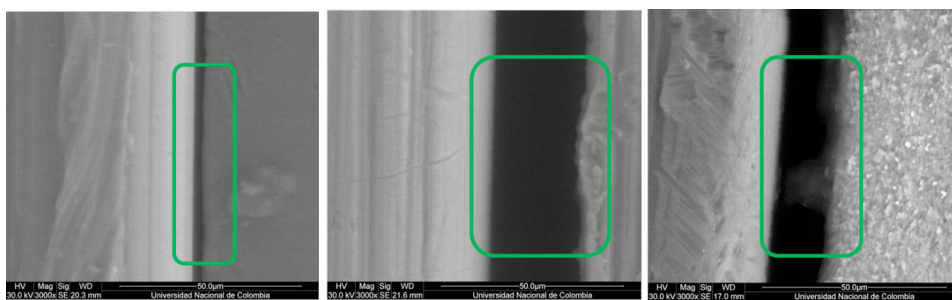
El promedio del tamaño del *microgap* en el grupo 1 fue de 3,68 μm , en el grupo 2 10,42 μm y en el grupo 3 9,70 μm . Estos valores muestran que el grupo que demostró mejor acople entre las partes fue el ensamble con pilar prefabricado en titanio.

El gráfico 1 ilustra la variabilidad intra e intergrupar, además, revela que el grupo Encode titanio presentó mayor variabilidad intra-grupo y el grupo Provide titanio mostró menor variabilidad. La variabilidad intergrupar es menor, encontrando que para todos los grupos el tamaño de la interfase se encontró en el mismo rango.

Gráfico 1. Gráfico de caja y bigotes. Se observa la comparación entre tipo de pilar con el tamaño de la interfase medida en μm . P pilares Provide, ET pilares Encode Titanio, EZ pilares Encode Zirconia



Fuente: elaboración propia



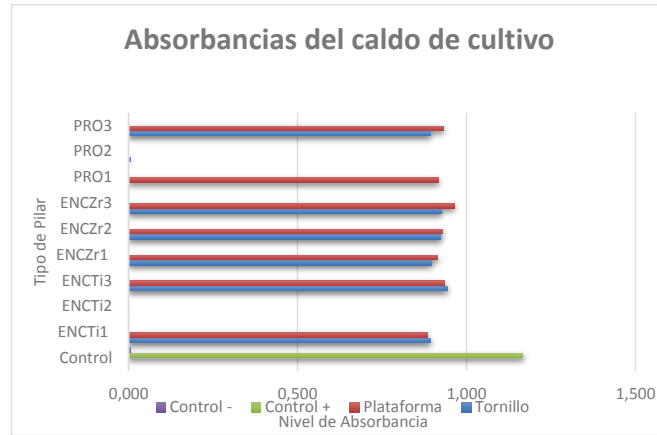
Fuente: elaboración propia

Se realizó el test ANOVA para comparar el tamaño de la interfase implante-pilar, donde se encontró el valor $p = 0,000$, señalando que la medida de la interfase implante pilar es diferente para todos los grupos.

Datos de absorbancia

La muestra del implante ENC Ti 8 no pudo ser tomada, debido a que no fue posible desatornillar el pilar. La muestra del tornillo de fijación del implante Pro Ti 17 fue eliminada porque el tornillo de fijación se contaminó. El gráfico 2 muestra que los valores de absorbancia fueron, en términos generales, menores en el tornillo de fijación que en la plataforma del implante, además, muestra que los valores de absorbancia son muy similares entre los grupos. El control positivo mostró el valor más alto de absorbancia y en el control negativo fue nula.

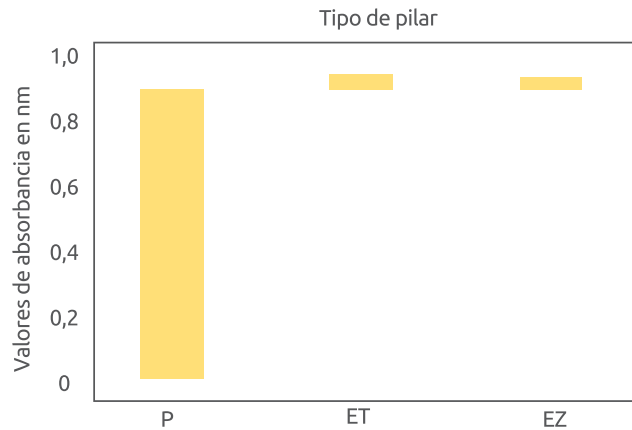
Gráfico 2. El gráfico ilustra los diferentes valores de absorbancia en las muestras de plataforma del implante y tornillo de fijación, en contraste con los grupos de estudio, y los controles positivo y negativo. Nótese que en promedio los valores son muy similares.



Fuente: elaboración propia

El gráfico 3 ilustra la variabilidad intragrupal, observándose que el grupo Provide presentó mayor variabilidad, mientras que Encode Titanio y Encode zirconia se mostraron muy similares. Se realizó el test ANOVA para los valores de absorbancia. Se encontró un valor $p > 0,05$. Como $p > 0,05$, la hipótesis nula se acepta. Por lo tanto, no hay diferencia estadísticamente significativa en los valores de absorbancia.

Gráfico 3. Gráfico de caja y bigotes. Se observa la comparación entre grupo de estudio y valores obtenidos de absorbancia en nanómetros. P pilares Provide ETi pilares Encode Titanio EZi pilares Encode Zirconia.



Fuente: elaboración propia

Discusión y conclusiones

En este estudio se realizó la evaluación del tamaño de la interfase implante-pilar y la filtración de *E. coli* en implantes de conexión interna hexagonal, ensamblados con pilares prefabricados y personalizados mediante técnica CAD/CAM en titanio y zirconia, desde fuera hacia adentro del implante al ser sometidos a carga dinámica *in vitro*. Los resultados muestran que el tamaño de la interfase implante-pilar presentó variación a nivel intergrupala e intragrupal (gráfico 2). La variación intragrupal fue mayor para los implantes ensamblados con pilares personalizados en titanio, esto puede deberse a un resultado atípico producto de aflojamiento del tornillo de fijación. Los implantes ensamblados a pilares prefabricados mostraron los mejores resultados por sus bajos valores de tamaño de interfase y la baja variabilidad de los datos a nivel intragrupo.

En este estudio se encontró que el tamaño de la interfase varía entre 2,3 μm y 20,9 μm . Estos valores pueden ser comparados con los hallazgos de Hamilton *et al* (15), quienes evaluaron la adaptación a nivel de la interfase implante-pilar comparando pilares personalizados y prefabricados, para lo cual utilizaron MEB, encontrando que con pilares CAD/CAM el tamaño de la interfase fue de 48,7 $\mu\text{m} \pm 6,0$, y con pilares prefabricados 4 $\mu\text{m} \pm 1,2$. Smith *et al* (16) evaluaron mediante estereomicroscopio el tamaño de la interfase implante-pilar utilizando pilares elaborados en titanio y zirconia; hallaron que el tamaño de la interfase con pilares en zirconia fue de 7,4 μm a 26,7 μm , mientras que, en aquellos ensamblados a pilares en titanio, oscilaba entre 2 μm a 6,6 μm . Se puede observar que los tamaños de interfase encontrados son similares con estos estudios.

La bacteria *E. coli* fue empleada porque este microorganismo permite realizar los ensayos en medio aerobio y sus condiciones de crecimiento no son exigentes. Además, este microorganismo ha sido utilizado satisfactoriamente en diversos estudios similares(6, 7).

Los resultados de microfiltración son similares a lo encontrado por Jansen *et al* (8), quienes evaluaron la filtración *E. coli* en implantes con conexión externa hexagonal, conexión interna hexagonal, cónica y trilobulada, donde pudieron concluir que ningún sistema de implantes fue eficaz evitando el paso de microorganismos. Smith *et al* (16) evaluaron la filtración en implantes NobelBiocare® de conexión interna hexagonal con pilares en titanio y zirconia, encontrando que todos presentaron filtración de microorganismos.

En el presente estudio se encontró presencia de filtración de *E. coli* en todos los complejos implante-pilar tanto a nivel de la plataforma del implante, como del tornillo de fijación, registrando diferentes niveles de absorbancia y mostrando que todos los grupos presentaron filtración (20, 21). Este hecho puede relacionarse con lo encontrado respecto al tamaño de la interfase, teniendo en cuenta que *E. coli* es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, con un tamaño promedio de 1,1-1,5 μm de diámetro y 2-6 μm de largo (22), lo que le permite colonizar micro-espacios como la interfase implante pilar.

De modo que podemos concluir que el tamaño de la interfase implante-pilar fue diferente en los tres grupos de estudio, siendo el menor para el grupo Provide con 3,68 μm y el mayor para el grupo Encode titanio con 10,42 μm . La filtración de *E. coli* no presentó diferencias significativas entre los grupos.

Dentro de las limitaciones de este estudio se encuentra que la realización del ensayo de carga dinámica en un espacio y tiempo diferente al ensayo de micro-filtración, dado que el dispositivo no se encontraba diseñado para generar estas condiciones. Por otro lado, el tamaño de la muestra utilizado fue el mínimo requerido y la metodología para la evaluación de la microfiltración fue semicuantitativa.

Por lo tanto, se sugiere aumentar el tamaño de la muestra, mejorar las condiciones de carga dinámica adaptándolo a un medio húmedo o con las condiciones para crecimiento bacteriano, utilizar una metodología para el conteo de bacterias de tipo cuantitativo que permita la obtención de datos más precisos. Además, se sugiere evaluar la conexión interna cónica.

Referencias

1. Assenza B, Tripodi D, Scarano A, *et al.* Bacterial Leakage in Implants With Different Implant – Abutment Connections : An In Vitro Study. *J Periodontol* 2012; 83(4): 491–497.
2. Cristina D, Alves C, Sérgio P, *et al.* In Vitro Microbiological Analysis of Bacterial Seal at the Implant- Abutment Interface Using Two Morse Tape Implant Models. *Braz Dent J* 2014; 25(1): 48–53.
3. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, *et al.* Fluids and Microbial Penetration in the internal part of cement-retained versus screw retained implant-abutment connections. *J pperiodontology* 2001; 72(9): 1146–1150.
4. Narang P, Arora A, Bhandari A. Biomechanics of implant abutment connection : A review. *Indian J Stomalogy* 2011; 2(2): 113–116.
5. Tesmer M, Wallet S, Koutouzis T, *et al.* Bacterial Colonization of the Dental Implant Fixture–Abutment Interface: An In Vitro Study. *J Periodontol* [en línea] 2009 [fecha de consulta: 11 de agosto de 2015]; 80(12): 1991–1997. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2009.090178>
6. Koutouzis T, Wallet S, Calderon N, *et al.* Bacterial Colonization of the Implant–Abutment Interface Using an In Vitro Dynamic Loading Model. *J Periodontol* [en línea] 2010 [fecha de consulta: 2 de noviembre de 2014]; 82(4): 613–618. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2010.100415>
7. Koutouzis T, Mesia R, Calderon N, *et al.* The Effect of Dynamic Loading on Bacterial Colonization of the Dental Implant Fixture–Abutment Interface: An In Vitro Study. *J Oral Implantol* [en línea] 2014 [fecha de consulta: 2 de noviembre de 2014]; 40(4): 432–437. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1563/AAID-JOIID-11-00207>

8. Jansen VK, Conrads G, Richter E-J. Microbial Leakage and Marginal Fit of the Implant-Abutment Interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* [en línea] 1997 [fecha de consulta: 2 de noviembre de 2014]; 12(4): 1. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9274082>
9. Baggi L, Di Girolamo M, Mirisola C, *et al.* Microbiological evaluation of bacterial and mycotic seal in implant systems with different implant-abutment interfaces and closing torque values. *Implant Dent* [en línea] 2013 [fecha de consulta: 2 de noviembre de 2014]; 22(4): 344–350. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23782848>
10. Harder S, Dimaczek B, Açil Y, *et al.* Molecular leakage at implant-abutment connection — in vitro investigation of tightness of internal conical implant-abutment connections against endotoxin penetration. *Clin Oral Investig* 2010; 14: 427–432.
11. Kapos T, Ashy MLM, Gallucci DGO, Dent M. Computer-Aided Design and Computer-Assisted Manufacturing in Prosthetic Implant Dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implant* 2009; 24(Suppl):110-117).
12. Stimmelmayer M, Edelhoff D, Güth J-F, *et al.* Wear at the titanium-titanium and the titanium-zirconia implant-abutment interface: a comparative in vitro study. *Dent Mater* [en línea] 2012 [fecha de consulta: 11 de agosto de 2014]; 28(12): 1215–1220. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23021964>
13. Cavusoglu Y, Akça K, Gürbüz R, *et al.* A pilot study of joint stability at the zirconium or titanium abutment/titanium implant interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* [en línea] 2014 [fecha de consulta: 25 de agosto de 2014]; 29(2): 338–343. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24683559>
14. Sarmiento Delgado ML. Evaluación de la Estabilidad de la Interfase Implante - Pilar en Pilares de Titanio y Zirconia. *Repositorio Universidad Nacional de Colombia*. 2014.
15. Hamilton A, Judge RB, Palamara JE, *et al.* Evaluation of the fit of CAD/CAM abutments. *Int J Prosthodont* [en línea] 2013 [fecha de consulta: 11 de agosto de 2014]; 26(4): 370–380. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23837169>
16. Smith NA, 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. *J Prosthet Dent* [en línea] 2014 [fecha de consulta: 11 de agosto de 2018]; 112(3): 561–567. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022391314000341>
17. International Standard Organization. ISO 14801. Dentistry-Implants Dynamic fatigue test for endosseous dental implants. *Switzerland*. 2007.

18. Alves DCC, de Carvalho PSP, Elias CN, *et al.* In vitro analysis of the microbiological sealing of tapered implants after mechanical cycling. *Clin Oral Investig* [en línea] 2016 [fecha de consulta: 11 de agosto de 2014]; 20(9): 2437–2445. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00784-016-1744-0>
19. Kano SC. A classification system to measure the implant-abutment microgap. *Int J Oral Maxillofac Implant* 2007; 22(6): 879–886.
20. Sato S, Pedrazzi V, Teixeira W, *et al.* Microleakage into and from Two-stage implants: An In Vitro Comparative Study. *Int J oral Maxillofac Implant* 2011; 26(1): 56–62.
21. de Oliveira GR, Olate S, Pozzer L, *et al.* Bacterial contamination along implant-abutment interface in external and internal-hex dental implants. *Int J Clin Exp Med* [en línea] 2014 [fecha de consulta: 11 de agosto de 2014]; 7(3): 580–585. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3992396&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
22. Silva-Neto JP da, Prudente MS, Prado A, *et al.* Micro-leakage at the implant-abutment interface with different tightening torques in vitro. *J Appl oral Sci* 2012; 20(5): 581–587.