

RAPPORTO DI PROVA N° 1 /2008	
Titolo:	
ANALISI ISTOLOGICA DI BIOPSIA OSSEA	
Committente :	Ditta Allmed s.r.l. Via Nobel, 33 20035 Lissone (MI)
Materiale in esame :	biopsia ossea
Responsabile Laboratorio Biomateriali:	Dott. Antonietta M. Gatti
Firma	
Data	29/07/08

Nota:

I risultati sono da riferirsi solo al materiale esaminato e per il tipo di applicazione richiesta.
Il Committente si impegna a riprodurre integralmente il presente rapporto di prova.
La riproduzione parziale deve essere autorizzata dal Laboratorio Biomateriali.

INDEX

1	INTRODUZIONE.....	3
2	MATERIALI E METODI	3
2.1	CAMPIONI DA ESAMINARE:	3
2.2	PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER L'ANALISI ISTOLOGICA	3
2.2.1	<i>Analisi istologica</i>	3
3	RISULTATI ANALISI ISTOLOGICA.....	4
4	DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	8
5	PARTECIPANTI ALLA PROVA E LORO FUNZIONI	8

1 INTRODUZIONE

Nel presente rapporto, effettuato mediante analisi istologica, si è valutata la biopsia ossea da un alveolo post-estrattivo, con difetto osseo nel mascellare superiore in paziente con parodontite refrattaria., nel cui sito è stato posto del biomateriale :Alos blocco.

Il periodo trascorso tra l'innesto di Alos blocco ed il prelievo con carotaggio è stato di 120 gg.

2 MATERIALI E METODI

2.1 CAMPIONI DA ESAMINARE:

Campione : *carota bioptica ossea post estrazione dopo trattamento rigenerativo osseo con biomateriale Alos blocco (Allmed srl, Lissone Milano)*

Dimensione del campione: *3x1 mm*

Numero di campioni forniti: *1*

Provenienza: *Dott. Francesco Saverio Martelli*

Data di ricevimento: *17/06/08*

2.2 PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER L'ANALISI ISTOLOGICA E SEM

La biopsia ossea è giunta presso il nostro Laboratorio in una provetta da 15 ml immersa in liquido fissativo. Si è quindi proceduto alla processazione del campione mediante ulteriore fissazione in formalina tamponata, disidratazione per mezzo delle seguenti soluzioni di etanolo 60%, 70%, 80%, 95% e etanolo assoluto. Dopo la disidratazione, la biopsia veniva trattata per 10 ore con una miscela (1:1) di alcool assoluto/metacrilato di metile (MMA) e per una notte col solo MMA. La biopsia è stata poi trattata per 24 ore con la soluzione infiltrante (3 cambi consecutivi), è stata poi posta in un contenitore in polietilene a fondo piatto contenente la soluzione polimerizzante, chiuso ermeticamente e lasciato polimerizzare in un bagno di acqua, a 4°C per 36 ore.

Il blocco di metacrilato è stato poi sezionato con un microtomo a lama circolare diamantata (Mod.Accutom-2, Struers) in modo da ottenere sezioni longitudinali della biopsia.

Le sezioni ottenute sono state trattate per l'analisi istologica .

2.2.1 Analisi istologica

La sezione è stata incollata con resina (Technovit 3100) su vetrino e dopo polimerizzazione della resina levigata con carte abrasive a grana con dimensione decrescente mediante lappatura con strumento (LS-1, Remet) e impiegando spray di pasta diamantate con la stessa scala di

spessore (6 μm , 3 μm , 1 μm) per ottenere uno spessore finale di 60 μm . La sezione ottenuta veniva lavata con acqua bidistillata, colorata per 20 minuti in una soluzione di 1% di Blu di Toluidina (Fluka) in stufa a 60°C, lavata con acqua bidistillata, controcolorata mediante immersione in picro-fucsina di Van Gieson a temperatura ambiente per 4 minuti. Al termine della colorazione la sezione è stata lavata con etanolo assoluto e asciugata all'aria e coperta con vetrino coprioggetto mediante montante acquoso (Eukitt).

3 RISULTATI ANALISI ISTOLOGICA

L'analisi istologica ha messo in evidenza che la biopsia conteneva osso neoformato, come è possibile vedere dalle immagini in fig. 1, 2 e 3, a diversi ingrandimenti ottenute da osservazioni con microscopio ottico a trasmissione.

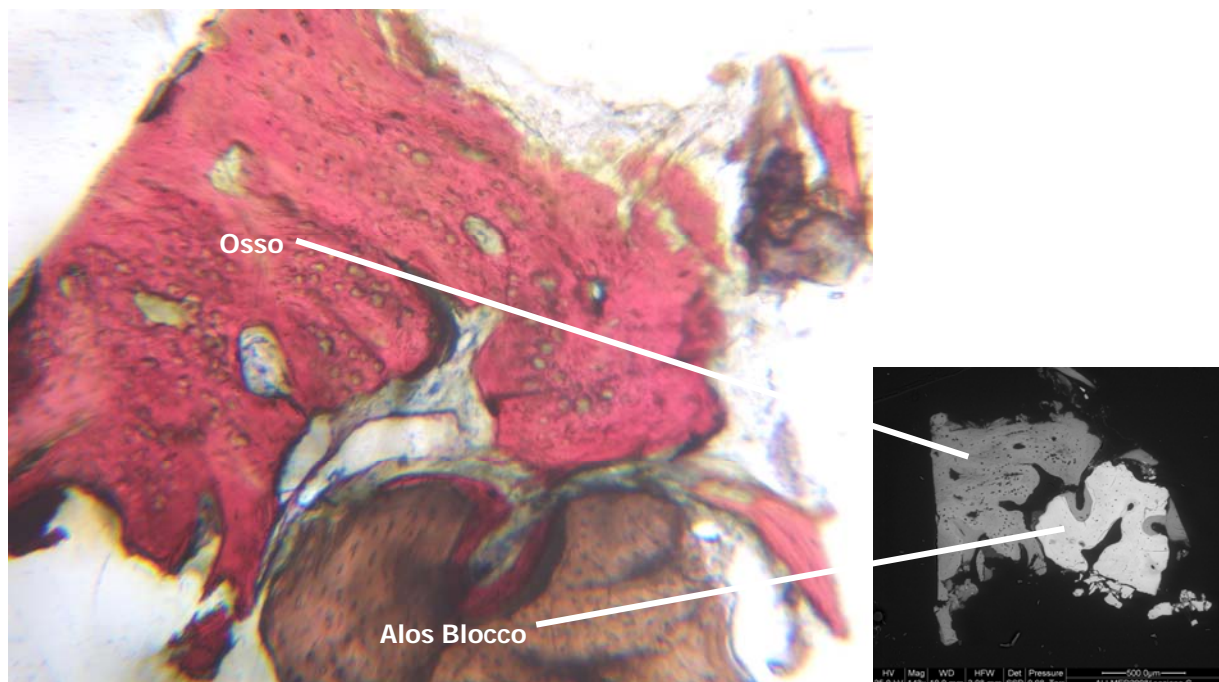


Fig.1: L'immagine a sx (ingrandimento 2,5 X) mostra la sezione di biopsia ossea dove è ben evidente la zona ossea e il biomateriale, come dimostra anche l'immagine a dx effettuata con microscopio elettronico a scansione.(SEM).

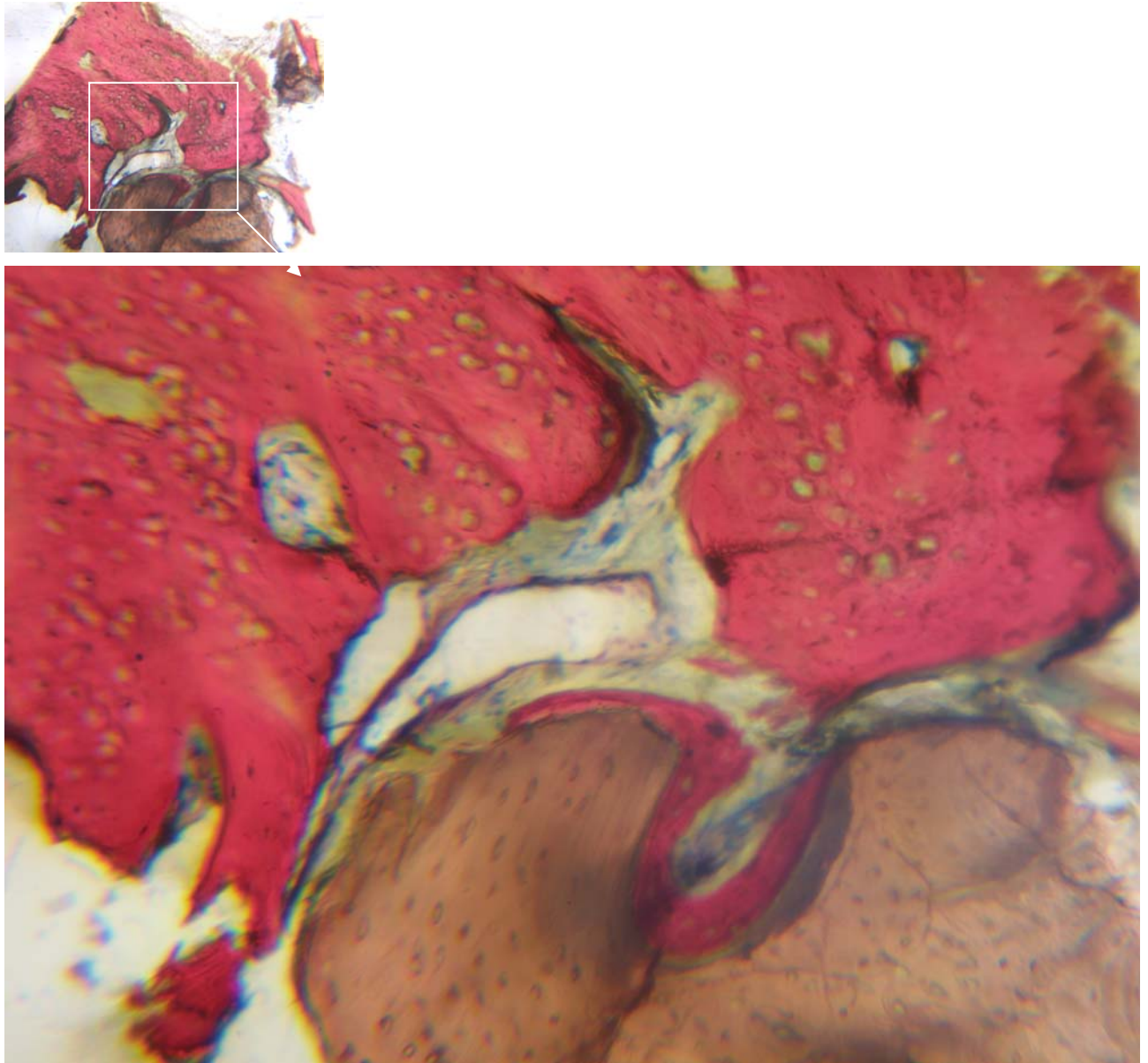


Fig.2: Particolare dell'immagine fig.1 che mostra l'area di contatto tra l'osso e il biomateriale colonizzato da osteociti (Ingrandimento 16X).

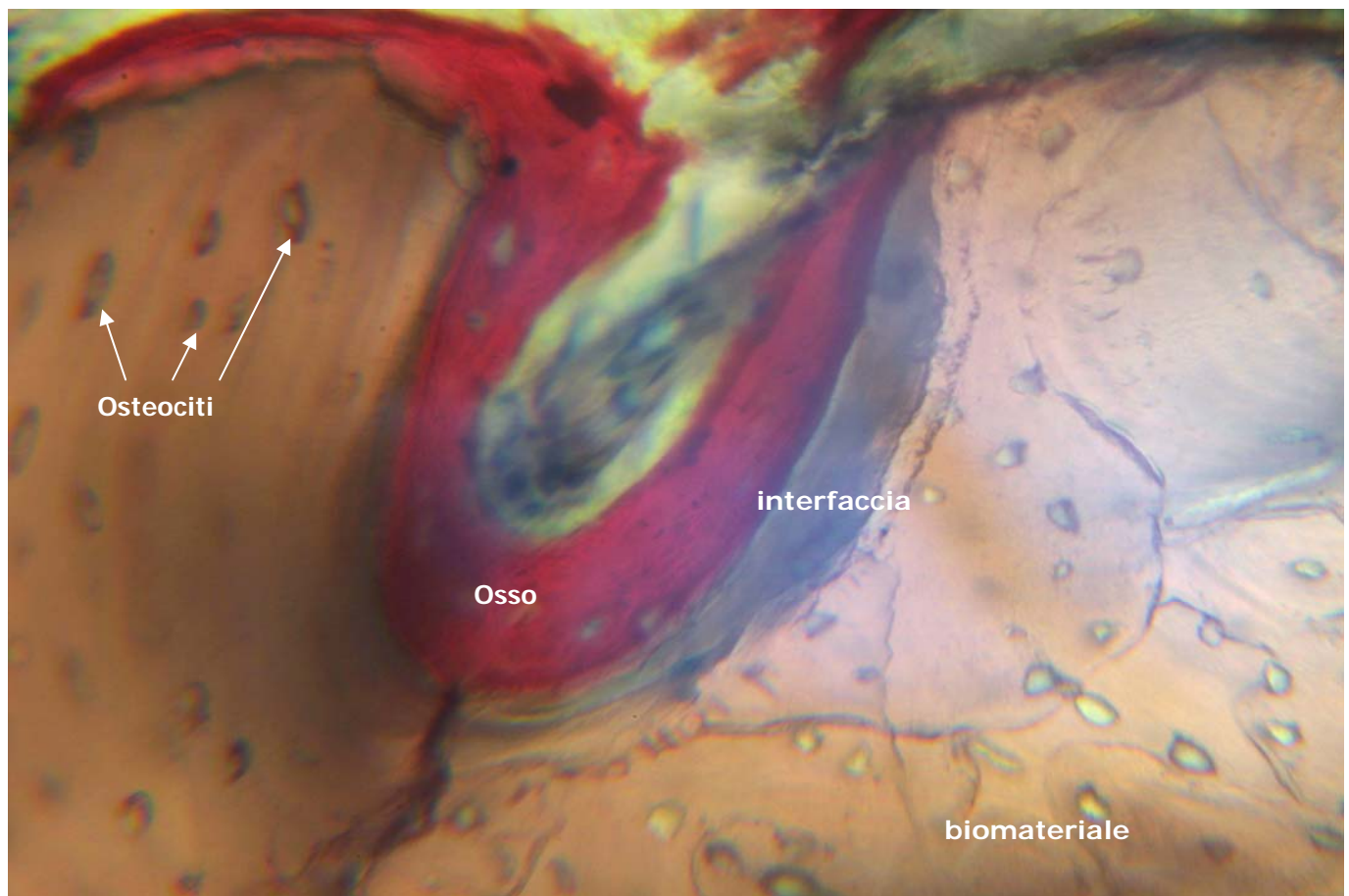
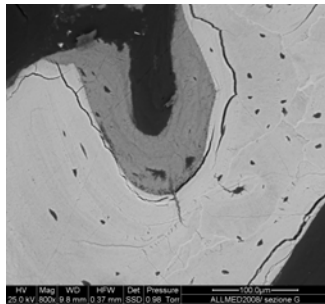


Fig.3 : Immagine che mette in evidenza il biomateriale con l'infiltrato osteocitario , l'area di contatto e l'osso. (Ingrandimento 25X).

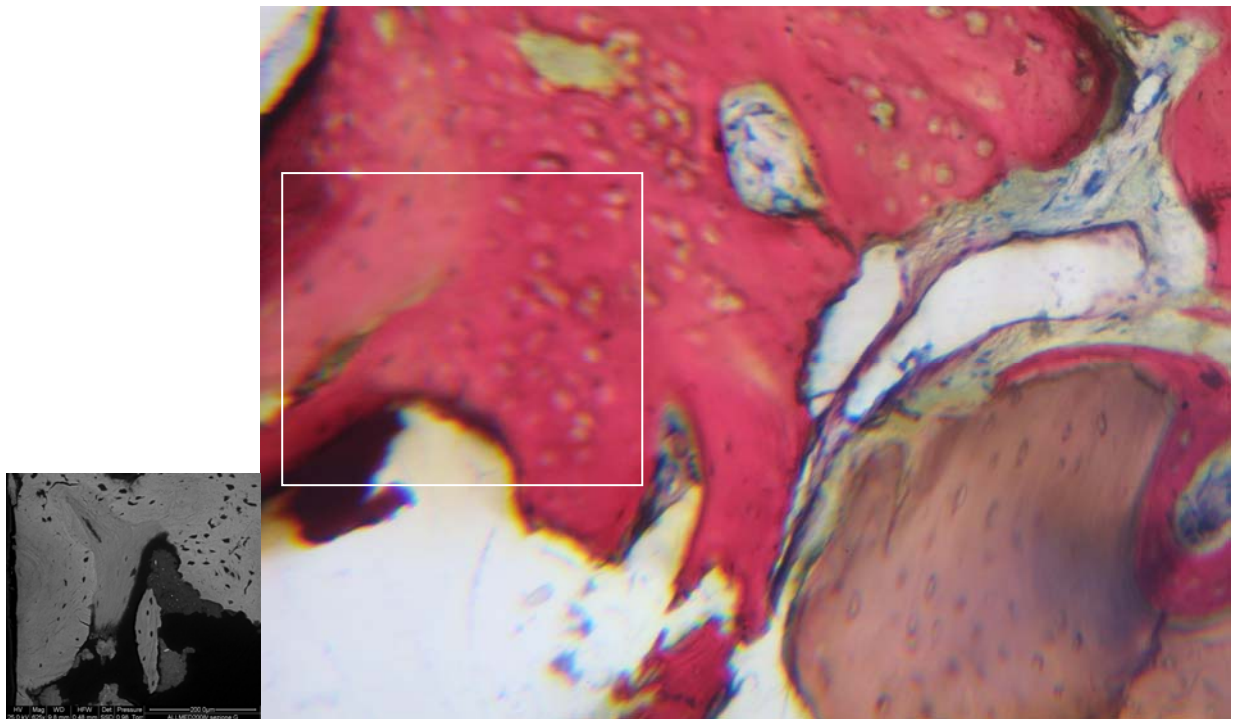


Fig.4 : Nel riquadro dell'immagine di sx si evidenzia una area di osso neoformato (2,5X) ,

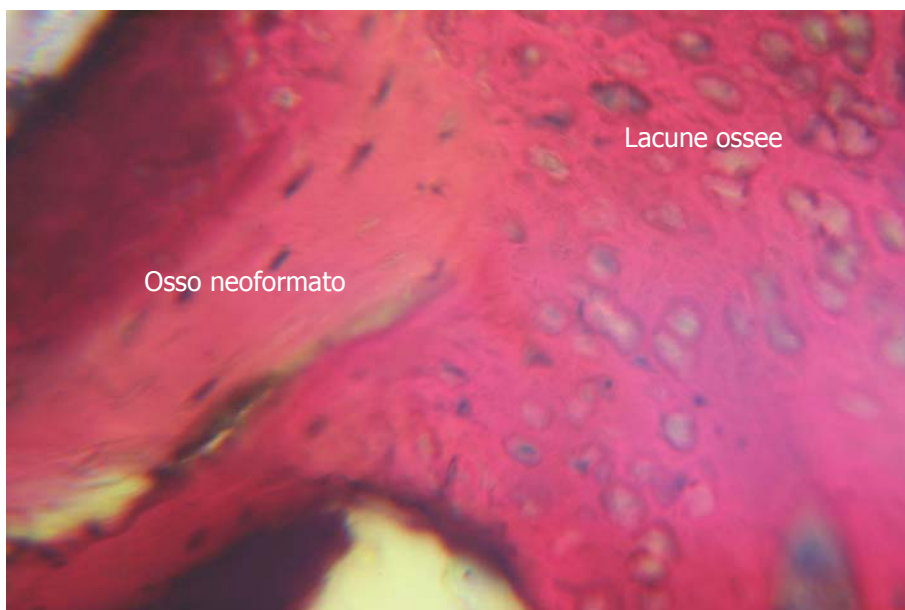


Fig.5 : l'immagine mostra il tessuto preesistente con le lacune ossee e osso neoformato .
(Ingrandimento 20X) ,

4 Discussione e conclusioni

L'analisi istologica della biopsia colorata con picro-fucsina, mostra chiaramente che nella tasca ossea vi è osso neoformato, ben strutturato.

Le strutture osteoniche contenenti osteociti sono ben evidenti in fig. 2 e 3, questi hanno colonizzato lo spazio che era stato riempito con Alos pasta/blocco.

Il processo osteogenico ha portato alla neoformazione ossea partendo e dal muro osseo alveolare e dalla superficie del biomateriale.

Un residuo del materiale è ancora visibile in alcune zone. La Fig.3 mostra infatti una zona ove è ancora visibile l'interfaccia osso-biomateriale. In queste piccole zone che il graduale riassorbimento osseo ha lasciato spazio alla mineralizzazione dell'osso con conseguente graduale sostituzione del biomateriale. In conclusione si può affermare che l'inserimento di Alos Blocco nel difetto alveolare, stimola la rigenerazione ossea in breve tempo con conseguente formazione di nuovo tessuto mineralizzato che col tempo è in grado di colmare completamente il difetto.

5 Partecipanti alla prova e loro funzioni

1. Dott. Antonietta M. Gatti

Qualifica professionale: Bioingegnere, Responsabile del Laboratorio e coordinatore delle attività di ricerca, stesura rapporto.

2. Dott. Roberta Salvatori

Qualifica professionale: Tecnico di laboratorio biomedico, Funzione: preparatore dei campioni per l'analisi

3. Dott. Andrea Gambarelli:

Qualifica professionale: Biologo. Funzione: analisi SEM.

Modena, 29/07/08

Il responsabile

Dott.ssa Antonietta M Gatti