

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA  
MESTRADO PROFISSIONAL EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

LORRANY DE BARROS DEL PIERO

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DOS SÍTIOS PERIODONTAIS E PERI-  
IMPLANTARES DE PACIENTES PERIODONTALMENTE TRATADOS**

VITÓRIA

2020

LORRANY DE BARROS DEL PIERO

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DOS SÍTIOS PERIODONTAIS E PERI-  
IMPLANTARES DE PACIENTES PERIODONTALMENTE TRATADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa

Coorientadoras: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Stefânia Carvalho Kano e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Selva Maria Gonçalves Guerra

VITÓRIA

2020

LORRANY DE BARROS DEL PIERO

**PERFIL MICROBIOLÓGICO DOS SÍTIOS PERIODONTAIS E PERI-  
IMPLANTARES DE PACIENTES PERIODONTALMENTE TRATADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Clínica Odontológica.

Aprovada em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

COMISSÃO EXAMINADORA:

---

Prof.Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa

Universidade Federal do Espírito Santo - Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Stefânia Carvalho Kano

Universidade Federal do Espírito Santo - Coorientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Ferreira Nunes

Universidade Federal do Espírito Santo - Examinadora Interna

---

Prof. Dr . Fausto Frizzera Borges Filho

Universidade Federal do Espírito Santo - Examinadora Externa

Dedico a todas as pessoas que acreditam que podem fazer alguma coisa, por menor que seja, para melhorar o mundo em que vivemos. Em especial, aos meus familiares, exemplo de luta e determinação.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, que nunca me desamparou, provendo-me de sabedoria, saúde e discernimento para errar menos. Pelo auxílio em todos os momentos, por ter me dado força para superar as dificuldades encontradas e pela conclusão desta etapa em minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica – Mestrado Profissional em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a conclusão desta jornada.

Em especial, ao meu Orientador Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa que não mediu esforços para me proporcionar o que de melhor ele tinha para me oferecer, seu conhecimento, e por toda paciência que teve comigo e com a nossa pesquisa diante dos problemas e dificuldades, fazendo o seu melhor para solucioná-los. Obrigada por acreditar em nosso trabalho e por ser um exemplo de profissional, que se dedica inteiramente à docência e à pesquisa. Obrigado por ter sido muito mais que um professor, um grande amigo e praticamente um pai e pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções, incentivos e todo ensinamento e principalmente pelo colo durante os momentos de crise.

A minha Coorientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Stefânia Carvalho Kano por sua participação em toda a elaboração e execução da pesquisa, por seu carinho e paciência, e principalmente pelo seu apoio e sua garra para concretizarmos este projeto em tempo hábil, sem sua ajuda tudo teria sido imensamente mais difícil. Jamais irei me esquecer do seu abraço e da sua presença no momento mais difícil da minha vida. Serei eternamente grata.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica e Coorientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Selva Maria Gonçalves Guerra, obrigada pelo seu apoio constante durante as reuniões com os mestrandos do Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica.

Aos funcionários da Ufes e do Instituto de Odontologia da Ufes (Ioufes), pela parceria natural durante esta minha jornada, em especial à Regina Lucia Salles, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, uma pessoa admirável e sempre muito solícita em tudo o que precisei.

Aos Professores Dr<sup>a</sup>. Magda Feres, Dr<sup>a</sup>. Luciene Figueiredo, Dr. Marcelo De Faveri e a todos os demais professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade de Guarulhos (UnG), Guarulhos, São Paulo, que proporcionaram conhecimentos e experiências durante o convênio Ufes/USP/UnG da CAPES e pelo apoio em aceitar a realização dos testes microbiológicos do meu projeto.

À Izilvania Maroly Quinderé Barreto, pela oportunidade ao me receber com muito zelo no Laboratório de Pesquisa em Odontologia II, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade Guarulhos (UnG) em Guarulhos, São Paulo.

Aos colegas de curso; que todos tenhamos sucesso em nossos sonhos, em especial, agradeço às colegas Emanuely Ronconi da Fonseca e Marjorie das Posses Bridi, por colaborarem com a pesquisa e por terem sido fundamentais na sua conclusão; e Ariane Mendonça, Gabriela Dondone e Paula Braga, amigas que o mestrado me deu.

A todos os pacientes queridos, pois sem eles seria quase impossível este trabalho.

À minha madrinha Érica da Silva Ronconi, por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis, me apoiando, me incentivando e me dando forças para não desanimar, e principalmente por fazer jus ao posto de madrinha, uma segunda mãe.

A minha família, pois sem eles nada na minha vida teria sentido. Aos meus pais, Carlos Alberto da Silva e Valdirene Sirley de Barros Silva que fizeram de mim quem eu sou, por me ensinarem a valorizar o que realmente vale a pena. Às minhas irmãs Mirella de Barros Silva Negrelli e Nágilla Karla de Barros Silva, pela eterna amizade e união.

Agradeço a todas as pessoas que participaram na realização deste trabalho e para a conclusão deste Mestrado, direta ou indiretamente.

## RESUMO

Evidências relacionadas à microbiota oral de indivíduos tratados com implantes osseointegrados tem sido bem documentada nos últimos anos, entretanto, permanecem inconclusivas. **Objetivo:** Avaliar a microbiota peri-implantar e subgingival de pacientes reabilitados com implantes no Curso de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo. **Material e Métodos:** Estudo analítico observacional transversal constituído por 20 pacientes reabilitados com implantes. Os parâmetros clínicos profundidade de sondagem, nível de inserção clínico, sangramento à sondagem e placa visível foram utilizados. Amostras do biofilme de dentes e implantes do mesmo indivíduo foram avaliadas por meio da técnica de *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*. O nível de significância adotado foi de 5% e os testes Qui-quadrado, Exato de Fisher, Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Duncan e o Binomial para duas proporções foram exigidos para análise. **Resultados:** Placa visível nos dentes foi o único parâmetro clínico que se associou significativamente com 33 das 40 espécies bacterianas. A microbiota dos dentes proximal e distal foi significativa e com destaque para 18 espécies bacterianas. Da microbiota total dos dentes, 21 foram significantes, sendo as espécies *P. gingivalis*, *F. nucleatum ssp. vincentii*, *C. ochraceae*, *A. naeslundii I*, *N. mucosa* e *S. noxia* alcançando as de maiores proporções. O complexo laranja em relação a todos os complexos juntos foi o de maior porcentagem de bactérias com 31.22% nos implantes, seguido do dente distal (31.19%) e do dente proximal (30.19%). **Conclusão:** A microbiota dos implantes foi semelhante aos dentes, porém nos dentes foram encontradas as maiores proporções de bactérias.

Palavras chave: Bactérias; Microbiota subgingival; Implantes dentários; Doença periodontal.

## ABSTRACT

Evidence related to oral microbiota from individuals treated with osseointegrated implants has been well documented in recent years, however still remains inconclusive. **Objective:** To evaluate the periimplantar and subgingival microbiota of patients rehabilitated with dental implants at the Dental School of the Federal University of Espírito Santo. **Methodology:** Cross-sectional analytical study consisted of 20 patients rehabilitated with dental implants. Probing depth, clinical attachment level, bleeding on probing and visible plaque were measured. Biofilm samples from periodontal and periimplant sites from the same patient were evaluated microbiologically using the Checkerboard DNA-DNA Hybridization technique. The significance level adopted was 5% and Qui-square, Fisher's Exact, Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Duncan's tests and the Binomial of two proportions were required to statistical analysis. **Results:** Teeth's visible plaque associated significantly with 33 out of 40 bacterial species. The microbiota of distal and proximal teeth was significant and prominently to 18 bacterial species. From total microbiota's teeth 21 species were significant and *P. gingivalis*, *F. nucleatum ssp. vincentii*, *C. ochraceae*, *A. naeslundii I*, *N. mucosa*, and *S. noxia* reached the highest proportion. In the microbiota of implants, the highest proportions of bacteria were for *V. parvula* and *M. mucosa*. The orange complex was the highest proportion (31.22%) found at the implants from all microbial complex, followed by distal (31.19%) and proximal teeth (30.19%). **Conclusion:** The dental implants's microbiota was similar to the teeth, but in the teeth, the highest proportions of bacteria were found.

Keywords: Bacteria; Subgingival microbiota; Dental implants; Periodontal disease

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos implantes e dentes avaliados.....	49
Tabela 2 – Relação das 40 espécies bacterianas usadas para a obtenção das sondas de DNA	54
Tabela 3 – Conversão dos escores em valores numéricos para cada microrganismo avaliado nas amostras de biofilme bacteriano obtidas dos implantes e dos dentes, <i>in vivo</i> , pela técnica Checkerboard DNA-DNA Hybridization.....	56
Tabela 4 – Descrição socioeconômica e de hábitos.....	58
Tabela 5 – Associação da profundidade de sondagem e nível de inserção clínico em cada região e no total.....	59
Tabela 6 – Comparação das quantidades de Índice de Placa Visível e Índice de Sangramento à Sondagem entre regiões .....	60
Tabela 7 – Associação das bactérias presentes e relacionadas a profundidade de sondagem entre as regiões.....	61
.	
Tabela 8 – Associação das bactérias presentes e nos complexos microbianos com nível de inserção clínico entre as regiões.....	64
Tabela 9 – Comparação das quantidades de Índice de Placa Visível relacionado com cada bactéria do complexo microbiano entre as regiões.	67
.	
Tabela 10– Comparação das quantidades de sangramento a sondagem relacionado com cada bactéria dos complexos microbianos entre as regiões.....	71

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Comparação das porcentagens de bactérias com categoria igual ou acima de 3 entre as regiões de implante, dente proximal e dente distal.	75
Gráfico 2 - Comparação das porcentagens de bactérias com categoria igual ou acima de 3 entre as regiões de implante e dentes proximal e distal agrupados.....	76
Gráfico 3 - Porcentagens de bactérias por complexo e região.....	78

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática dos complexos microbianos encontrados em placas subgengivais .....	25
Figura 2 - Representação gráfica do "Minislot" - Resumo da preparação e deposição das amostras clínicas de biofilme subgengival bacteriano (Técnica do <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i> ) .....	51
Figura 3 - Minislot para as amostras do biofilme subgengival bacteriano .....	51
Figura 4 - Representação gráfica do "Miniblotter 45" e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival bacteriano .....	53
Figura 5 - Manipulação das amostras de biofilme subgengival bacteriano no "Miniblotter 45" .....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS

*A. actinomycetemcomitans* - *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; atual  
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

*A. naeslundii* - *Actinomyces naeslundii*

*A. viscosus* - *Actinomyces viscosus*

*B. forsythus* - *Bacteroides forsythus*; atual *Tannerella forsythia*

*C. rectus* - *Campylobacter rectus*

*C.gingivalis* - *Capnocytophaga gingivalis*

*C.ochracea* - *Capnocytophaga ochracea*

*E. corrodens* - *Eikenella corrodens*

*E.nodatum* - *Eubacterium nodatum*

*F. nucleatum* - *Fusobacterium nucleatum*

*F.alocis* - *Filifactor alocis*

*F.fastidiosum* - *Fretibacterium fastidiosum*

*Fusobacterium spp.* - *Fusobacterium species*

*N.mucosa* - *Neisseria mucosa*

*P. gingivalis* - *Porphyromonas gingivalis*

*P. intermedia* - *Prevotella intermedia*

*P. nigrescens* - *Prevotella nigrescens*

*P.micra* - *Parvimonas micra*

*P.micros* - *Peptostreptococcus micros*

*S. aureus* - *Staphylococcus aureus*

*S. mitis* - *Streptococcus mitis*

*S. mutans - Streptococcus mutans*

*S. sanguis - Streptococcus sanguis*

*S.gordonii - Streptococcus gordonii*

*S.intermedius - Staphylococcus intermedius*

*S.oralis- Streptococcus oralis*

*S.sanguinis - Streptococcus sanguinis*

*T. denticola - Treponema denticola*

*T. forsythia -Tannerella forsythia*

*T.maltophilum - Treponema maltophilum*

*V. díspar - Veillonella díspar*

*V. parvula - Veillonella parvula*

## LISTA DE SIGLAS

ACRF - Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa

CCS - Centro de Ciências da Saúde

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CPO-D - índice de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados

DNA - Ácido desoxirribonucleico

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

GCTP - Grupo com terapia periodontal

GSTP - Grupo sem terapia periodontal

IL-1 $\beta$  - Interleucina 1 beta

Ioufes - Instituto de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo

IPV - Índice de Placa Visível

ISG - Índice de Sangramento Gengival Marginal

ISS - Índice de Sangramento à Sondagem

LBDP - Lorrany de Barros Del Piero

Luccar - Laboratório de Ultraestrutura e Morfologia Carlos Alberto Redins

N - Tamanho da amostra

NaOH - Hidróxido de sódio

NIC - Nível de Inserção Clínico

OMS - Organização Mundial da Saúde

PS - Profundidade de Bolsa à Sondagem

PCR - Reação em cadeia de polimerase

rRNA - Ácido ribonucleico ribossômico

SCK - Stefânia Carvalho Kano

SS - Sangramento à Sondagem

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa

Tris-HCL - Tris-Hidrocloreto

Ufes - Universidade Federal do Espírito Santo

UnG - Universidade de Guarulhos

USP - Universidade de São Paulo

## APÊNDICES

Apêndice A - Questionário de coleta de dados.....	91
Apêndice B - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) .....	93
Apêndice C - Odontograma .....	96
Apêndice D - Periodontograma.....	97

## ANEXOS

Anexo A - Parecer do Comitê de Ética.....	98
Anexo B - Certificado de Calibração da Pipeta.....	102
Anexo C - Comparação das porcentagens de bactérias com categoria igual ou acima de 3 entre as regiões de implante, dente proximal e dente distal....	104
Anexo D - Comparação das porcentagens de bactérias com categoria igual ou acima de 3 entre as regiões de implante e dentes (proximal e distal) .....	105
Anexo E - Porcentagens de bactérias por complexo e região.....	106

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	25
2.1 PLACA DENTAL E NOVOS PATÓGENOS.....	25
2.2 FATORES DE RISCO E CLASSIFICAÇÃO PARA DOENÇAS PERI- IMPLANTARES.....	28
2.3 ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS DO BIOFILME PERI-IMPLANTAR.	32
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	43
3.1 OBJETIVO GERAL.....	43
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	43
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	44
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO/CASUÍSTICA.....	44
4.2 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	45
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	45
4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	46
4.5 COLETA DE DADOS.....	47
<b>4.5.1 Avaliação clínica dentária</b> .....	47
<b>4.5.2 Avaliação clínica peri-implantar e periodontal</b> .....	48
4.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	48
<b>4.6.1 Seleção dos sítios dentários e peri-implantares e coleta de amostras</b> .....	48
<b>4.6.2 Checkerboard DNA-DNA Hybridization - Extração do DNA bacteriano dos biofilmes</b> .....	50

<b>4.6.3 Hibridização das membranas com as sondas de DNA.....</b>	<b>52</b>
<b>4.6.4 Detecção das espécies bacterianas.....</b>	<b>55</b>
<b>4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>	<b>56</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>58</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>79</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>86</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>87</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>91</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>98</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Periodontite e peri-implantite são as duas principais doenças orais relacionadas com a prática periodontal e são consideradas doenças inflamatórias polimicrobianas que levam à destruição dos tecidos de suporte do dente e do implante, e sem tratamento, podem resultar na perda do dente e do implante (LASSERRE; BRECX; TOMA, 2018). As principais doenças peri-implantares são a mucosite peri-implantar e a peri-implantite. A mucosite peri-implantar é uma lesão inflamatória da mucosa ao redor de um implante sem perda de suporte ósseo alveolar. O sinal clínico desta inflamação é o sangramento à sondagem, enquanto outros sinais adicionais podem estar incluídos, tais como, eritema, edema e supuração (HEITZ-MAYFIELD; SALVI, 2018). A peri-implantite é uma lesão da mucosa alveolar associada frequentemente com supuração, bolsas profundas, acompanhada de perda óssea alveolar marginal ao redor do implante (LINDHE; MEYLE, 2008). Estudos epidemiológicos sugerem que a periodontite é a sexta condição mais prevalente no mundo (MARCENES et al., 2013), por outro lado, a prevalência das doenças infecciosas peri-implantares pode atingir até 80% para mucosite peri-implantar e 56% para peri-implantite (ROMANOS; WEITZ, 2012).

Os principais fatores de risco associados com as doenças peri-implantares são: higiene oral deficiente, histórico de periodontite, diabetes, tabagismo, consumo de álcool e traços genéticos. As melhores evidências estão associadas com higiene oral deficiente, histórico de periodontite e tabagismo, enquanto que a associação com outros fatores é menos estabelecida (LINDHE; MEYLE, 2008).

Todas as estruturas encontradas na cavidade bucal são permanentemente banhadas por saliva que contém bilhões de microrganismos (MARSH et al., 2016), e existem condições próprias favoráveis ao desenvolvimento desses microrganismos, tais como as proteínas salivares, que permitem aderência às superfícies bióticas e abióticas e formam biofilmes orais. Assim, mecanismos de limpeza que ocorrem durante o *turnover* do epitélio oral é um meio natural efetivo da redução da adesão microbiana. Porém, este fenômeno protetor não ocorre sobre as superfícies dentárias ou dos implantes, onde os biofilmes bacterianos

podem se acumular no sulco periodontal ou peri-implantar e assim estabelecer contato com o epitélio gengival (LASSERRE; BRECX; TOMA, 2018). Tanto os dentes naturais quanto à superfície dos implantes dentários abrigam um biofilme bacteriano da cavidade oral, no qual ocorre um padrão de colonização cuja maturação é mediada por múltiplos fatores, entre estes, a morfologia tecidual do implante e estrutura de sua superfície, os quais podem facilitar a susceptibilidade às infecções. Essas relações tornam difíceis compreender a natureza dos microbiomas orais desses indivíduos com relação às bactérias vivas neste biofilme dental (POKROWIECKI et al., 2017). Dentro deste contexto, a etiologia microbiana da doença periodontal tem sofrido algumas modificações (LASSERRE; BRECX; TOMA, 2018). Neste sentido, algumas hipóteses de placa relacionadas à etiologia das doenças periodontais foram desenvolvidas, tais como, hipótese da placa não específica baseada na quantidade de microrganismos como entidade causadora; hipótese da placa específica caracterizada pela presença de microrganismos específicos associados com doença; hipótese dos complexos microbianos que identifica bactérias patogênicas associados com periodontite e codificadas como complexos bacterianos; hipótese da placa ecológica que propõe mudança em um fator ambiental chave para ativar mudanças no balanço da microbiota da placa existente, predispondo assim, um sítio para a doença (LASSERRE; BRECX; TOMA, 2018), além do modelo atual de doença periodontal e peri-implantar denominado hipótese polimicrobiana sinérgica e disbiótica (HAJISHENGALLIS; LAMONT, 2012), que tenta integrar as inúmeras hipóteses do passado baseando-se de que a doença é provocada por uma comunidade disbiótica modificada progressivamente pela introdução de patógenos chaves, como *Porphyromonas gingivalis* (LASSERRE; BRECX; TOMA, 2018).

O processo de formação do biofilme sobre a superfície do implante é semelhante à formação do biofilme nos dentes naturais, onde as características de superfície do material colonizado podem influenciar a quantidade e a composição da formação do biofilme (RENVERT; POLYZOIS, 2015). Por sua vez, a colonização bacteriana dos implantes se inicia cerca de 30 minutos depois de sua instalação na cavidade oral (QUIRYNEN et al., 2006; VAN WINKELHOFF et al., 2000). Assim, o problema da formação do biofilme bacteriano ao redor dos implantes

dentários ainda está pendente com relação à forma, às micro e macro-estruturas ou modificações da superfície (RENVERT; POLYZOIS, 2015). No entanto, muitos estudos publicados nos últimos quinze anos têm apontado uma caracterização precisa dos perfis microbianos dos biofilmes associados com a saúde oral e com as doenças periodontais e peri-implantares usando tecnologias de sequência do gene bacteriano 16s rRNA para identificação microbiana. Deste modo, novas informações obtidas destes estudos revelam que microrganismos do complexo vermelho também podem ser encontrados em sítios e em indivíduos na ausência de doença; e novos periodontopatógenos potenciais também podem aparecer, alguns dos quais não necessariamente Gram-negativos (*Filifactor alocis*, *Peptostreptococcus spp.*). Estes novos candidatos também excedem em número as espécies clássicas do complexo vermelho nos sítios com doença, mas, suas propriedades patogênicas permanecem a serem descobertas (KUMAR et al., 2005).

Embora a etiologia das doenças periodontal e peri-implantar seja bacteriana, a patogênese da periodontite e da peri-implantite é essencialmente mediada pela resposta do hospedeiro (VAN DYKE; SERHAN, 2003). Esta inflamação de baixo grau é complexa e envolve a imunidade adquirida e inata (CEKICI et al., 2014; RICKLIN et al., 2010), e o excesso de produtos tóxicos bacterianos e do hospedeiro podem levar a destruição tecidual ao redor de dentes e implantes (VAN DYKE; SERHAN 2003). A definição precisa do microbioma oral é ainda difícil. Isto indica que pode haver uma “microbiota com um eixo comum” específica, na qual é diferente em cavidades bucais saudáveis e doentes. Assim, condições patológicas, tais como doença periodontal não tratada ou outros fatores concomitantes podem induzir alterações no ecossistema oral, os quais favorecem a colonização dos sítios com implantes dentários (LASSERRE; BRECX; TOMA, 2018). No estudo de Hajishengallis e Lamont (2012), o modelo do sinergismo polimicrobiano e disbiose de desenvolvimento da doença periodontal foi proposto também para as doenças infecciosas peri-implantares se desenvolverem desta maneira. Entretanto, a presença do material do implante e dos fenômenos físico-químicos na superfície tecido-implante podem facilitar o surgimento de infecções peri-implantares (POKROWIECKI et al., 2017).

Nos finais das décadas de 1970 e 1980, pesquisas relevantes definiram quais as espécies bacterianas que seriam importantes no início e progressão das doenças periodontais, bem como quais as espécies seriam benéficas ou compatíveis com o hospedeiro (SOCRANSKY, HAFFAJEE, 2005). Neste sentido, a técnica de cultura possibilitou a caracterização de milhares de bactérias obtidas de centenas de pacientes, porém devido a natureza lenta e trabalhosa da técnica, poucas amostras clínicas poderiam ser cultivadas para cada indivíduo. No entanto, isto certamente deixou um marco na nossa atual compreensão da etiopatogenese das doenças periodontais (DZINK; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1998; MOORE; MOORE, 1994). De maneira geral, essas pesquisas demonstraram que cerca de 500 espécies bacterianas colonizavam a cavidade bucal humana, e destas, 359 espécies foram frequentemente detectadas e 141 foram observadas apenas uma vez (DIAZ, 2012; MOORE; MOORE, 1994). Atualmente, sabe-se que qualquer indivíduo pode abrigar entre 150 a 200 diferentes espécies bacterianas, e estima-se que entre 10 a 30 espécies bacterianas podem iniciar doenças periodontais destrutivas (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1994). Além disso, ficou definido que os microrganismos *A.actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *E.nodatum*, *F.nucleatum*, *P.intermedia*, e *P.nigrescens* estavam associadas com severidade das doenças periodontais, e que os microrganismos *A. naeslundii*, *C.gingivalis*, *N.mucosa*, *S.oralis*, *S. salivarius*, *S.sanguinis* e *V.parvula* estavam associadas com saúde periodontal (MOORE; MOORE, 1994 ; HAJISHENGALLIS ; LAMONT, 2016). Portanto, uma vez que as doenças periodontais são específicas e que em qualquer dos 168 sítios periodontais avaliados, frequentemente a doença desenvolve-se em um pequeno número daqueles sítios, surgiu então, à necessidade de melhorar o desempenho das técnicas microbiológicas para acomodar a análise de um grande número de amostras por indivíduo em substituição à técnica de cultura de modo rápido e de baixo custo (TELES et al., 2013). Diante dessas dificuldades, a técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* (SOCRANSKY et al., 2004, SOCRANSKY et al., 1994) surgiu para preencher esta lacuna e assim permitir a enumeração de um enorme número de espécies bacterianas a partir de muitas amostras clínicas, simultaneamente. A nova revolução que esta técnica forneceu aos pesquisadores ficou bem demonstrada pelo grupo Forsyth quando se avaliou a quantidade de amostras

identificada por cultura. Assim, entre 1969 a 1979, 135 amostras de biofilme subgengival foram examinadas; 300 entre 1982 e 1988, e de 9.600 amostras entre 1988 a 1993. Quando se usou a técnica do Checkerboard DNA-DNA isto possibilitou a análise de 34.400 amostras entre 1993 a 1999. Importante lembrar que a seleção do painel de sondas foi realizada baseada nos estudos de cultura citados acima, onde a relevância das espécies bacterianas na saúde e doença periodontal tinha sido estabelecida (TELES et al., 2013). Apesar disso, críticas foram dirigidas quanto à extensão e à composição do painel de sondas, com um total de 40 espécies, considerado muito baixo em relação ao número de espécies (>300) que colonizam a bolsa periodontal, ou ainda, o contrário, ou seja, um número muito alto e que o painel de sondas deveria ser reduzido para a contagem de espécies verdadeiramente relevantes, além da crítica com relação ao uso de sondas inteiras do DNA genômico, e em parte, porque isso poderia aumentar a probabilidade de reações cruzadas entre espécies como resultado das regiões comuns do DNA entre espécies intimamente relacionadas. Estas críticas foram então respondidas em detalhes por meio de uma publicação na qual o estado da arte da técnica do Checkerboard DNA-DNA foi avaliado após 10 anos de uso de rotina em estudos clínicos e na análise de centenas de milhares de amostras de biofilmes dentários (SOCRANSKY et al., 2004). Para entender melhor esta questão, os mesmos autores pesquisaram tais reações cruzadas por hibridização das sondas de 40 espécies típicas usando o checkerboard com alvos para 80 espécies bacterianas. Assim, sondas para certas espécies, tais como, *T.forsythia* mostraram nenhuma reação cruzada e o grupo das espécies de *Fusobacterium* exibiu baixíssimas reações cruzadas, assim como para as espécies de *C.rectus*. O microrganismo *S.intermedius* não mostrou reação cruzada com exceção dos estreptococos do grupo Milleri (*S.anginosus* e *S. constellatus*). No entanto, os autores demonstraram que as reações cruzadas poderiam ser eliminadas com o uso da hibridização por subtração ou com sondas de PCR, ou ainda por meio da hibridização competitiva (SOCRANSKY et al., 2004).

Portanto, nosso estudo realizou a identificação dos microrganismos presentes no biofilme subgengival/submucosal dos sítios selecionados por meio da técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* descrita por SOCRANSKY et al.

(1994). Além dos estudos mencionados anteriormente, vale ressaltar que esta técnica é um método de diagnóstico que oferece vantagens em relação aos métodos tradicionais de cultura microbiana, incluindo a detecção de microrganismos de desenvolvimento lento, nutricionalmente exigentes ou fastidiosos, além de detecção da microbiota não cultivável. É também um método mais rápido que o da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), pois utiliza várias sondas de DNA de uma única vez (SIQUEIRA et al., 2000; MORAES et al., 2002). Outras vantagens da técnica incluem: permitir a avaliação de várias espécies de uma única vez a partir de um grande número de amostras, permitir a detecção de microrganismos menos comuns e não identificáveis pela técnica de cultura microbiana; apresentar alta especificidade (92%), e permitir a detecção sem a necessidade de amplificação. Entretanto, apresenta algumas limitações como a sensibilidade, não sendo uma técnica tão sensível quanto ao PCR, por permitir a detecção de um número a partir de  $10^4$  células, sendo por isto um método semi-quantitativo, além de detectar apenas espécies cujas sondas foram previamente selecionadas (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY et al., 2004).

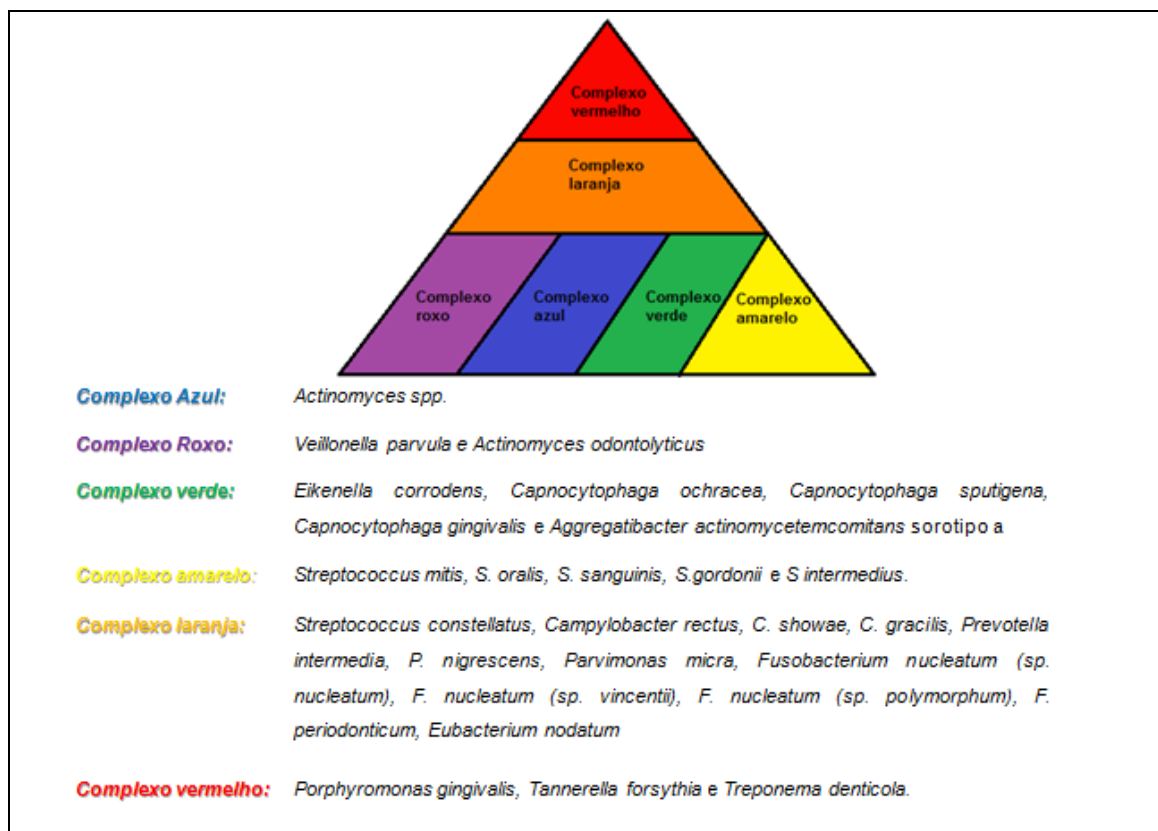
Assim, diante da literatura consultada e ainda com controvérsias ou com informações abertas quanto à microbiota peri-implantar, julgamos oportuno avaliar alguns implantes e dentes dos mesmos indivíduos parcialmente edêntulos e sistemicamente saudáveis com histórico de doença periodontal tratada. Deste modo, a proposição do nosso estudo é conhecer a microbiota da condição clínica peri-implantar e periodontal desses indivíduos. Neste sentido, propusemos para esta investigação a seguinte indagação: Os implantes sem perda óssea peri-implantar e próximos a dentes periodontalmente tratados podem apresentar semelhanças quanto a composição das bactérias? Para este objetivo, utilizamos referências com destaque sobre a técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* para investigar a composição bacteriana relacionada com as condições clínicas dos dentes e dos implantes.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 PLACA DENTAL E NOVOS PATÓGENOS

Atualmente, a etiologia da doença periodontal está baseada na hipótese dos Complexos Microbianos de Socransky (SOCRANSKY et al., 1998). Neste modelo, seis complexos microbianos foram descritos, os quais se instalam sequencialmente na placa subgingival e foram identificados por meio da técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* (SOCRANSKY et al., 1998), conforme a Figura 01 (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005). Os complexos amarelo, azul, verde e violeta são constituídos por bactérias que aderem à superfície dentária, constituindo a base da pirâmide do biofilme dento-bacteriano. Essas bactérias são denominadas de colonizadores primários e não se relacionam com a doença, sendo muitas delas consideradas benéficas. Dentre essas espécies, estão os *Streptococcus*, que constituem 47% a 82% dos colonizadores primários.

Figura 1 - Representação esquemática dos complexos microbianos encontrados em placas subgingivais



Nota: De acordo com Socransky et al., 1998; Socransky e Haffajee, 2005.

Esses complexos basais fornecem receptores e criam condições ecológicas para a implantação das bactérias do complexo laranja (*Streptococcus constellatus*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter gracilis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum* e *Fusobacterium periodonticum*) relacionadas com a patogênese das doenças periodontais. Além disso, este complexo precede e cria condições para a instalação do complexo vermelho (ápice da pirâmide), que é formado pelas espécies de *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*.

Como já salientado anteriormente, vários estudos descritos a seguir relatam a ocorrência de patógenos nos biofilmes dentais e peri-implantares.

Neste sentido, Perez Chaparro et al. (2014) fizeram um estudo de revisão sistemática para determinar o peso da evidência atual dos novos patógenos periodontais identificados, baseado nos resultados de estudos de associação. O *Phylum* com o maior número de espécies associadas com periodontite foi o *Firmicutes*, o qual abrigou a grande maioria de bactérias Gram-positivas. Uma espécie bacteriana do domínio *Archaea* (*Methanobrevibacter oralis*) e os níveis e proporções totais deste domínio também foram associados com periodontite. Os autores propuseram que o número de estudos associados com periodontite foi muito baixo, demonstrando que a mais alta evidência da categoria de microrganismos novos foi moderada. Sugeriram ainda que estes resultados poderiam servir como um passo inicial para a identificação de novos patógenos chaves ou acessórios contribuindo para estratégias terapêuticas e preventivas futuras para a periodontite.

Seguindo esta mesma linha de pensamento quanto à identificação dos patógenos bucais clássicos e sua presença nas bolsas periodontais, Hajishengallis e Lamont (2016) propuseram explorar as relações de patógenos acessórios, patógenos chaves e patobiontes. Portanto, como as propriedades comensais ou patogênicas destes microrganismos não são aspectos intrínsecos, essas comunidades microbianas devem ser consideradas como se relacionam com o estado imune do hospedeiro. Conforme os autores, acima citados os patógenos acessórios constituem um subgrupo de microrganismos que são geralmente percebidos como comensais e sobre certas condições podem agir

sinergisticamente para suportar ou promover a virulência de microrganismos associados à doença. Tradicionalmente um comensal oral clássico, *Streptococcus gordonii* citado e apreciado como um destes patógenos, pois não apenas fornece um substrato de aderência para colonização de outros patógenos periodontais chaves tais como *P.gingivalis*, mas em comunidades juntas de *S. gordonii* e *P.gingivalis* se tornam mais patogênicas em modelos animais comparados a outras espécies sozinhas. Na literatura ecológica, o termo chave foi introduzido para caracterizar espécies cuja influência sobre suas comunidades é desproporcionalmente maior em relação à sua abundância. Assim, a hipótese do patógeno-chave estabelece que certos microrganismos em baixa abundância podem promover a formação e a estabilização de comunidades provocadoras de doença e disbiose. Patobiontes são microrganismos que são geralmente benignos dentro de uma comunidade indígena, mas tornam-se patogênicos quando a homeostasia hospedeiro-microrganismos se quebra sobre certas condições, tais como: tratamentos com antibióticos, danos teciduais, mudanças dietéticas e especialmente em deficiências imunológicas. Estas condições acima mencionadas, podem potencialmente promover o supercrescimento de patobiontes e romper uma microbiota simbiótica resultando em disbiose e inflamação. Além disto, os resultados das alterações ambientais dos tecidos afetados podem induzir o recrutamento de células inflamatórias que reconhecem como bactérias residentes potencialmente patogênicas que poderiam por outro lado ser ignoradas pelos fagócitos residentes. Isto pode exacerbar uma condição inflamatória, especialmente em pacientes imunocomprometidos que não podem controlar as bactérias indígenas. Portanto, as evidências emergentes suportam o conceito de que muitas doenças inflamatórias podem não ser causadas por bactérias individuais definidas como patógenos causadores, mas influenciar uma comunidade bacteriana inteira sobre a ação de microrganismos específicos e condições locais e gerais que podem comprometer o balanço da homeostasia para uma inflamação destrutiva. Além disto, as bactérias podem agir como acessórios ou patógenos chaves em diferentes contextos. Deste modo, estes conceitos de patógenos referem-se às propriedades dos membros constituintes de uma comunidade bacteriana não simbiótica (HAJISHENGALLIS; LAMONT, 2016).

## 2.2 FATORES DE RISCO E CLASSIFICAÇÃO PARA DOENÇAS PERI-IMPLANTARES

Os fatores de risco para as doenças peri-implantares são muito semelhantes àqueles associados às doenças periodontais (ARMITAGE ; XENOUDI, 2016) . Entre os mais importantes citados na literatura, com relação ao risco de desenvolvimento destas doenças, destacam-se: higiene oral deficiente, tabagismo, diabetes não controlada, e, remanescente de cimentos dentários após fixação das coroas sobre implantes. Neste contexto, uma vez que os biofilmes orais formam-se rapidamente sobre as superfícies dos implantes rugosos e lisos, é importante que um programa de cuidados profissionais seja estabelecido para prevenir o desenvolvimento de doenças peri-implantares associados com bactérias. O objetivo primário de um programa de terapia de suporte é prevenir o desenvolvimento de peri-implantite. Deste modo, os autores afirmaram que a visita de avaliação é de grande importância devido ao conjunto de resultados terapêuticos obtidos em longo prazo. Esta visita é geralmente programada entre 4 a 6 semanas depois de realizar raspagem e alisamento radicular e instruções de higiene oral. Se estas intervenções forem efetivas, pouco ou nenhum sinal de inflamação gengival residual estará presente. Além disto, se o controle de placa for satisfatório neste período, deve existir mínimo ou nenhum sinal de inflamação gengival durante as consultas. Entretanto, se existem sinais residuais de inflamação, o clínico deve determinar a causa. A decisão do clínico com relação à percepção do paciente para um programa de manutenção periodontal, depende de uma avaliação cuidadosa das respostas das instruções de higiene oral associada à raspagem e alisamento radicular, assim também como uma análise dos fatores de risco para a recorrência de doença periodontal. Os autores concluíram que a terapia de manutenção periodontal e a terapia de suporte peri-implantar são necessárias para sucesso em longo prazo. Paralelamente, evidências estão surgindo sobre a instalação de implantes dentários sem um programa de manutenção estruturado aumentando o risco de perda do implante. Implantes não devem ser instalados a menos que o clínico esteja preparado para ter certeza de que um programa adequado de terapia de suporte peri-implantar seja realmente disponibilizado (ARMITAGE; XENOUDI, 2016).

Outros fatores de risco chamados de fatores locais pré-disponentes têm sido relacionados à peri-implantite (MONJE; INSUA; WANG, 2019). Entre estes se destacam: gengiva ceratinizada inserida, mau posicionamento do implante, torque de inserção do implante, desenho protético, altura óssea, bem como algumas topografias de superfícies dos implantes podem acelerar o processo de peri-implantite.

Ainda de acordo com o estudo de revisão sistemática de Tomasi e Derks (2012), 306 títulos e resumos foram avaliados quanto à qualidade do relato e das metodologias de pesquisa clínica sobre a incidência, prevalência e fatores de risco para doenças peri-implantares. Destes, treze estudos relataram indicadores de risco para doenças peri-implantares, sendo cinco deles abordando desenho de estudo, dois outros de investigação transversal; um estudo de ensaio clínico randomizado controlado prospectivo; três outros estudos de corte prospectivos, e dois estudos caso-controle. Vale ressaltar que apenas dois estudos relataram incidência de doenças peri-implantares com porcentagens de 22,8% e de 1%, respectivamente; enquanto a prevalência variou de 8,9% a 64,6% entre mucosite ou peri-implantite. Quanto aos fatores de risco para peri-implantite, destacaram-se tabagistas com genótipo positivo para IL-1; indivíduos com periodontite; diabetes; deficiência de higiene oral; polimorfismo no gene IL-1 RN; tabagistas de longo tempo; tempo de função do implante; perda óssea peri-implantar e periodontal; polimorfismo no gene TNF-alfa 308, periodontite agressiva; a falta de adesão a terapia de suporte periodontal, característica de superfície dos implantes e posição dos implantes em relação aos maxilares. No entanto, os autores concluíram que os tamanhos das amostras foram limitadas; o tempo de observação foi na maioria das vezes abaixo de 10 anos; os critérios usados para caracterizar doenças peri-implantares variaram muito entre os estudos; a validação interna foi relatada em metade dos estudo incluídos; dois estudos analisaram a incidência enquanto cinco relataram prevalência e nenhum dos estudos selecionados aderiu totalmente aos critérios STROBE (*Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*) (TOMASI; DERKS, 2012).

Um estudo brasileiro realizado por Dalago et al. (2017) na Universidade Federal de Santa Catarina, teve como objetivo identificar os indicadores locais de risco e

sistêmicos associados com peri-implantite. A amostra do estudo constituída por 183 pacientes reabilitados com 938 implantes. Neste estudo, 16 implantes foram perdidos e seis outros foram removidos devido ao seu péssimo posicionamento. A taxa de sobrevivência dos implantes foi de 98,3%, e os implantes com restaurações protéticas em função foram avaliados por um período de um até 14 anos. A prevalência de peri-implantite nos pacientes foi de 16,4% e 7,3% para os implantes instalados. Os fatores sistêmicos incluídos para análise multifatorial foram: desordens cardíacas, tabagismos, hepatite, diabetes, doenças gastrointestinais, doenças da tireóide e um histórico de doença periodontal. De acordo com este estudo, um histórico de periodontite foi encontrado aumentar o risco de peri-implantite. A identificação dos fatores de risco é de importância para a prevenção de doenças peri-implantares, indivíduos apresentados com alguns indicadores de risco devem ser monitorados mais frequentemente para evitar o desenvolvimento de doenças peri-implantares.

Outras análises têm sido consideradas nos estudos, e assim, Rakic et al. (2018) propuseram por meio de uma revisão sistemática e meta-análise estimar a prevalência total de peri-implantite e determinar o efeito de diferentes desenhos, tempo em função e das superfícies dos implantes de titânio sobre esta prevalência da peri-implantite. O protocolo do estudo englobou busca de artigos por meio do PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) e as orientações de revisões obtidas da Cochrane. Definição de peri-implantite como presença de perda óssea alveolar maior ou igual a 2,0mm, sangramento à sondagem positivo e profundidade de sondagem maior ou igual a 5,0mm e aprofundamento de sondagem comparada a radiografia tomada no momento da instalação protética; critérios de inclusão e exclusão, estratégia de pesquisa adotada, garantia de qualidade, revisores independentes indicados para as consultas dos dados obtidos e uso de um software (The OpenMetaAnalyst) foram usados para estimar a taxa de peri-implantite e os potenciais efeitos das características dos implantes de titânio sobre a prevalência de peri-implantite. De 1214 artigos obtidos, 198 artigos foram considerados para a pesquisa e após as considerações finais dos revisores, obteve-se um resultado final com 29 artigos para a proposta do estudo. A prevalência total da peri-implantite variou entre 0,2 a 63% e com prevalência

estimada por paciente em 12,8% destacada em 24 estudos, e, em 22 estudos a prevalência variou entre 1 e 46% e a prevalência estimada por paciente foi de 18,5%. Quanto ao efeito do desenho do implante de titânio sobre a prevalência de peri-implantite houve uma observação comum com destaque para paciente e para implante com menor taxa de prevalência para os estudos prospectivos (7,6% e 9,3%); uma taxa maior de prevalência nos estudos retrospectivos (18,5% e 23,4%), enquanto uma taxa de prevalência relatada para estudos transversais foi de considerada média (14,5% e 18,6%). As taxas de prevalências com relação aos implantes foram relativamente semelhantes entre os períodos investigados, enquanto que as taxas relativas ao paciente foram levementes maiores para o período acima de 10 anos quando comparado com a média do período de carga protética. Foram confirmadas menores prevalências de peri-implantite associadas às superfícies moderadamente rugosas dos implantes. Os autores concluíram que a peri-implantite afetou 18,5% dos pacientes e 12,8% dos implantes, enquanto que os implantes com superfícies moderadamente rugosas parecem estar associados positivamente com menor prevalência de peri-implantite, enquanto que os diferentes desenhos e tempos em função não demonstraram qualquer efeito significativo na taxa de prevalência de peri-implantite.

Em 2018, Caton et al. publicaram um novo esquema de classificação para doenças e condições periodontais e peri-implantares, resumido da Conferência de 2017 promovida pela Academia Americana de Periodontologia e pela Federação Europeia de Periodontologia. Esta Classificação foi necessária para orientar os clínicos para diagnosticar adequadamente e tratar pacientes assim também como para cientistas investigar a etiologia, a patogênese, a história natural e o tratamento das doenças e condições. Também foi realizado um esforço para rever todos os aspectos da saúde peri-implantar, das doenças ao redor de implantes e aspectos relevantes das condições dos sítios dos implantes e deformidades para alcançar um consenso para sua classificação. Neste sentido, clinicamente, a saúde peri-implantar foi caracterizada pela ausência de sinais visuais de inflamação e sangramento à sondagem. A saúde peri-implantar pode existir ao redor dos implantes com suporte ósseo alveolar normal ou reduzido. Não foi possível definir a avaliação das profundidades de sondagem,

compatíveis com a saúde peri-implantar. A mucosite peri-implantar foi caracterizada pelo sangramento à sondagem e sinais visuais de inflamação. A mucosite peri-implantar pode ser revertida com medidas visando a remoção do biofilme dental. E, finalmente, a peri-implantite foi definida como uma condição patológica associada a placa dental ocorrendo nos tecidos ao redor dos implantes dentários, caracterizado pela inflamação na mucosa peri-implantar e subsequente perda progressiva de suporte ósseo peri-implantar. A peri-implantite está associada com controle de placa deficiente, e com pacientes com um histórico de periodontite severa. Esta revisão introduz uma classificação atual das condições e doenças periodontais e uma nova classificação de doenças e condições peri-implantares, e representa o trabalho da comunidade mundial de clínicos e pesquisadores de periodontologia e implantodontia.

### 2.3 ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS DO BIOFILME PERI-IMPLANTAR

No sentido de analisar o perfil microbiológico do biofilme submucosal dos implantes dentários, Quirynen et al. (2006) realizaram um estudo prospectivo, do tipo boca-dividida, mono-cego com 42 pacientes parcialmente edêntulos e com histórico de gengivite ou de periodontite crônica e tratados por meio de terapia periodontal básica ou cirúrgica dois anos antes do estudo. Os abutments dos implantes permaneceram não carregados proteticamente no primeiro mês de sua instalação recebendo coroas ou próteses fixas provisórias. A análise microbiológica das amostras de biofilme subgengival foi obtida de 12 diferentes sítios (dentes e implantes) por paciente utilizando duas pontas de papel esterilizadas e avaliada pela técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* e comparada com as técnicas de Cultura e da Reação em cadeia da polimerase (PCR), além de parâmetros clínicos periodontais. Na técnica do Checkerboard, os dentes com bolsas profundas apresentaram maior proporção para as espécies do complexo vermelho. As espécies bacterianas predominantes e significantes foram *F.nucleatum* e suas subespécies, além de *T.forsythia*, *P.gingivalis* e *T.denticola*. Já para os implantes, o complexo laranja foi o mais predominante dos complexos microbianos. No método de cultura, os implantes apresentaram menor frequência de detecção microbiana comparado com os dentes. Na técnica do PCR, a frequência de detecção para todas as espécies examinadas nas bolsas peri-implantares foi alta, predominando *T.forsythia*,

*P.gingivalis*, *T.denticola*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* e *A.actinomycescomitans*, enquanto nos dentes estas espécies estavam em menores concentrações. Os autores concluíram que a colonização microbiana de uma superfície dura estéril localizada subgengivalmente por um complexo microbiano dentro de dias foi inesperado. Se isto esteve relacionado ao ambiente especial fornecido pelo coágulo sanguíneo, situação esta semelhante a do debridamento mecânico de bolsas periodontais, precisa ser investigada.

Ainda com relação à colonização bacteriana nos implantes dentários e nos sítios dentários adjacente aos implantes, Furst et al. (2007) propuseram avaliar a colonização bacteriana inicial de implantes imediatamente instalados e durante os primeiros três meses pós-cirúrgico em 14 indivíduos tratados periodontalmente e com instruções de higiene oral. Amostras de placa de 17 implantes e seus correspondentes dentes adjacentes foram coletadas por meio de pontas de papéis esterilizadas e analisadas pela técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* para 40 bactérias periodontopáticas. Os microrganismos periodontopatogênicos presentes nos implantes após 30 minutos da sua instalação foram: *Capnocytophaga sputigena*, *Fusobacterium periodonticum*, *F.nucleatum sp. nucleatum*, *F.nucleatum sp. polymorphum*, *Leptotrichia buccalis*, *Lactobacillus acidophilus* e *Prevotella melaninogenica*, e, após três meses foram: *C.sputigena*, *F.nucleatum sp.nucleatum*, *F.periodonticum*, *F.nucleatum sp.polimorphum*, *Capnocytophaga ochracea* e *Veillonella parvula*. Os sítios dentários adjacentes aos implantes após 30 minutos da instalação dos implantes apresentaram 27 das 40 espécies investigadas no Checkerboard. Esta diferença aumentou para 35 contra as 40 espécies diagnosticadas após três meses. Os autores concluíram que a colonização bacteriana ocorreu dentro de 30 minutos após instalação do componente protético (transmucoso) do implante de titânio, e, também uma recolonização ao redor dos dentes vizinhos, porém com um padrão de colonização distintamente diferente em cerca de 50% das espécies estudadas, principalmente em relação aos microrganismos *A.actinomycescomitans*, *P.gingivalis* e algumas espécies de *Streptococcus*.

A análise da microbiota peri-implantar tem sido um desafio para para entender sua composição e diversidade. Assim, Renvert et al. (2007) propuseram

investigar a microbiota de implantes diagnosticados com peri-implantite, mucosite peri-implantar e saúde peri-implantar de 213 pacientes examinados após um e cinco anos da instalação dos implantes. Parâmetros clínicos periodontais e peri-implantares e radiografias foram realizadas. Amostras de biofilme bacteriano foram obtidos de quatro sítios de dentes com maior profundidade de bolsa e dos sítios peri-implantares. As amostras de biofilme foram obtidas por pontas de papéis esterilizadas e analisadas pela técnica *do Checkerboard DNA-DNA Hybridization* utilizando 40 espécies bacterianas. A microbiota peri-implantar consistiu predominantemente de *Neisseria mucosa*, *F. nucleatum sp nucleatum*, *F. nucleatum sp polimorphum*, o mesmo ocorrendo com a microbiota dos implantes sadios e dentários. Por outro lado, verificou-se nos sítios peri-implantares e dentários uma alta prevalência de *Veillonella parvulla*. Com relação ao grupo dos estreptococos, apenas *S. intermedius* bem como *Staphylococcus aureus* e *Micromonas micros* foram encontrados em ambos os sítios periodontais e peri-implantares. A prevalência de *P. gingivalis* nos sítios peri-implantares sadios foi de 7,9%; nos sítios com mucosite peri-implantar foi de 2,4%; e nos sítios com peri-implantite foi de 4,3%. As bolsas peri-implantares mais profundas, foram correlacionadas com níveis significantes de *Capnocytophaga ochracea*, *M. micros*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Nenhuma diferença na microbiota entre implantes e dentes foram encontradas nos indivíduos com mucosite peri-implantar ou peri-implantite ou ainda sem nenhuma evidência clínica destas condições. O microrganismo *F. nucleatum sp nucleatum* foi o mais prevalente em todos os sítios dos implantes, independente da condição clínica peri-implantar. Por outro lado, a prevalência de *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* e *A. actinomycetemcomitans*, considerados como patógenos chaves na peri-implantite apresentaram baixas proporções e nenhuma diferença com a condição clínica dos implantes. Os autores concluíram sugerindo que um histórico passado de periodontite, bem como, a mucosite e higiene oral deficiente não predispõem o estabelecimento de uma microbiota patogênica ao redor dos implantes.

Não menos importante do que a diversidade microbiana nos implantes dentários, Shibli et al. (2008) comparou a composição microbiana do biofilme supra e

subgingival em indivíduos com e sem peri-implantite, por meio da técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* quanto à presença de 36 espécies bacterianas, ou seja, em 22 indivíduos com pelo menos um implante dentário saudável e outros 22 indivíduos com pelo menos um implante dentário doente, totalizando 44 implantes. O perfil microbiano entre os biofilmes supra e subgingival não diferiu substancialmente, especialmente no grupo saudável. No biofilme subgingival, os perfis dos complexos microbianos que abrigaram a maioria das espécies benéficas (roxo, amarelo e verde) foram semelhantes entre implantes saudáveis e doentes. Todas as espécies avaliadas foram detectadas em ambos os grupos. As contagens bacterianas médias mais altas de *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia* foram observadas no grupo peri-implantite, tanto no biofilme supra como subgingival. A microbiota associada à peri-implantite foi composta por mais espécies bacterianas patogênicas periodontais, incluindo o biofilme supragingival. O estudo mostrou diferenças específicas entre o perfil microbiano dos implantes dentários saudáveis e doentes, tanto no biofilme supra quanto no subgingival. A marcada presença de espécies bacterianas do complexo vermelho no biofilme supragingival de implantes doentes sugeriu que este ambiente pode funcionar como um reservatório de espécies periodontopatogênicas e pode contribuir para a reinfecção de sítios subgingivais tratados.

A cavidade oral possui vários nichos de colonização bacteriana. Neste sentido, Quirynen e Van Assche (2011) decidiram investigar a carga bacteriana da cavidade oral oriunda da saliva, da língua e da placa subgingival após exodontia total da boca em 10 indivíduos e de bolsas peri-implantares após instalação do conector protético no implante. Após um ano da instalação do conector protético, os parâmetros clínicos profundidade de sondagem de bolsa, sangramento à sondagem e placa dental foram mensuradas em seis sítios por implante, além de radiografias intra-orais. Amostras de placa subgingival foram coletadas dos dentes e dos implantes de quatro sítios e em quatro momentos: antes da exodontia total; uma semana após o edentulismo total; em três e em 12 meses após a instalação do conector protético no implante. Pontas de papel esterilizadas obtidas dos sítios selecionados foram examinadas para análise microbiológica por três métodos: cultura, qPCR e *Checkerboard DNA-DNA*

*Hybridization.* Quando a microbiota subgengival ao redor dos dentes foi comparada com as dos implantes, houve redução significativa do número de bactérias aeróbicas e anaeróbicas. A microbiota dos implantes permaneceu relativamente constante com o tempo, e com um aumento bem menor na quantidade total de anaeróbios. A extração total dos dentes resultou em uma leve redução de bactérias aeróbicas e de anaeróbicas na saliva e isto permaneceu após um ano da instalação do conector protético. Na língua, houve uma redução semelhante de bactérias aeróbicas, mas com uma redução mais consistente de anaeróbios. Com a técnica de qPCR (antes da extração total dos dentes): as bolsas periodontais mais profundas foram colonizadas por *P.gingivalis*, *T.forsythia* e *P.intermedia*, além de *A.actinomycescomitans*; as bolsas peri-implantares exibiram quantidades significativamente menores para *P.gingivalis* e *T.denticola* e isto permaneceu com o tempo, com exceção para o *A.actinomycescomitans*; na saliva não houve alteração significativa. No entanto, *P.gingivalis*, *T.forsythia* e *P.intermedia* sofreram uma redução na quantidade total e permaneceu assim durante todo o protocolo de investigação; na língua, também não houve detecção significativa, porém para as bactérias *P.gingivalis* e *T.forsythia* houve uma redução clara na quantidade total. Na técnica do Checkerboard comparado com os dentes com periodontite severa, os implantes mostraram uma redução total das bactérias, especialmente dos complexos bacterianos vermelho e laranja; e, para algumas espécies esta redução foi significativa; na saliva, algumas espécies dos complexos laranja e vermelho exibiram pequenas reduções; e na língua as alterações foram pequenas, seja em quantidade seja na frequência de detecção. Ainda de acordo com Quirynen e Van Assche (2011), os resultados obtidos do seu trabalho sugerem que patógenos periodontais podem persistir por um longo período de tempo na cavidade bucal de indivíduos totalmente edêntulos com um histórico prévio de periodontite, mesmo na ausência de outras superfícies duras subgengivais na boca.

Charalampakis et al. (2013) fizeram um estudo prospectivo para correlacionar marcadores clínicos e microbiológicos, e, para avaliar o seu valor preditivo durante um período de dois anos de manutenção. Este estudo observacional foi realizado com uma amostra de 50 pacientes sem nenhum problema sistêmico.

As análises clínicas e microbiológicas foram analisadas em três diferentes momentos, 2003 (baseline), 2006 (2 anos de manutenção) e 2008 (4 anos de manutenção). As amostras de placa foram obtidas de dois sítios: um sítio severamente doente com sangramento à sondagem e profundidade de bolsa  $\geq 6,0\text{mm}$  e o outro sítio clinicamente sadio ou com gengivite ou com periodontite leve exibindo nenhum sangramento à sondagem ou sangramento à sondagem e profundidade de sondagem de até  $4,0\text{mm}$ . Esta metodologia foi mantida para os demais momentos de coletas de amostras para avaliação microbiológica realizada por meio do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* contra 25 espécies bacterianas. A análise por meio do Checkerboard revelou que várias bactérias com um escore alto de colonização ( $\geq 3$ ) correlacionou com os resultados clínicos nos períodos avaliados. Este escore alto no Checkerboard para uma ou mais das bactérias foi considerado um marcador não específico, o qual revelou a melhor sensibilidade para identificar doença em todo o período do estudo comparado com todos os outros marcadores microbianos mais específicos. Diferentes grupos de bactérias, não apenas os complexos vermelhos foram capazes de prever a progressão de periodontite crônica durante os dois anos de manutenção. Com relação aos sítios com progressão da doença, os autores ressaltam que *T. forsythia*, *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas endodontalis* foram encontradas em quatro dos cinco sítios com progressão da doença. Entretanto, outras espécies não agrupadas em complexos (*P. micra*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus intermedius*, *Dialister pneumosintes*) foram também encontradas em altos números nestes sítios progressivos. Deste modo, concluiu-se que os marcadores microbiológicos podem identificar doença periodontal e prever progressão da doença enquanto eles incorporam uma medida de carga bacteriana não apenas para a presença ou ausência de bactérias. Comparado com marcadores clínicos, eles podem oferecer um aumento da especificidade acima do sangramento à sondagem, e assim evitar futuros sobretratamentos.

O painel de sondas de DNA bacteriano utilizado na técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* foi expandido por Persson e Renvert (2014) para investigar a presença de 78 espécies bacterianas em 166 indivíduos com diagnóstico de peri-implantite e 47 indivíduos com saúde peri-implantar, além de

avaliar a microbiota associada com a idade dos indivíduos, com o sexo e com um histórico de tabagismo ou de periodontite. Amostras de biofilme subgingival foram obtidas de um único sítio de um implante com a maior profundidade de sondagem de sulco peri-implantar obtidas com pontas de papéis esterilizadas. Nos implantes com peri-implantite foram encontradas maiores proporções das contagens de 19 das 78 espécies bacterianas comparadas aos implantes com saúde peri-implantar. A análise bacteriana nos implantes com peri-implantite e com saúde peri-implantar foi definida como um ponto de corte duplo, ou seja,  $\geq 1 \times 10^4$  e  $\geq 1 \times 10^5$  células bacterianas. Os níveis de corte ( $\geq 1 \times 10^4$ ) de maior contagem bacteriana na peri-implantite exibiram valores significantes para as seguintes espécies *T. forsythia*, *T. denticola*, *C. rectus*, *T. socransky*, *P. gingivalis*, *S. aureus*, *G. gracilis* e *P. intermedia*. No ponto de corte  $\geq 1 \times 10^5$ , apenas o microrganismo *T. forsythia* exibiu significância em relação a peri-implantite. Nos indivíduos com histórico de periodontite e independente da condição clínica do implante, as espécies mais significantes foram *A. naeslundii*, *C. rectus*, *Fusobacterium nucleatum sp. naviforme*, *F. nucleatum sp. nucleatum*, *P. micra*, *S. haemolyticus*, *T. forsythia* e *T. denticola*. Um histórico de tabagismo foi significativamente mais prevalente entre os indivíduos com um diagnóstico de peri-implantite. Independente da condição clínica do implante, as espécies bacterianas, mais encontradas em altas proporções nos indivíduos com um histórico de tabagismo foram: *C. rectus*, *Fusobacterium nucleatum sp. naviforme*, *F. nucleatum sp. nucleatum*, *F. nucleatum sp. polymorphum*. Portanto, a carga bacteriana das espécies *P.gingivalis*, *S.aureus*, *S.anaerobius*, *S.intermedius*, *S.mitis*, *T.forsythia* e *T. socranskii* foi significativamente maior nos indivíduos com peri-implantite.

De Moraes Rego et al. (2015) avaliaram a colonização bacteriana de implantes dentários instalados nas posições da crista alveolar ou supra-cristal ósseo alveolar e correlacionaram as mensurações radiográficas da remodelação óssea, num total de 10 pacientes divididos em dois grupos: implantes instalados a nível supra-cristal ósseo alveolar – grupo teste e implantes instalados a nível crista óssea alveolar – grupo controle. Os pacientes também foram avaliados em dois momentos, baseline e seis meses após. Duas amostras subgingivais por implante foram selecionadas para a contagem de 40 espécies bacterianas no

*Checkerboard DNA-DNA Hybridization*. O perfil microbiano do grupo teste mostrou as maiores contagens para os microrganismos *Actinomyces gerencseriae* e *Streptococcus constellatus*, o mesmo ocorreu para *S. oralis* e *Gemella morbillorum* no grupo teste. No entanto, nenhuma contagem bacteriana, foi significativamente maior do que no grupo controle. Houve nenhuma correlação significativa entre o perfil bacteriano e mensurações radiográficas e entre perfil bacteriano e profundidade de sondagem.

Martínez-Hernández; Olivares-Navarrete e Almaguer-Flores (2016) avaliaram a influência do perfil microbiano de indivíduos periodontalmente saudáveis e com periodontite sobre a composição do biofilme inicial *in vivo* em diferentes microestruturas de superfícies de implante de titânio. A amostra foi constituída por 10 indivíduos com periodontite crônica e 10 indivíduos saudáveis, não tabagistas e que não receberam nenhuma terapia periodontal além do controle de placa supragengival profissional. Amostras de placa subgengival foram obtidas dos sítios mesio-bucal de todos os dentes presentes em cada indivíduo, coletadas com curetas esterilizadas Gracey e avaliadas usando a técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* para 35 espécies bacterianas. A formação do biofilme *in vivo* foi realizada com disco de titânio com diâmetro de 15,0mm e submetidas numa placa de acrílico removível adaptado ao palato de cada indivíduo e instaladas por 48 horas. A análise das amostras de placa subgengival mostrou que todas as espécies foram detectadas tanto nos indivíduos com periodontite como naqueles periodontalmente saudáveis. Entretanto, as espécies *A. israeli*, *V. parvula*, *S. mitis*, *C. rectus* e *Eubacterium saburreum* foram detectadas em altas proporções nos biofilmes subgengivais de indivíduos periodontalmente saudáveis, porém diferenças significantes foram encontradas apenas para *E. saburreum*. Nas amostras de biofilme subgengival dos indivíduos com periodontite, apenas as espécies *P. intermedia*, *T. forsythia* foram significativamente maiores. A proporção das espécies do complexo vermelho foi maior nos indivíduos com periodontite do que nos indivíduos periodontalmente saudáveis. Com relação à formação do biofilme e sua composição nas amostras dos discos de titânio ficou evidente que as superfícies de titânio foram menos sensíveis às propriedades da superfície do que a condição de saúde periodontal. A análise das espécies aderidas à superfície do titânio instaladas nos indivíduos com a mesma condição

periodontal não mostrou diferenças significantes na sua composição. Os resultados deste estudo sugeriram que a eliminação de nichos patogênicos subgingivais e a melhora da higiene oral em pacientes com periodontite são necessárias para ensejar sucesso em longo prazo dos implantes instalados na cavidade oral.

Tenenbaum et al. (2016) realizaram um estudo prospectivo do tipo coorte com o objetivo de avaliar o estado clínico e microbiológico em torno de implantes após um ano e pelo menos 8 anos de carga funcional em pacientes tratados para edentulismo parcial e examinar as mudanças que poderiam ocorrer na saúde peri-implantar ao longo do tempo. Foram incluídos neste estudo 110 pacientes sistemicamente saudáveis (33 homens e 77 mulheres, entre 20 e 72 anos com idade média de  $53,5 \pm 10,0$ ) e que foram tratados cirurgicamente com pelo menos um implante. Antes da instalação do implante, os pacientes foram tratados periodontalmente. Antibióticos sistêmicos foram prescritos a todos os pacientes por 7 dias a partir do dia da instalação do implante. Todos os pacientes foram instruídos sobre como manter a higiene bucal adequada em torno dos implantes e dos dentes remanescentes. Após 3-4 meses de osseointegração, as coroas protéticas foram instaladas nos implantes, tempo que foi considerado como período inicial. Após um período de 8 anos, os pacientes realizaram avaliações clínicas, microbiológicas e radiográficas. Um total de 20 cepas bacterianas diferentes foi incluído para análise no *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*. Algumas espécies de bactérias foram associadas com o agravamento dos parâmetros clínicos. Considerando o estado peri-implantar saudável e doente, as frequências de detecção para *P.gingivalis*, *P. intermedia*, *A. naeslundii*, *Eikenella corrodens* foram maiores no grupo doente do que no grupo saudável. Após análise dos resultados, os autores concluíram que cerca de 70% dos implantes (75/108) e 67,3% dos pacientes (35/52) foram considerados como casos de sucesso. Eles afirmaram que o acompanhamento microbiano pode ajudar a identificar pacientes em risco de doença peri-implantar.

Narvaja et al. (2018) propuseram por meio de um estudo transversal descrever o perfil microbiano subgingival de 14 pacientes reabilitados com pelo menos uma prótese fixa de arco completo, sustentada por quatro implantes. Amostras obtidas de quatro sítios subgingivais por implante foram coletadas em cada

indivíduo e analisados pela técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* para 40 espécies bacterianas. Em geral todas as espécies bacterianas foram detectadas em todas as amostras. As três espécies com maiores níveis encontradas foram : *F. nucleatum ssp. vicentii*, *F. nucleatum ssp. polymorphum*, *Veillonella parvula* e as espécies *Actinomyces naeslundii*, *Neisseriae mucosa* e *Actinomyces oris* foram os microrganismos encontrados em menores proporções quando todas as amostras foram analisadas juntas. Por outro lado, *S. constellatus*, *P. acnes* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* foram as espécies encontradas em menores níveis e proporções no biofilme subgingival dos implantes. O complexo laranja (28,7%) e o grupo *Actinomyces* (24,8%) apresentaram as mais altas proporções médias, enquanto os patógenos do complexo vermelho (5,2%) mostraram a média mais baixa de proporções. Os autores concluíram sugerindo que esta modalidade de reabilitação suportada por implantes deve ser esclarecida aos pacientes no sentido de conscientizá-los da necessidade de um protocolo de manutenção mais intenso e rigoroso.

Raffaini et al. (2018) estudaram a caracterização das diferenças entre os microbiomas dos implantes de titânio e de zircônia no estágio inicial de colonização dos implantes e correlacionaram aos parâmetros clínicos. O *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* foi utilizado para identificar e quantificar até 42 espécies microbianas depois de sete e 30 dias dos implantes instalados e em função. Este estudo transversal avaliou o perfil microbiológico subgingival de 20 pacientes parcialmente edêntulos. As análises microbiológicas e os parâmetros clínicos foram realizadas em três diferentes momentos. Os dentes contra-laterais dos implantes foram agrupados como sítio controle. As amostras de biofilme subgingival periodontal e peri-implantares foram coletadas com pontas de papel esterilizadas. As amostras de biofilmes das partes internas e da superfície dos abutments foram coletadas com micro pincéis esterilizados. Os resultados microbiológicos nos dentes contra-laterais destes indivíduos apresentaram uma distribuição semelhante a dos implantes de titânio e de zircônia. Por outro lado, as amostras de biofilme subgingival mostraram menores contagens genômicas bacterianas do que aquelas amostras de placa supragingival relacionadas aos implantes. Todas as 42 espécies foram encontradas colonizando as superfícies dos implantes e os biofilmes supra e

subgingival com o tempo. Os autores confirmaram que o perfil microbiano dos implantes previamente colonizados é bastante semelhante ao dos dentes remanescentes. As mais baixas contagens genômicas bacterianas foram encontradas nos implantes em função, as quais aumentaram com o tempo, porém sem diferenças significantes entre sete e 30 dias em função para a maioria das espécies. As espécies periodontopatogênicas, tais como: *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, assim também como *Aggregatibacter spp* e *Prevotella spp*. foram encontradas colonizando os implantes de zircônia e titânio depois de sete dias dos implantes em função. Este estudo demonstrou que os implantes com abutments de titânio ou zircônia não mostraram diferenças nas contagens e diversidades microbianas após 30 dias dos implantes em função e que a microbiota foi bastante semelhante àquela encontrada nos dentes remanescentes.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL:

O objetivo do presente estudo foi avaliar a microbiota dos sítios peri-implantares e periodontais por meio da técnica de biologia molecular *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* de pacientes parcialmente edêntulos, periodontalmente tratados e reabilitados com implantes osseointegrados no Curso de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Comparar os parâmetros clínicos periodontais e peri-implantares com o perfil microbiológico do biofilme subgengival dos sítios periodontais e peri-implantares;
- Determinar a ocorrência de 40 espécies bacterianas ao redor dos sítios periodontais e peri-implantares;
- Comparar as contagens médias e/ou proporções dos complexos microbianos (carga de DNA bacteriano) nos sítios periodontais e peri-implantares.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO/CASUÍSTICA

Trata-se de um estudo observacional transversal constituído por 20 pacientes sistemicamente sádios, tratados periodontalmente (terapia periodontal básica, cirúrgica ou de manutenção) e reabilitados com implantes osseointegrados no Curso de Odontologia da Ufes. Os pacientes selecionados deveriam ter pelo menos de um até três implantes, em qualquer um dos maxilares, proteticamente finalizados, e em função por um período mínimo de 30 dias antes das avaliações clínicas e microbiológicas. Os pacientes foram recrutados a partir dos prontuários eletrônicos disponibilizados no Ioufes - Instituto de Odontologia da Ufes. Os seguintes dados foram obtidos: informação pessoal, tipo de conexão protética, marca comercial, superfície do implante, data da instalação do implante, local de instalação, comprimento e diâmetro do implante, data da reabilitação protética, tipo de prótese (parafusada ou cimentada), aplicação de carga (imediate ou tardia), radiografias periapicais, panorâmica e tomografia computadorizada. Estes dados foram registrados no instrumento de coleta de dados desenvolvido para esse estudo (APÊNDICE A). Os participantes selecionados foram agendados para as consultas de avaliação clínica, mensuração dos parâmetros clínicos periodontais e peri-implantares, coleta do biofilme bacteriano dos sítios periodontais e peri-implantares, por um único examinador, especialista e Professor de Periodontia, cego em relação a fase cirúrgica e/ou protética da reabilitação com implantes osseointegrados dos pacientes.

Os implantes selecionados foram instalados por um único profissional (SCK), integrante da disciplina Estágio Clínico Interdisciplinar IV, totalizando 56 pacientes, com 99 implantes instalados entre o período de 2012 a 2018. Após análise dos prontuários, recrutamos 32 pacientes pelos telefones cadastrados. Sete pacientes se recusaram de imediato em participar da pesquisa, por motivo de distância, outros 5 pacientes estavam entre os critérios de exclusão (2 diabéticos, 2 tabagistas e 1 com grande reabilitação protética). Os pacientes elegíveis para a investigação corresponderam a nossa amostra final (n) de 20 pacientes.

## 4.2 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, localizado no campus de Maruípe da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes), na cidade de Vitória, estado do Espírito Santo, sob o número 66462717.3.0000.5060 (30 de maio de 2017 - APÊNDICE B), com Parecer de Aprovação número: 2.091.134 (Plataforma Brasil), e de acordo com a Resolução nº 466/2012 do Ministério da Saúde. Inicialmente os pacientes responderam a um questionário socioeconômico e de saúde geral, para verificar se os mesmos se enquadravam nos critérios de inclusão. Posteriormente, a avaliação odontológica dos pacientes selecionados e que aceitaram participar do estudo foi realizada na disciplina do Estágio Clínico Interdisciplinar IV do Curso de Odontologia da Ufes.

## 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Ter 18 anos ou mais;
- Assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE B);
- Pacientes com histórico de periodontite crônica leve a moderada, definidos por: Profundidade de Sondagem (PS)  $\geq 4,0$ mm e Nível de Inserção Clínico (NIC)  $\geq 4,0$ mm em algum dente e no mesmo sítio e não contíguo, localizada (menos de 30% dos dentes envolvidos) ou generalizada (mais de 30% dos dentes afetados) de acordo com ARMITAGE (1999). Os pacientes com periodontite crônica tratados (terapia básica ou cirúrgica), finalizados e com controle de placa adequado (entre 10 a 20%), mantidos em terapia de suporte periodontal e que receberam implantes osseointegrados instalados por um único profissional (SCK) entre o período de 2012 a 2018 em substituição a pelo menos um ou até três dentes em qualquer maxilar reabilitados foram selecionados na disciplina de Estágio Clínico Interdisciplinar IV no Curso de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo.

Dados dos Implantes – Neste estudo, o implante sadio foi definido como não móvel, sem perda óssea alveolar radiográfica, sem supuração e sem edema.

- selecionou-se 1 (hum) implante por paciente, devendo os implantes serem do mesmo fabricante (NEODENT®), com as mesmas conexões protéticas (Cone Morse) e com as seguintes características: ausência de perda óssea alveolar verificada por meio de radiografia periapical realizada com posicionador radiográfico, sem mobilidade, sem supuração, sem coroa fraturada, podendo ou não ter sangramento à sondagem, proteticamente finalizados (com coroas protéticas cimentadas ou parafusadas), e em função por um período mínimo de 30 dias antes das avaliações clínicas e microbiológicas. Caso o paciente tivesse mais de um implante instalado pelo mesmo profissional, foi selecionado o de maior profundidade clínica de sondagem, e se houvesse valores semelhantes de profundidade, optou-se pelo mais anterior em relação à linha média.
- Dados dos Dentes – Foram selecionados 2 (dois) dentes por paciente, portadores de bolsas periodontais tratadas de indivíduos com periodontite crônica leve a moderada, sem mobilidade, sem supuração, localizados em qualquer maxilar, contra-lateral ou não, contíguos ou não ao implante e de maior profundidade clínica de sondagem, independente de serem uni ou multi-radiculares. Os dentes foram classificados como: dente distal e dente proximal. O dente proximal era aquele situado mais próximo ao implante enquanto o dente distal localizava-se mais distante do implante.

#### 4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo:

- Indivíduos que foram submetidos à terapia antibiótica e anti-inflamatória nos últimos três meses;
- Indivíduos menores de dezoito anos de idade;
- Indivíduos que não compareceram à visita de avaliação ou não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;
- Indivíduos tabagistas;

- Indivíduos diagnosticados com doença periodontal crônica severa, com supuração algum dente, sangramento à sondagem em mais de 30% dos sítios subgengivais;
- Indivíduos com periodontite agressiva;
- Indivíduos diabéticos;
- Gestantes;
- Indivíduos com reabilitações bucais protéticas extensas;
- Dente com lesão de furca classe II ou III.

#### 4.5 COLETA DE DADOS

A coleta de dados se deu por meio de entrevista, consulta ao prontuário odontológico, exame clínico periodontal e peri-implantar, odontograma, exame radiográfico periapical do implante, exame microbiológico molecular por meio do Checkerboard DNA-DNA do biofilme submucosal de um sítio peri-implantar e do biofilme subgengival e dois sítios periodontais, ambos de maior profundidade clínica de sondagem. As entrevistas foram realizadas pela pesquisadora LBDP no ambulatório 5 (Clínica Integrada Odontológica) com perguntas verbais feitas a partir de um formulário pré-estabelecido (APÊNDICE A). As dúvidas a respeito da saúde geral do paciente, ou de qualquer informação, foram consultadas com o prontuário odontológico dos pacientes para verificar informações sobre histórico odontológico.

##### **4.5.1 Avaliação clínica dentária**

A avaliação dentária dos participantes do estudo foi realizada por uma única avaliadora (LBDP), com a ajuda de uma auxiliar para registrar os dados na ficha do paciente (APÊNDICE C) utilizando-se espelho bucal plano e sonda exploradora nº 5. O exame dentário foi baseado no índice de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados (CPO-D) (WHO, 1997), o qual é expresso por um número de zero a trinta e dois, representando a somatória do número de dentes cariados, perdidos e restaurados. Este índice é adotado pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

#### **4.5.2 Avaliação clínica peri-implantar e periodontal**

A avaliação clínica peri-implantar e periodontal foi realizada por um único examinador, especialista em Periodontia, coordenador da disciplina de Periodontia desta Universidade (ACRF). As mensurações clínicas peri-implantares e periodontais foram registradas no formulário Periodontograma (APÊNDICE D) em seis sítios por dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual e distolingual), em todos os dentes (exceto os terceiros molares), e da mesma forma nos implantes, utilizando-se sonda periodontal milimetrada reta Carolina do Norte metálica (avaliação periodontal) ou plástica (avaliação peri-implantar), modelo PCP UNC-BR 15 (Hufriedy do Brasil, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Os seguintes parâmetros periodontais e peri-implantares foram analisados: 1) Índice de placa visível - seguindo o índice dicotômico proposto por Ainamo e Bay (1975), presença (score 1) ou ausência (score 0) de depósitos de biofilme, na região adjacente à mucosa marginal do implante ou da gengiva marginal do dente sem utilização de sonda; 2) Índice de sangramento gengival – de acordo com Ainamo e Bay (1975): presença ou ausência de sangramento durante o percurso da sonda periodontal (PCP UNC-BR 15 Hu-Friedy, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) entre 1-2 mm intrasulcular ao redor dos dentes e implante e sua remoção após 30 segundos; 3) Profundidade de sondagem – por meio de sonda milimetrada (PCP UNC -BR 15 Hufriedy, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) compreendendo a distância da margem da gengiva marginal livre até o fundo da bolsa ou da mucosa marginal até o sulco peri-implantar; 4) Sangramento à sondagem - presença ou ausência do sangramento nos seis sítios dos dentes e do implante selecionado após 30 segundos de sondagem; 5) Exsudato e Supuração: presente ou ausente, determinado pela pressão digital da mucosa da gengiva marginal ou da mucosa peri-implantar (MOMBELLI; LANG, 1994).

#### **4.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA**

##### **4.6.1 Seleção dos sítios dentários e peri-implantares e coleta de amostras**

Após a profilaxia periodontal e peri-implantar utilizando escova Robson e pasta abrasiva, as amostras do biofilme bacteriano subgengival e submucosal foram

coletados de 1 (hum) sítio peri-implantar de maior profundidade clínica de sondagem e de 2 (dois) sítios dentários não-contíguos mesial e distal ao implante e de maiores profundidades clínica de sondagem de cada paciente com auxílio de uma cureta de teflon estéril (HuFriedy, Chicago, IL, USA) para a análise microbiológica pelo Checkerboard DNA-DNA (Tabela 1). Logo após, as amostras foram transferidas individualmente para tubos de plástico tipo Eppendorf, identificados com as iniciais de cada paciente contendo 150 µl de solução de TE (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7,6). A cada tubo Eppendorf, contendo a amostra do biofilme subgengival ou submucosal, foram adicionados 0,10 ml de 0,5 M NaOH com auxílio de uma micropipeta de alta performance (Peguepet®) calibrada (ANEXO B). Posteriormente, os tubos foram mantidos em freezer a -80°C, na sala fria do Luccar (Laboratório de Ultraestrutura e Morfologia Carlos Alberto Redins), localizado no Prédio Didático do Ciclo Básico I do Centro de Ciências da Saúde, Ufes, até o processamento. O processamento e a análise das amostras seguiram o método do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* descrito por SOCRANSKY et al. (1994).

**TABELA 1: DESCRIÇÃO DOS IMPLANTES E DENTES AVALIADOS**

	Implantes	n	%	Dentes	n	%
Arcada	Maxila	9	45,00	Maxila	24	60,00
	Mandíbula	11	55,00	Mandíbula	16	40,00
Região	Incisivo superior	1	5,00	Incisivo superior	0	0,00
	Canino superior	0	0,00	Canino superior	2	5,00
	Pré molar superior	8	40,00	Pré molar superior	10	25,00
	Molar superior	0	0,00	Molar superior	12	30,00
	Incisivo inferior	0	0,00	Incisivo inferior	2	5,00
	Canino inferior	0	0,00	Canino inferior	1	2,50
	Pré molar inferior	1	5,00	Pré molar inferior	5	12,50
	Molar inferior	10	50,00	Molar inferior	8	20,00
Condição clínica	Coroas cimentadas	19	95,00	Hígido	12	30,00
				Restaurado	25	62,5
	Coroa aparafusada	1	5,00	Cariado	03	7,50
Tempo em função até o momento de análise	1 a 6 meses	14	70,00			
	6 meses a 1 ano	0	0,00			
	1 a 2 anos	5	25,00			
	Acima de 2 anos	1	5,00			

#### **4.6.2 Checkerboard DNA-DNA Hybridization - Extração do DNA bacteriano dos biofilmes**

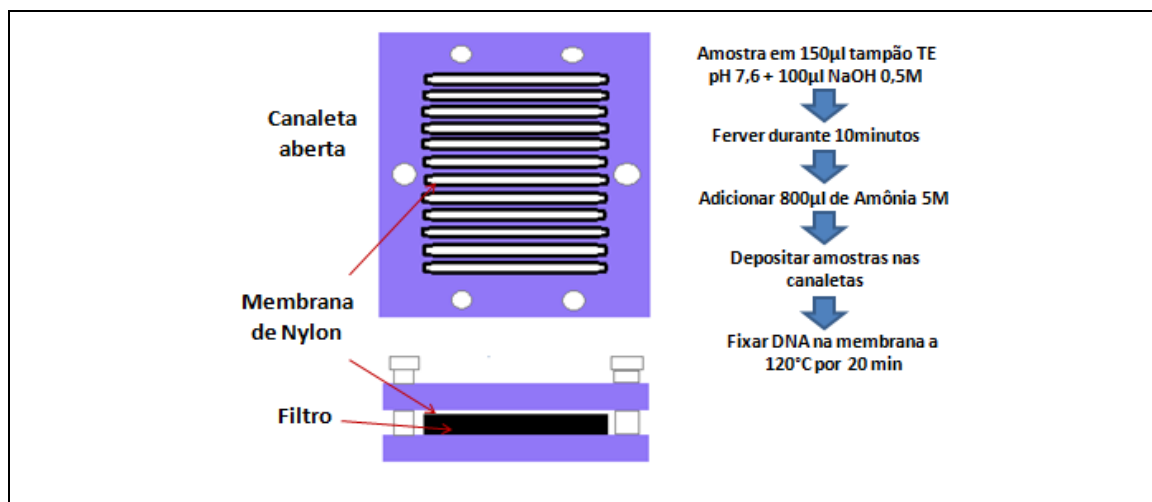
O processamento/análise das amostras foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Odontologia II, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular do Programa de Pós-graduação de Odontologia da Universidade de Guarulhos/UnG em Guarulhos, São Paulo, Brasil, cuja operacionalização foi viabilizada por parceria interinstitucional.

A identificação dos microrganismos presentes no biofilme subgengival/submucosal dos sítios selecionados foi realizada por meio da técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*, descrita por SOCRANSKY et al. (1994). Esta técnica é um método de diagnóstico que oferece vantagens em relação aos métodos tradicionais de cultura microbiana, incluindo a detecção de microrganismos de desenvolvimento lento, nutricionalmente exigentes ou fastidiosos, além de detecção da microbiota não cultivável. É também um método mais rápido que o empregado na técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), pois utiliza várias sondas de DNA de uma única vez (SIQUEIRA et al., 2000; MORAES et al., 2002). Outras vantagens da técnica incluem: permitir a avaliação de várias espécies em um grande número de amostras de uma única vez, permitir a detecção de microrganismos menos comuns não identificáveis por técnica de cultura microbiana e apresentar alta especificidade (92%), permitir a detecção sem a necessidade de amplificação. Entretanto, apresenta algumas limitações como a sensibilidade, não sendo uma técnica tão sensível quanto ao PCR, por permitir a detecção de um número a partir de  $10^4$  células, sendo por isto um método semi-quantitativo, além de detectar apenas espécies cuja sondas foram previamente selecionadas (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY et al., 2004).

A cada tubo de Eppendorf, contendo a amostra de placa subgengival, foram adicionados 0,15ml de 0,5M NaOH. As suspensões foram fervidas em banho-maria por 5 min e em seguidas neutralizadas pela adição de 0,8 ml de 5M de acetato de amônia, promovendo a lise celular e ficando DNA bacteriano suspenso na solução. Cada suspensão de placa contendo DNA livre foi depositada nas fendas do "Minislot" (IMMUNETICS, Cambridge, MA, USA) e

transferida para a membrana de nylon o DNA concentrado com carga positiva (BOEHRINGER MANNHEIM, Indianápolis, IN, USA). A membrana foi removida do aparato e o DNA depositado na membrana foi então fixado na mesma por intermédio de aquecimento em forno a 120°C por 20 min. As duas últimas canaletas do “Minislot” foram reservadas para a colocação dos controles, contendo uma mistura das espécies de microrganismos que foram investigados pelas sondas de DNA, em duas concentrações,  $10^5$  e  $10^6$  células bacterianas (Figuras 2 e 3).

Figura 2 - Representação gráfica do Minislot - Resumo da preparação e deposição das amostras clínicas de biofilme subgingival bacteriano (Técnica do Checkerboard DNA-DNA Hybridization).



Fonte: Modificação da ilustração de Lucena (2014).

Figura 3 - Minislot para as amostras do biofilme subgingival bacteriano

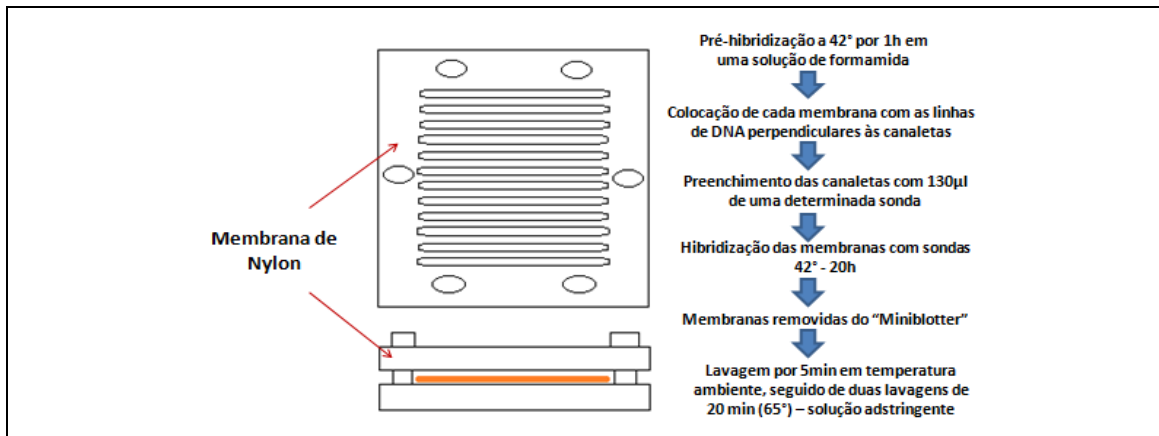


Fonte: Arquivo pessoal LBDP – UnG, Guarulhos – SP (2017).

#### 4.6.3 Hibridização das membranas com as sondas de DNA

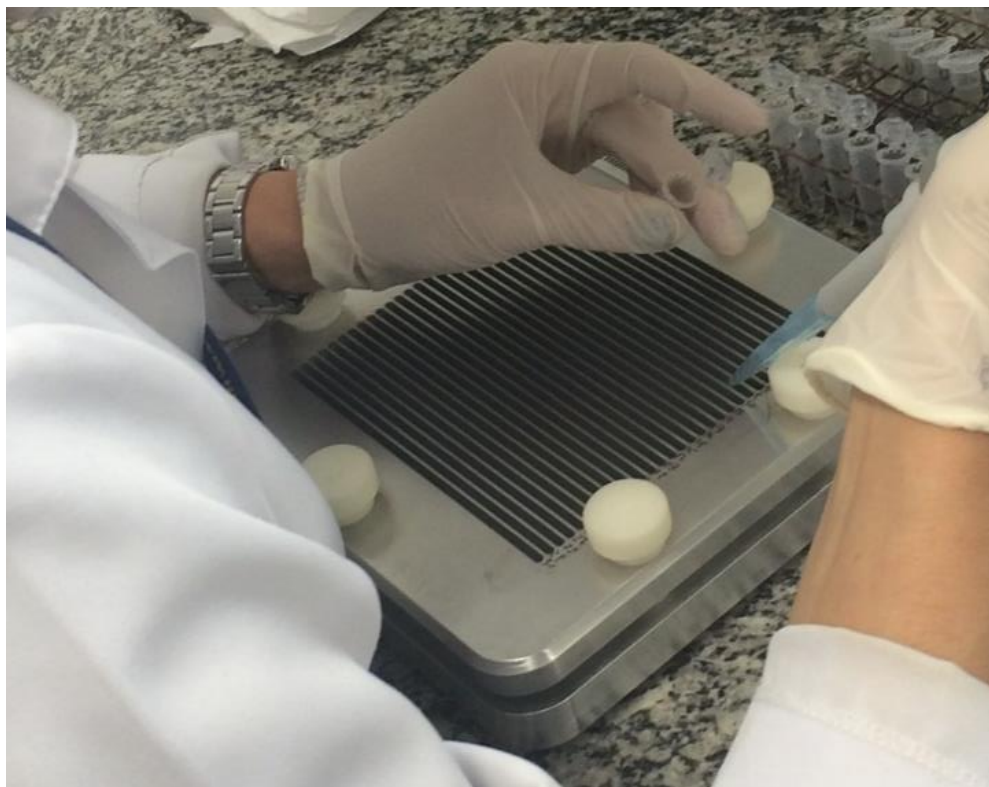
Após fixação do DNA nas membranas, essas foram pré-hibridizadas a 42°C por 1 hora numa solução de 50% formamida, 1% caseína, 5 X de tampão salina citrato – SSC(1 x SSC = 150 mMNaCl, 15 mM de citrato de sódio, p 7,0), 25 mM de fosfato de sódio (pH 6.5) e 0,5 mg/ml de RNA de levedura. Em seguida, cada membrana foi colocada sob a placa acrílica do “Miniblotter 45” (IMMUNETICS, Cambridge, MA, USA) com as linhas contendo os DNAs fixados perpendiculares às canaletas do aparato. O “Miniblotter” contém 45 canaletas que servem cada uma para a colocação de uma sonda de DNA (Figuras 4 e 5). As sondas de DNA foram confeccionadas usando o “*random primer digoxigenin labeling Kit*” (BOEHRINGER MANNHEIM), como descrito por FEINBERG e VOGELSTEIN (1983). A relação das 40 cepas bacterianas utilizadas neste estudo para o preparo das sondas de DNA esta apresentada na tabela 2, selecionadas devido à sua associação com diferentes tipos de doenças e saúde periodontais (HAFFAJEE; SOCRANSKY, 1994). Anteriormente ao seu uso, as sondas foram testadas com uma mistura controle contendo as espécies investigadas, numa concentração de 10<sup>4</sup> células bacterianas. Suas concentrações foram ajustadas de tal modo que as intensidades dos sinais de todas as sondas fossem semelhantes. Cada canaleta do “Miniblotter 45” foi preenchida com 130 µl de uma determinada sonda, contida numa solução de hibridização (45% formamida, 5 X SSC, 20 mM de fosfato de sódio (pH 6.5), 0,2 mg/ml de RNA de levedura, 10% de sulfato de dextrano, 1% caseína e 20 ng/ml de sonda de DNA). As sondas foram hibridizadas perpendicularmente às linhas contendo o DNA bacteriano fixadas, propiciando um formato de xadrez com as linhas de DNA, horizontais, e as sondas, verticais. O aparato contendo as membranas foi colocado dentro de um saco plástico para evitar a desidratação das mesmas. A hibridização das membranas com as sondas ocorreu a 42°C, durante um período mínimo de 20 horas.

Figura 4 - Representação gráfica do “Miniblotter 45” e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival bacteriano.



Fonte: Modificação da ilustração de Lucena (2014).

Figura 5 – Manipulação das amostras de biofilme subgengival bacteriano no “Miniblotter 45”



Fonte: Arquivo pessoal LBDP – UnG, Guarulhos – SP (2017).

**TABELA 2 - RELAÇÃO DAS 40 ESPÉCIES BACTERIANAS USADAS PARA A OBTENÇÃO DAS SONDAS DE DNA**

Complexo Bacteriano	Espécie	Cepas
<b>Azul</b>	<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860 <sup>a</sup>
	<i>Actinomyces israelii</i>	23860 <sup>a</sup>
	<i>Actinomyces naeslundii I</i>	12104 <sup>a</sup>
	<i>Actinomyces oris</i>	43146 <sup>a</sup>
<b>Roxo</b>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929 <sup>a</sup>
	<i>Veillonella parvula</i>	10790 <sup>a</sup>
<b>Amarelo</b>	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558 <sup>a</sup>
	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335 <sup>a</sup>
	<i>Streptococcus mitis</i>	49456 <sup>a</sup>
	<i>Streptococcus oralis</i>	35037 <sup>a</sup>
<b>Verde</b>	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556 <sup>a</sup>
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans a+ b</i>	43718 <sup>a+</sup> 29523 <sup>a</sup>
	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624 <sup>a</sup>
	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596 <sup>a</sup>
	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612 <sup>a</sup>
<b>Laranja</b>	<i>Eikenella corrodens</i>	23834 <sup>a</sup>
	<i>Fusobacterium nucleatum sp. polymorphum</i>	10953 <sup>a</sup>
	<i>Fusobacterium nucleatum sp. vincentii</i>	49256 <sup>a</sup>
	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693 <sup>a</sup>
	<i>Parvimonas micra</i>	33270 <sup>a</sup>
	<i>Prevotella intermedia</i>	25611 <sup>a</sup>
	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563 <sup>a</sup>
	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823 <sup>a</sup>
	<i>Campylobacter rectus</i>	33238 <sup>a</sup>
	<i>Eubacterium nodatum</i>	33099 <sup>a</sup>
	<i>Campilobacter gracilis</i>	33236 <sup>a</sup>
	<i>Campylobacter showae</i>	51146 <sup>a</sup>
	<i>Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum</i>	25586 <sup>a</sup>
<b>Vermelho</b>	<i>Tannerella forsythia</i>	43037 <sup>a</sup>
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277 <sup>a</sup>
	<i>Treponema denticola</i>	B1 <sup>b</sup>
<b>Outras espécies</b>	<i>Eubacterium saburreum</i>	33271 <sup>a</sup>
	<i>Gemella morbillorum</i>	27824 <sup>a</sup>
	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201 <sup>a</sup>
	<i>Neisseria mucosa</i>	19696 <sup>a</sup>
	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845 <sup>a</sup>
	<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	11827 <sup>a+</sup> 11828 <sup>a</sup>
	<i>Selenomonas noxia</i>	43541 <sup>a</sup>
	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397 <sup>a</sup>
	<i>Treponema socranskii</i>	S1 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> ATCC (American Type Culture Collection) ; <sup>b</sup> Forsyth Institute, Boston, MA.

#### 4.6.4 Detecção das espécies bacterianas

Após hibridização com as sondas, as membranas foram removidas do “Miniblotter” e lavadas por 5 minutos em temperatura ambiente, seguido de duas lavagens de 20 minutos, a 65°C, numa solução adstringente (0,1 X SSC, 0,1% SDS), a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, as membranas foram imersas por 1 hora numa solução contendo 0,1 M ácido maleico, 3M NaCl, 0,2 M NaOH, 0,3% Tween 20, 0,5% caseína, pH 8,0, e por 30 minutos na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (BOEHRINGER MANNHEIM), numa diluição de 1/10.000. As membranas foram, então, lavadas com uma solução de 0,1M ácido maleico, 3M NaCl, 0,2M NaOH, 0.3% Tween 20, pH 8.0, 2 vezes por 20 minutos, e uma vez por 5 minutos em 0,1M Tris HCl, 0,1M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9.5. Em seguida, as membranas foram incubadas em uma solução detectora, LumiPhos 530 (LUMIGEN, Southfield, MI, USA), por 45 minutos a 37°C. Finalmente, as membranas foram colocadas em um cassete sob Chassi radiográfico 30 X 40 cm (Konex, São Paulo, SP, Brasil), sobre um filme radiográfico de 18 X 24 cm (Kodak X-OMAT) por, aproximadamente, 40 minutos. O filme foi revelado manualmente, pelo método convencional tempo-temperatura, de acordo com orientações do fabricante, empregando soluções Kodak (Kodak Brasileira Com. e Ind. Ltda, São José dos Campos, SP, Brasil), mantidas à temperatura de 20°C.

A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado, da seguinte forma: cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de placa foi comparado em intensidade ao sinal produzido pela mesma sonda nos dois controles contendo 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> bactérias. A sensibilidade foi ajustada para permitir a detecção de 10<sup>4</sup> células das espécies que estavam sendo avaliadas pelo ajuste de concentração da sonda de DNA.

A fim de facilitar a anotação dos resultados em fichas elaboradas especificamente para esse fim, foram empregados os seguintes escores: escore 0: quando não houver detecção do sinal de quimioluminescência; escore 1: equivale a um sinal menos intenso que o controle de 10<sup>5</sup> células; escore 2: equivale a aproximadamente 10<sup>5</sup> células; escore 3: entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> células; escore 4 aproximadamente 10<sup>6</sup> células e escore 5: mais de 10<sup>6</sup> células. Estes

registros foram então utilizados para determinar os níveis das diferentes espécies investigadas no estudo, expressos em nível médio de cada espécie (contagem) em cada sítio (tabela 3).

**TABELA 3 – CONVERSÃO DOS ESCORES EM VALORES NUMÉRICOS PARA CADA MICRORGANISMO AVALIADO NAS AMOSTRAS DE BIOFILME BACTERIANO OBTIDAS DOS IMPLANTES E DOS DENTES, *IN VIVO*, PELA TÉCNICA CHECKERBOARD DNA-DNA HYBRIDIZATION.**

Escore	Nível de detecção do microrganismo	Número de microrganismos
0	Não detectado	0
1	Menos de $10^5$ células	10.000 ( $1 \times 10^4$ )
2	Aproximadamente $10^5$ células	100.000 ( $1 \times 10^5$ )
3	Entre $10^5$ a $10^6$ células	500.000 ( $5 \times 10^5$ )
4	Aproximadamente $10^6$ células	1.000.000 ( $1 \times 10^6$ )
5	Mais de $10^6$ células	10.000.000 ( $1 \times 10^7$ )

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes estatísticos foram realizados pelo programa IBM SPSS *Statistics* versão 24.

A descrição dos resultados periodontais e microbiológicos foram apresentados pela frequência observada, porcentagem, mediana, média e desvio padrão. Para cada implante avaliado foi preenchida uma ficha de coleta de dados, especialmente desenvolvida para este estudo, com todas as variáveis a serem obtidas. A análise estatística dos dados descreveu o perfil dos pacientes (idade, sexo, escolaridade, renda individual), hábitos de vida, saúde em geral, características estruturais dos implantes e parâmetros clínicos e microbiológicos.

A associação dos parâmetros clínicos periodontais, peri-implantares e de microbiota entre as regiões foi realizada pelo teste do Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher. E a comparação das proporções dos parâmetros em cada região se utilizou o teste do qui-quadrado para uma amostra.

O teste de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis compararam os parâmetros clínicos periodontais e de microbiota entre as regiões. Quando o teste de Kruskal-Wallis apresentou significância se utilizou o teste de comparações múltiplas de Duncan.

O teste Binomial para duas proporções comparou as proporções de bactérias nos complexos entre as regiões.

O nível de significância adotado para todas as análises foi igual a 5% ( $p < 0,050$ ), com um nível de confiança de 95% para os resultados apresentados.

A Hipótese nula considerou não haver correlação entre os dados clínicos e microbiológicos entre as regiões.

## 5 RESULTADOS

Os participantes foram avaliados em um único momento, onde 75,00% são do sexo feminino. 40,00% têm ensino médio completo. 50,00% recebem mais de 1 e menos de 3 salários mínimos individuais. 75,00% não têm hábitos parafuncionais. 65,00% têm saúde oral regular. 60,00% escovam entre 3 a 4 vezes ao dia e 95,00% usam fio dental diariamente. A média de idade foi de 54,4 anos ( $\pm$  DP 6,6 anos) e a média de frequência de uso de fio dental por dia foi de 2,4 ( $\pm$  DP 1,1) (Tabela 4).

**TABELA 4: DESCRIÇÃO SOCIOECONÔMICA E DE HÁBITOS**

		N	%
Sexo	Feminino	15	75,00
	Masculino	5	25,00
Escolaridade	Ensino fundamental	6	30,00
	Ensino médio incompleto	1	5,00
	Ensino médio completo	8	40,00
	Superior incompleto	1	5,00
	Superior completo	4	20,00
Renda individual	Até 1 salário mínimo	6	30,00
	Mais de 1 e menos de 3 salários mínimos	10	50,00
	Mais de 3 e menos de 5 salários mínimos	0	0,00
	5 ou mais salários mínimos	4	20,00
Hábitos parafuncionais	Ausente	15	75,00
	Presente	5	25,00
Saúde oral	Boa	7	35,00
	Regular	13	65,00
Escovação diária	1 a 2 vezes	5	25,00
	3 a 4 vezes	12	60,00
	Mais de 4 vezes	3	15,00
Fio dental	Sim	19	95,00
	Não	1	5,00
		Mediana	Média ( $\pm$ DP)
Idade		54,5	54,4 (6,6)
Frequência do uso do fio dental por dia		2,5	2,4 (1,1)

A profundidade de sondagem de 4,0 a 5,0mm teve uma predominância de 60% nos implantes, o mesmo ocorrendo para o nível de inserção clínica desta variável. A profundidade de sondagem no dente proximal de 4,0 a 5,0mm apresentou 78,95% em relação ao nível de inserção clínica  $\geq 6,0$ mm com associação estatisticamente significativa. ( $p=0,019$ ).

No dente distal, bem como no total das regiões, a profundidade de sondagem foi semelhante ao nível de inserção clínica, porém sem nenhuma significância (Tabela 5).

**TABELA 5: ASSOCIAÇÃO DA PROFUNDIDADE DE SONDADE E NÍVEL DE INSERÇÃO CLÍNICO EM CADA REGIÃO E NO TOTAL**

		Categoria da profundidade de sondagem	N	%	Valor p*
Implante	PS	4,0 a 5,0mm	12	60,00	0,503
		$\geq 6,0$ mm	8	40,00	
	NIC	4,0 a 5,0mm	12	60,00	0,503
		$\geq 6,0$ mm	8	40,00	
Dente proximal	PS	4,0 a 5,0mm	15	78,95	<b>0,019</b>
		$\geq 6,0$ mm	4	21,05	
	NIC	4,0 a 5,0mm	13	68,42	0,167
		$\geq 6,0$ mm	6	31,58	
Dente distal	PS	4,0 a 5,0mm	9	47,37	0,999
		$\geq 6,0$ mm	10	52,63	
	NIC	4,0 a 5,0mm	9	47,37	0,999
		$\geq 6,0$ mm	10	52,63	
Total	PS	4,0 a 5,0mm	36	62,07	0,087
		$\geq 6,0$ mm	22	37,93	
	NIC	4,0 a 5,0mm	34	58,62	0,237
		$\geq 6,0$ mm	24	41,38	

(\*) Teste do qui-quadrado para uma amostra; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

PS - Profundidade de sondagem; NIC - Nível de inserção clínico

Alterações estatisticamente significantes ( $p < 0,001$ ) no índice de placa visível (IPV) entre o implante, dente proximal e dente distal foram observadas, enquanto que não houve diferença entre as quantidades de sangramento à sondagem entre essas regiões (Tabela 6).

**TABELA 6: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL E ÍNDICE SANGRAMENTO À SONDAÇÃO ENTRE AS REGIÕES**

	Região	Média dos postos	Valor p*
	Implante	12,13 <sup>a</sup>	
IPV	Dente proximal	<b>39,88b</b>	<b>&lt; 0,001</b>
	Dente distal	<b>39,50b</b>	
	Implante	31,43	
ISS	Dente proximal	27,73	0,667
	Dente distal	32,35	

(\*) Teste de Kruskal-Wallis; Letras diferentes indicam diferenças entre os postos (Teste de comparações múltiplas de Duncan)

IPV - Índice de placa visível; ISS - Índice de sangramento à sondagem

As associações das bactérias entre as regiões foram avaliadas quanto à profundidade de sondagem de bolsa maior ou igual a 4,0. Não houve associação significativa de bactérias detectáveis com profundidade de sondagem entre as regiões. Portanto, ter bactéria presente e profundidade de sondagem de bolsa de 4,0 ou mais independe das regiões (Tabela 7).

**TABELA 7: ASSOCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES E RELACIONADAS À PROFUNDIDADE DE SONDAGEM ENTRE AS REGIÕES**

(CONTINUA)

Complexo	Bactéria	Categoria da profundidade de sondagem	Região						Valor p*
			Implante		Dente proximal		Dente distal		
			n	%	N	%	n	%	
Vermelho	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	8	66,67	4	36,36	0,372
		≥ 6,0mm	2	40,00	4	33,33	7	63,64	
	<i>Treponema denticola</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	9	81,82	4	50,00	0,394
		≥ 6,0mm	2	40,00	2	18,18	4	50,00	
	<i>Tannerella forsythia</i>	4,0 a 5,0mm	2	100,00	6	75,00	3	50,00	0,462
		≥ 6,0mm	0	0,00	2	25,00	3	50,00	
Laranja	<i>Streptococcus constellatus</i>	4,0 a 5,0mm	5	62,50	8	66,67	3	42,86	0,615
		≥ 6,0mm	3	37,50	4	33,33	4	57,14	
	<i>Eubacterium nodatum</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	7	63,64	3	37,50	0,503
		≥ 6,0mm	1	33,33	4	36,36	5	62,50	
	<i>F. n. (sp. vincentii)</i>	4,0 a 5,0mm	5	55,56	10	71,43	7	43,75	0,330
		≥ 6,0mm	4	44,44	4	28,57	9	56,25	
	<i>Campylobacter rectus</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	8	72,73	3	42,86	0,556
		≥ 6,0mm	2	40,00	3	27,27	4	57,14	
	<i>Parvimonas micra</i>	4,0 a 5,0mm	6	75,00	10	76,92	5	41,67	0,163
		≥ 6,0mm	2	25,00	3	23,08	7	58,33	
	<i>Prevotella nigrescens</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	9	69,23	8	53,33	0,652
		≥ 6,0mm	3	50,00	4	30,77	7	46,67	
<i>F.n. (sp. polymorphum)</i>	4,0 a 5,0mm	4	57,14	8	72,73	4	44,44	0,487	
	≥ 6,0mm	3	42,86	3	27,27	5	55,56		
Laranja	<i>Campylobacter showae</i>	4,0 a 5,0mm	5	62,50	9	69,23	4	44,44	0,571
		≥ 6,0mm	3	37,50	4	30,77	5	55,56	
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	4,0 a 5,0mm	5	71,43	8	66,67	7	58,33	0,899	
	≥ 6,0mm	2	28,57	4	33,33	5	41,67		
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	6	60,00	4	66,67	0,999	
	≥ 6,0mm	1	33,33	4	40,00	2	33,33		

(\*) Teste do qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 7: ASSOCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES E RELACIONADAS À PROFUNDIDADE DE SONDAGEM ENTRE AS REGIÕES**

**(CONTINUAÇÃO)**

Complexo	Bactéria	Categoria da profundidade de sondagem	Região						Valor p*	
			Implante		Dente proximal		Dente distal			
			n	%	n	%	n	%		
Laranja	<i>Campylobacter gracilis</i>	4,0 a 5,0mm	0	0,00	0	0,00	0	0,00	-	
		≥ 6,0mm	1	0,00	1	100,00	2	100,00		
	<i>Prevotella intermedia</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	9	69,23	6	46,15		0,634
		≥ 6,0mm	2	40,00	4	30,77	7	53,85		
Amarelo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	8	80,00	2	28,57	0,077	
		≥ 6,0mm	1	25,00	2	20,00	5	71,43		
	<i>Streptococcus oralis</i>	4,0 a 5,0mm	5	71,43	2	50,00	7	63,64	0,675	
		≥ 6,0mm	2	28,57	2	50,00	4	36,36		
	<i>Streptococcus intermedius</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	8	72,73	5	55,56	0,864	
		≥ 6,0mm	2	40,00	3	27,27	4	44,44		
	<i>Streptococcus gordonii</i>	4,0 a 5,0mm	6	75,00	8	66,67	4	50,00	0,692	
		≥ 6,0mm	2	25,00	4	33,33	4	50,00		
	<i>Streptococcus mitis</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	5	83,33	2	50,00	0,748	
		≥ 6,0mm	1	33,33	1	16,67	2	50,00		
	Roxo	<i>Veillonella parvula</i>	4,0 a 5,0mm	9	64,29	13	76,47	8	47,06	0,239
			≥ 6,0mm	5	35,71	4	23,53	9	52,94	
<i>Actinomyces odontolyticus</i>		4,0 a 5,0mm	4	66,67	11	73,33	5	55,56	0,784	
		≥ 6,0mm	2	33,33	4	26,67	4	44,44		
Verde	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans sorotipo a.</i>	4,0 a 5,0mm	1	50,00	8	80,00	2	40,00	0,268	
		≥ 6,0mm	1	50,00	2	20,00	3	60,00		
	<i>Capnocytophaga ochraceae</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	10	76,92	6	46,15	0,260	
		≥ 6,0mm	3	50,00	3	23,08	7	53,85		
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	4,0 a 5,0mm	6	66,67	7	63,64	3	42,86	0,690		
	≥ 6,0mm	3	33,33	4	36,36	4	57,14			
<i>Eikenella corrodens</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	7	77,78	2	40,00	0,322		
	≥ 6,0mm	3	50,00	2	22,22	3	60,00			
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	4,0 a 5,0mm	4	50,00	8	66,67	6	46,15	0,669		
	≥ 6,0mm	4	50,00	4	33,33	7	53,85			

(\*) Teste do Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher; (-) Estatística não computada porque só há casos em um grupo; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 7: ASSOCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES E RELACIONADAS À PROFUNDIDADE DE SONDAGEM ENTRE AS REGIÕES**

Complexo	Bactéria	Categoria da profundidade de sondagem	(CONCLUSÃO)						Valor p*
			Implante		Região Dente proximal		Dente distal		
			N	%	n	%	n	%	
Azul	<i>Actinomyces naeslundii I</i>	4,0 a 5,0mm	8	80,00	11	73,33	6	42,86	0,123
		≥ 6,0mm	2	20,00	4	26,67	8	57,14	
	<i>Actinomyces gerencseriae</i>	4,0 a 5,0mm	2	50,00	8	66,67	5	41,67	0,473
		≥ 6,0mm	2	50,00	4	33,33	7	58,33	
	<i>Actinomyces israelii</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	8	66,67	4	40,00	0,484
		≥ 6,0mm	1	25,00	4	33,33	6	60,00	
	<i>Actinomyces oris</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	10	76,92	5	41,67	0,200
		≥ 6,0mm	3	50,00	3	23,08	7	58,33	
<i>Treponema socranskii</i>	4,0 a 5,0mm	6	75,00	10	71,43	4	50,00	0,608	
	≥ 6,0mm	2	25,00	4	28,57	4	50,00		
<i>Eubacterium saburreum</i>	4,0 a 5,0mm	1	100,00	1	50,00	2	66,67	0,999	
	≥ 6,0mm	0	0,00	1	50,00	1	33,33		
<i>Streptococcus anginosus</i>	4,0 a 5,0mm	2	100,00	7	70,00	3	42,86	0,407	
	≥ 6,0mm	0	0,00	3	30,00	4	57,14		
<i>Neisseria mucosa</i>	4,0 a 5,0mm	8	66,67	10	71,43	5	50,00	0,618	
	≥ 6,0mm	4	33,33	4	28,57	5	50,00		
Outras espécies	<i>Selenomonas noxia</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	8	72,73	7	53,85	0,624
		≥ 6,0mm	3	50,00	3	27,27	6	46,15	
<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	5	71,43	4	57,14	0,999	
	≥ 6,0mm	2	40,00	2	28,57	3	42,86		
<i>Prevotella melaninogenica</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	8	66,67	5	45,45	0,569	
	≥ 6,0mm	1	25,00	4	33,33	6	54,55		
<i>Gemella morbillorum</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	7	63,64	4	57,14	0,999	
	≥ 6,0mm	1	33,33	4	36,36	3	42,86		
<i>Leptotrichia buccalis</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	8	80,00	5	41,67	0,175	
	≥ 6,0mm	1	25,00	2	20,00	7	58,33		

(\*) Teste do Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

Não houve associação estatisticamente significativa entre presença de bactérias com o nível de inserção clínico entre as regiões. Portanto, ter bactéria presente e nível de inserção clínico de 4,0 ou mais independe das regiões (Tabela 8).

**TABELA 8: ASSOCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES E NOS COMPLEXOS MICROBIANOS COM NÍVEL DE INSERÇÃO CLÍNICO ENTRE AS REGIÕES**  
(CONTINUA)

Complexo	Bactéria	Categoria do nível de inserção clínico	Implante		Região				Valor p*
			n	%	Dente proximal		Dente distal		
					N	%	N	%	
Vermelho	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	6	50,00	4	36,36	0,691
		≥ 6,0mm	2	40,00	6	50,00	7	63,64	
	<i>Treponema denticola</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	7	63,64	4	50,00	0,868
		≥ 6,0mm	2	40,00	4	36,36	4	50,00	
	<i>Tannerella forsythia</i>	4,0 a 5,0mm	2	100,00	5	62,50	3	50,00	0,790
		≥ 6,0mm	0	0,00	3	37,50	3	50,00	
Laranja	<i>Streptococcus constellatus</i>	4,0 a 5,0mm	5	62,50	8	66,67	3	42,86	0,615
		≥ 6,0mm	3	37,50	4	33,33	4	57,14	
	<i>Eubacterium nodatum</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	5	45,45	3	37,50	0,850
		≥ 6,0mm	1	33,33	6	54,55	5	62,50	
	<i>F. n. (sp. vincentii)</i>	4,0 a 5,0mm	5	55,56	9	64,29	7	43,75	0,557
		≥ 6,0mm	4	44,44	5	35,71	9	56,25	
	<i>Campylobacter rectus</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	6	54,55	3	42,86	0,999
		≥ 6,0mm	2	40,00	5	45,45	4	57,14	
	<i>Parvimonas micra</i>	4,0 a 5,0mm	6	75,00	8	61,54	5	41,67	0,330
		≥ 6,0mm	2	25,00	5	38,46	7	58,33	
	<i>Prevotella nigrescens</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	7	53,85	8	53,33	0,999
		≥ 6,0mm	3	50,00	6	46,15	7	46,67	
<i>F.n. (sp. polymorphum)</i>	4,0 a 5,0mm	4	57,14	6	54,55	4	44,44	0,999	
	≥ 6,0mm	3	42,86	5	45,45	5	55,56		
<i>Campylobacter showae</i>	4,0 a 5,0mm	5	62,50	7	53,85	4	44,44	0,806	
	≥ 6,0mm	3	37,50	6	46,15	5	55,56		

(\*) Teste do qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 8: ASSOCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES E NOS COMPLEXOS MICROBIANOS COM NÍVEL DE INSERÇÃO CLÍNICO ENTRE AS REGIÕES (CONTINUAÇÃO)**

Complexo	Bactéria	Categoria do nível de inserção clínico	Região						Valor p*
			Implante		Dente proximal		Dente distal		
			n	%	N	%	n	%	
Laranja	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	4,0 a 5,0mm	5	71,43	6	50,00	7	58,33	0,738
		≥ 6,0mm	2	28,57	6	50,00	5	41,67	
	<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	4	40,00	4	66,67	0,577
		≥ 6,0mm	1	33,33	6	60,00	2	33,33	
	<i>Campylobacter gracilis</i>	4,0 a 5,0mm	0	0,00	0	0,00		0,00	-
		≥ 6,0mm	1	0,00	1	100,00	2	100,00	
	<i>Prevotella intermedia</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	7	53,85	6	46,15	0,999
		≥ 6,0mm	2	40,00	6	46,15	7	53,85	
Amarelo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	6	60,00	2	28,57	0,323
		≥ 6,0mm	1	25,00	4	40,00	5	71,43	
	<i>Streptococcus oralis</i>	4,0 a 5,0mm	3	42,86	2	50,00	5	45,45	0,999
		≥ 6,0mm	4	57,14	2	50,00	6	54,55	
	<i>Streptococcus intermedius</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	6	54,55	5	55,56	0,999
		≥ 6,0mm	2	40,00	5	45,45	4	44,44	
	<i>Streptococcus gordonii</i>	4,0 a 5,0mm	6	75,00	6	50,00	4	50,00	0,621
		≥ 6,0mm	2	25,00	6	50,00	4	50,00	
	<i>Streptococcus mitis</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	4	66,67	2	50,00	0,999
		≥ 6,0mm	1	33,33	2	33,33	2	50,00	
Roxo	<i>Veillonella parvula</i>	4,0 a 5,0mm	9	64,29	11	64,71	8	47,06	0,612
		≥ 6,0mm	5	35,71	6	35,29	9	52,94	
	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	4,0 a 5,0mm	4	66,67	9	60,00	5	55,56	0,999
		≥ 6,0mm	2	33,33	6	40,00	4	44,44	
Verde	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans sorotipo a.</i>	4,0 a 5,0mm	1	50,00	6	60,00	2	40,00	0,793
		≥ 6,0mm	1	50,00	4	40,00	3	60,00	
	<i>Capnocytophaga ochraceae</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	8	61,54	6	46,15	0,896
		≥ 6,0mm	3	50,00	5	38,46	7	53,85	

(\*) Teste do qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 8: ASSOCIAÇÃO DAS BACTÉRIAS PRESENTES E NOS COMPLEXOS MICROBIANOS COM NÍVEL DE INSERÇÃO CLÍNICO ENTRE AS REGIÕES (CONCLUSÃO)**

Complexo	Bactéria	Categoria do nível de inserção clínico	Implante		Região				Valor p*
			N	%	Dente proximal		Dente distal		
					n	%	n	%	
Verde	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	4,0 a 5,0mm	6	66,67	5	45,45	3	42,86	0,623
		≥ 6,0mm	3	33,33	6	54,55	4	57,14	
	<i>Eikenella corrodens</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	5	55,56	2	40,00	0,999
		≥ 6,0mm	3	50,00	4	44,44	3	60,00	
	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	4,0 a 5,0mm	4	50,00	6	50,00	6	46,15	0,999
		≥ 6,0mm	4	50,00	6	50,00	7	53,85	
Azul	<i>Actinomyces naeslundii I</i>	4,0 a 5,0mm	8	80,00	9	60,00	6	42,86	0,207
		≥ 6,0mm	2	20,00	6	40,00	8	57,14	
	<i>Actinomyces gerencseriae</i>	4,0 a 5,0mm	2	50,00	6	50,00	5	41,67	0,999
		≥ 6,0mm	2	50,00	6	50,00	7	58,33	
	<i>Actinomyces israelii</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	6	50,00	4	40,00	0,520
		≥ 6,0mm	1	25,00	6	50,00	6	60,00	
	<i>Actinomyces oris</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	8	61,54	5	41,67	0,725
		≥ 6,0mm	3	50,00	5	38,46	7	58,33	
<i>Treponema socranskii</i>	4,0 a 5,0mm	6	75,00	8	57,14	4	50,00	0,710	
	≥ 6,0mm	2	25,00	6	42,86	4	50,00		
<i>Eubacterium saburreum</i>	4,0 a 5,0mm	1	100,00	1	50,00	2	66,67	0,999	
	≥ 6,0mm	0	0,00	1	50,00	1	33,33		
<i>Streptococcus anginosus</i>	4,0 a 5,0mm	2	100,00	6	60,00	3	42,86	0,438	
	≥ 6,0mm	0	0,00	4	40,00	4	57,14		
<i>Neisseria mucosa</i>	4,0 a 5,0mm	8	66,67	8	57,14	5	50,00	0,769	
	≥ 6,0mm	4	33,33	6	42,86	5	50,00		
Outras espécies	<i>Selenomonas noxia</i>	4,0 a 5,0mm	3	50,00	7	63,64	7	53,85	0,801
		≥ 6,0mm	3	50,00	4	36,36	6	46,15	
<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	4,0 a 5,0mm	3	60,00	3	42,86	4	57,14	0,999	
	≥ 6,0mm	2	40,00	4	57,14	3	42,86		
<i>Prevotella melaninogenica</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	7	58,33	5	45,45	0,670	
	≥ 6,0mm	1	25,00	5	41,67	6	54,55		
<i>Gemella morbillorum</i>	4,0 a 5,0mm	2	66,67	5	45,45	4	57,14	0,999	
	≥ 6,0mm	1	33,33	6	54,55	3	42,86		
<i>Leptotrichia buccalis</i>	4,0 a 5,0mm	3	75,00	6	60,00	5	41,67	0,659	
	≥ 6,0mm	1	25,00	4	40,00	7	58,33		

(\*) Teste do qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

As bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus constellatus*, *Eubacterium nodatum*, *F. n. (sp.vincentii)*, *Campylobacter rectus*, *Parvimonas micra*, *Prevotella nigrescens*, *F.n. (sp. polymorphum)*, *Campylobacter showae*, *Fusobacterium periodonticum*, *Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus gordonii*, *Veillonella parvula*, *Actinomyces odontolyticus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans sorotipo a.*, *Capnocytophaga sputigena*, *Actinomyces naeslundii I*, *Actinomyces gerencseriae*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces oris*, *Treponema socranskii*, *Neisseria mucosa*, *Selenomonas noxia*, *Propionibacterium acnes I + II*, *Prevotella melaninogenica* e *Leptotrichia buccalis* apresentaram diferenças estatisticamente significantes com as quantidades de placa visível (IPV) entre as regiões dos dentes proximal e distal obtiveram maiores valores de IPV, com exceção da bactéria *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sorotipo a, onde esta obteve maior quantidade de IPV para a região do dente distal (**Tabela 9**).

**TABELA 9: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL RELACIONADA COM CADA BACTÉRIA DO COMPLEXO MICROBIANO ENTRE AS REGIÕES**

(CONTINUA)

Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de placa visível	Valor p*
Vermelho	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Implante	3,80 <sup>a</sup>	< 0,001
		Dente proximal	<b>15,42b</b>	
		Dente distal	<b>20,46b</b>	
	<i>Treponema denticola</i>	Implante	4,40 <sup>a</sup>	<b>0,005</b>
		Dente proximal	15,33b	
		Dente distal	16,11b	
Laranja	<i>Tannerella forsythia</i>	Implante	2,75	0,106
		Dente proximal	9,83	
		Dente distal	11,00	
Laranja	<i>Streptococcus constellatus</i>	Implante	5,13 <sup>a</sup>	< 0,001
		Dente proximal	<b>17,23b</b>	
		Dente distal	<b>21,25b</b>	

(\*) Teste de Kruskal-Wallis; abc. Letras diferentes indicam diferenças entre as médias dos postos (Teste de comparações múltiplas de Duncan); (\*\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 9: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL RELACIONADA COM CADA BACTÉRIA DO COMPLEXO MICROBIANO ENTRE AS REGIÕES**

(CONTINUAÇÃO)

Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de placa visível	Valor p*
Laranja	<i>Eubacterium nodatum</i>	Implante	2,67a	<b>0,002</b>
		Dente proximal	<b>11,83b</b>	
		Dente distal	<b>16,67b</b>	
	<i>F. n. (sp.vincentii)</i>	Implante	6,28a	< 0,001
		Dente proximal	<b>24,93b</b>	
		Dente distal	<b>25,32b</b>	
	<i>Campylobacter rectus</i>	Implante	3,70a	<b>0,001</b>
		Dente proximal	<b>14,33b</b>	
		Dente distal	<b>16,81b</b>	
	<i>Parvimonas micra</i>	Implante	5,63a	< 0,001
		Dente proximal	<b>20,04b</b>	
		Dente distal	<b>23,42b</b>	
	<i>Prevotella nigrescens</i>	Implante	4,58a	<b>0,001</b>
		Dente proximal	<b>21,11b</b>	
		Dente distal	<b>21,44b</b>	
	<i>F.n. (sp. polymorphum)</i>	Implante	4,79a	< 0,001
		Dente proximal	<b>17,33b</b>	
		Dente distal	<b>19,35b</b>	
<i>Campylobacter showae</i>	Implante	5,19a	< 0,001	
	Dente proximal	<b>19,57b</b>		
	Dente distal	<b>21,25b</b>		
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	Implante	5,50a	<b>0,001</b>	
	Dente proximal	<b>19,81b</b>		
	Dente distal	<b>20,38b</b>		
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	Implante	3,17a	<b>0,020</b>	
	Dente proximal	<b>10,60b</b>		
	Dente distal	<b>13,50b</b>		
<i>Campylobacter gracilis</i>	Dente proximal	1,50	0,999**	
	Dente distal	1,50		
<i>Prevotella intermedia</i>	Implante	4,50a	<b>0,003</b>	
	Dente proximal	<b>19,71b</b>		
	Dente distal	<b>18,75b</b>		
Amarelo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Implante	3,00a	<b>0,001</b>
		Dente proximal	<b>12,23b</b>	
		Dente distal	<b>16,19b</b>	

(\*) Teste de Kruskal-Wallis; abc. Letras diferentes indicam diferenças entre as médias dos postos (Teste de comparações múltiplas de Duncan); (\*\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 9: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL RELACIONADA COM CADA BACTÉRIA DO COMPLEXO MICROBIANO ENTRE AS REGIÕES**

(CONTINUAÇÃO)					
Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de placa visível	Valor p*	
Amarelo	<i>Streptococcus oralis</i>	Dente proximal	5,14	0,276**	
		Dente distal	7,50		
	<i>Streptococcus intermedius</i>	Implante	3,90 <sup>a</sup>	<b>0,002</b>	
		Dente proximal	<b>15,17b</b>		
	<i>Streptococcus gordonii</i>	Dente distal	<b>17,65b</b>	<b>&lt; 0,001</b>	
		Implante	5,31 <sup>a</sup>		
	<i>Streptococcus mitis</i>	Dente proximal	<b>19,35b</b>	0,080	
		Dente distal	<b>19,00b</b>		
		Implante	3,00		
	Roxo	<i>Veillonella parvula</i>	Implante	8,71 <sup>a</sup>	<b>&lt; 0,001</b>
			Dente proximal	<b>31,78b</b>	
			Dente distal	<b>32,28b</b>	
<i>Actinomyces odontolyticus</i>		Implante	4,67 <sup>a</sup>	<b>0,002</b>	
		Dente proximal	<b>18,22b</b>		
Verde	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans sorotipo a.</i>	Dente distal	<b>20,85b</b>	<b>0,015</b>	
		Implante	1,50 <sup>a</sup>		
		Dente proximal	9,36b		
	<i>Capnocytophaga ochraceae</i>	Dente distal	<b>14,00c</b>	<b>0,001</b>	
		Implante	4,42 <sup>a</sup>		
		Dente proximal	<b>20,29b</b>		
	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	Dente distal	<b>20,32b</b>	<b>&lt; 0,001</b>	
		Implante	5,44 <sup>a</sup>		
		Dente proximal	<b>18,50b</b>		
	<i>Eikenella corrodens</i>	Dente distal	<b>20,50b</b>	<b>0,001</b>	
		Implante	3,83 <sup>a</sup>		
		Dente proximal	<b>13,10b</b>		
		Dente distal	<b>16,50b</b>		

(\*) Teste de Kruskal-Wallis; abc. Letras diferentes indicam diferenças entre as médias dos postos (Teste de comparações múltiplas de Duncan); (\*\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 9: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE ÍNDICE DE PLACA VISÍVEL RELACIONADA COM CADA BACTÉRIA DO COMPLEXO MICROBIANO ENTRE AS REGIÕES**

**(CONCLUSÃO)**

Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de placa visível	Valor p*
Verde	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	Implante	5,31 <sup>a</sup>	< 0,001
		Dente proximal	<b>22,50b</b>	
		Dente distal	<b>21,07b</b>	
Azul	<i>Actinomyces naeslundii I</i>	Implante	6,50 <sup>a</sup>	< 0,001
		Dente proximal	<b>25,34b</b>	
		Dente distal	<b>26,03b</b>	
	<i>Actinomyces gerencseriae</i>	Implante	4,25 <sup>a</sup>	0,018
		Dente proximal	<b>16,81b</b>	
		Dente distal	<b>17,65b</b>	
<i>Actinomyces israelii</i>	Implante	3,75 <sup>a</sup>	0,009	
	Dente proximal	<b>14,88b</b>		
	Dente distal	<b>17,95b</b>		
<i>Actinomyces oris</i>	Implante	4,58 <sup>a</sup>	0,002	
	Dente proximal	<b>19,00b</b>		
	Dente distal	<b>20,58b</b>		
<i>Treponema socranskii</i>	Implante	5,19 <sup>a</sup>	< 0,001	
	Dente proximal	<b>20,00b</b>		
	Dente distal	<b>20,72b</b>		
<i>Eubacterium saburreum</i>	Implante	2,00	0,298	
	Dente proximal	5,00		
	Dente distal	3,00		
<i>Streptococcus anginosus</i>	Implante	2,50	0,066	
	Dente proximal	10,86		
	Dente distal	13,31		
<i>Neisseria mucosa</i>	Implante	7,21 <sup>a</sup>	< 0,001	
	Dente proximal	<b>23,73b</b>		
	Dente distal	<b>27,14b</b>		
Outras espécies	<i>Selenomonas noxia</i>	Implante	3,92 <sup>a</sup>	0,001
		Dente proximal	<b>19,29b</b>	
		Dente distal	<b>19,50b</b>	
<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	Implante	4,00 <sup>a</sup>	0,012	
	Dente proximal	<b>13,13b</b>		
	Dente distal	<b>13,25b</b>		
<i>Prevotella melaninogenica</i>	Implante	4,63 <sup>a</sup>	0,021	
	Dente proximal	<b>15,54b</b>		
	Dente distal	<b>17,88b</b>		
<i>Gemella morbillorum</i>	Implante	3,50	0,055	
	Dente proximal	13,17		
	Dente distal	13,44		
<i>Leptotrichia buccalis</i>	Implante	3,88 <sup>a</sup>	0,013	
	Dente proximal	<b>15,23b</b>		
	Dente distal	<b>17,15b</b>		

(\*) Teste de Kruskal-Wallis; abc. Letras diferentes indicam diferenças entre as médias dos postos (Teste de comparações múltiplas de Duncan); (\*\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

As comparações com as quantidades de sangramento à sondagem em relação às bactérias dos complexos microbianos foram consideradas semelhantes entre as regiões (Tabela 10).

**TABELA 10: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE SANGRAMENTO À SONDAÇÃO RELACIONADO COM CADA BACTÉRIA DOS COMPLEXOS MICROBIANOS ENTRE AS REGIÕES (CONTINUA)**

Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de sangramento à sondagem	Valor p*
Vermelho	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Implante	17,40	0,837
		Dente proximal	14,69	
		Dente distal	15,58	
	<i>Treponema denticola</i>	Implante	12,90	0,980
		Dente proximal	13,63	
		Dente distal	13,67	
<i>Tannerella forsythia</i>	Implante	8,00	0,837	
	Dente proximal	10,17		
	Dente distal	9,07		
Laranja	<i>Streptococcus constellatus</i>	Implante	18,19	0,405
		Dente proximal	13,23	
		Dente distal	14,69	
	<i>Eubacterium nodatum</i>	Implante	12,67	0,998
		Dente proximal	12,42	
		Dente distal	12,56	
<i>F. n. (sp. vincentii)</i>	Implante	22,11	0,749	
	Dente proximal	19,17		
	Dente distal	22,03		
<i>Campylobacter rectus</i>	Implante	14,50	0,609	
	Dente proximal	13,75		
	Dente distal	10,94		
<i>Parvimonas micra</i>	Implante	20,31	0,705	
	Dente proximal	16,61		
	Dente distal	18,08		
<i>Prevotella nigrescens</i>	Implante	19,00	0,989	
	Dente proximal	18,25		
	Dente distal	18,53		
<i>F.n. (sp. polymorphum)</i>	Implante	16,14	0,763	
	Dente proximal	15,63		
	Dente distal	13,45		

(\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 10: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE SANGRAMENTO À SONDAGEM RELACIONADO COM CADA BACTÉRIA DOS COMPLEXOS MICROBIANOS ENTRE AS REGIÕES**

**(CONTINUAÇÃO)**

Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de sangramento à sondagem	Valor p*
Laranja	<i>Campylobacter showae</i>	Implante	16,31	0,988
		Dente proximal	16,79	
		Dente distal	16,25	
	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	Implante	16,14	0,654
		Dente proximal	18,85	
		Dente distal	15,62	
	<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	Implante	12,17	0,305
		Dente proximal	11,90	
		Dente distal	7,79	
	<i>Campylobacter gracilis</i>	Dente proximal	1,50	0,999**
		Dente distal	1,50	
	<i>Prevotella intermedia</i>	Implante	17,40	0,841
Dente proximal		17,96		
Dente distal		15,89		
Amarelo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Implante	11,25	0,938
		Dente proximal	12,50	
		Dente distal	11,69	
	<i>Streptococcus oralis</i>	Dente proximal	6,29	0,697**
		Dente distal	5,50	
	<i>Streptococcus intermedius</i>	Implante	14,80	0,796
		Dente proximal	14,75	
		Dente distal	12,70	
	<i>Streptococcus gordonii</i>	Implante	16,88	0,494
		Dente proximal	16,62	
		Dente distal	12,67	
	<i>Streptococcus mitis</i>	Implante	10,17	0,227
Dente proximal		9,00		
Roxo	<i>Veillonella parvula</i>	Dente distal	5,30	0,747
		Implante	27,79	
		Dente proximal	23,92	
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	Dente distal	25,31	0,869	
	Implante	15,92		
	Dente proximal	17,34		
		Dente distal	15,50	

(\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 10: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE SANGRAMENTO À SONDAGEM RELACIONADO COM CADA BACTÉRIA DOS COMPLEXOS MICROBIANOS ENTRE AS REGIÕES**

**(CONTINUAÇÃO)**

Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de sangramento à sondagem	Valor p*
Verde	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> sorotipo a.	Implante	10,00	0,654
		Dente proximal	10,91	
		Dente distal	8,33	
	<i>Capnocytophaga ochraceae</i>	Implante	19,00	0,864
		Dente proximal	17,82	
		Dente distal	16,54	
	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	Implante	15,44	0,821
		Dente proximal	15,71	
		Dente distal	13,44	
	<i>Eikenella corrodens</i>	Implante	11,17	0,604
		Dente proximal	12,85	
		Dente distal	9,58	
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	Implante	20,38	0,556	
	Dente proximal	18,85		
	Dente distal	15,86		
Azul	<i>Actinomyces naeslundii</i> I	Implante	21,10	0,992
		Dente proximal	20,72	
		Dente distal	21,23	
	<i>Actinomyces gerencseriae</i>	Implante	15,50	0,943
		Dente proximal	16,08	
		Dente distal	14,92	
	<i>Actinomyces israelii</i>	Implante	13,88	0,969
		Dente proximal	14,88	
		Dente distal	14,27	
	<i>Actinomyces oris</i>	Implante	16,67	0,894
		Dente proximal	17,89	
		Dente distal	16,19	
Outras espécies	<i>Treponema socranskii</i>	Implante	16,69	0,878
		Dente proximal	17,17	
		Dente distal	15,22	
	<i>Eubacterium saburreum</i>	Implante	5,00	0,207
		Dente proximal	4,75	
		Dente distal	2,17	
	<i>Streptococcus anginosus</i>	Implante	11,50	0,921
		Dente proximal	11,41	
		Dente distal	10,31	

(\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**TABELA 10: COMPARAÇÃO DAS QUANTIDADES DE SANGRAMENTO À SONDAGEM RELACIONADO COM CADA BACTÉRIA DOS COMPLEXOS MICROBIANOS ENTRE AS REGIÕES**

<b>(CONCLUSÃO)</b>				
Complexo	Bactéria	Região	Média dos postos do índice de sangramento à sondagem	Valor p*
Outras espécies	<i>Neisseria mucosa</i>	Implante	21,50	0,722
		Dente proximal	19,00	
		Dente distal	18,00	
	<i>Selenomonas noxia</i>	Implante	19,83	0,534
		Dente proximal	16,75	
		Dente distal	14,86	
	<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	Implante	9,40	0,327
		Dente proximal	13,50	
		Dente distal	9,50	
	<i>Prevotella melaninogenica</i>	Implante	14,00	0,966
		Dente proximal	15,19	
		Dente distal	15,13	
	<i>Gemella morbillorum</i>	Implante	12,17	0,509
		Dente proximal	13,38	
		Dente distal	9,88	
<i>Leptotrichia buccalis</i>	Implante	17,38	0,743	
	Dente proximal	14,14		
	Dente distal	13,92		

(\*) Teste de Mann-Whitney; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

Houve diferenças significantes das porcentagens de bactérias entre as regiões para os periodontopatógenos: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Eubacterium nodatum*, *F. n. (sp.vincentii)*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus oralis*, *Actinomyces odontolyticus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans sorotipo a.*; *Capnocytophaga ochraceae*, *Actinomyces gerencseriae*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces oris*, *Streptococcus anginosus*, *Selenomonas noxia*, *Prevotella melaninogenica*, *Gemella morbillorum* e *Leptotrichia buccalis* foram maiores para as regiões dos dentes proximal e distal (Gráfico 1).

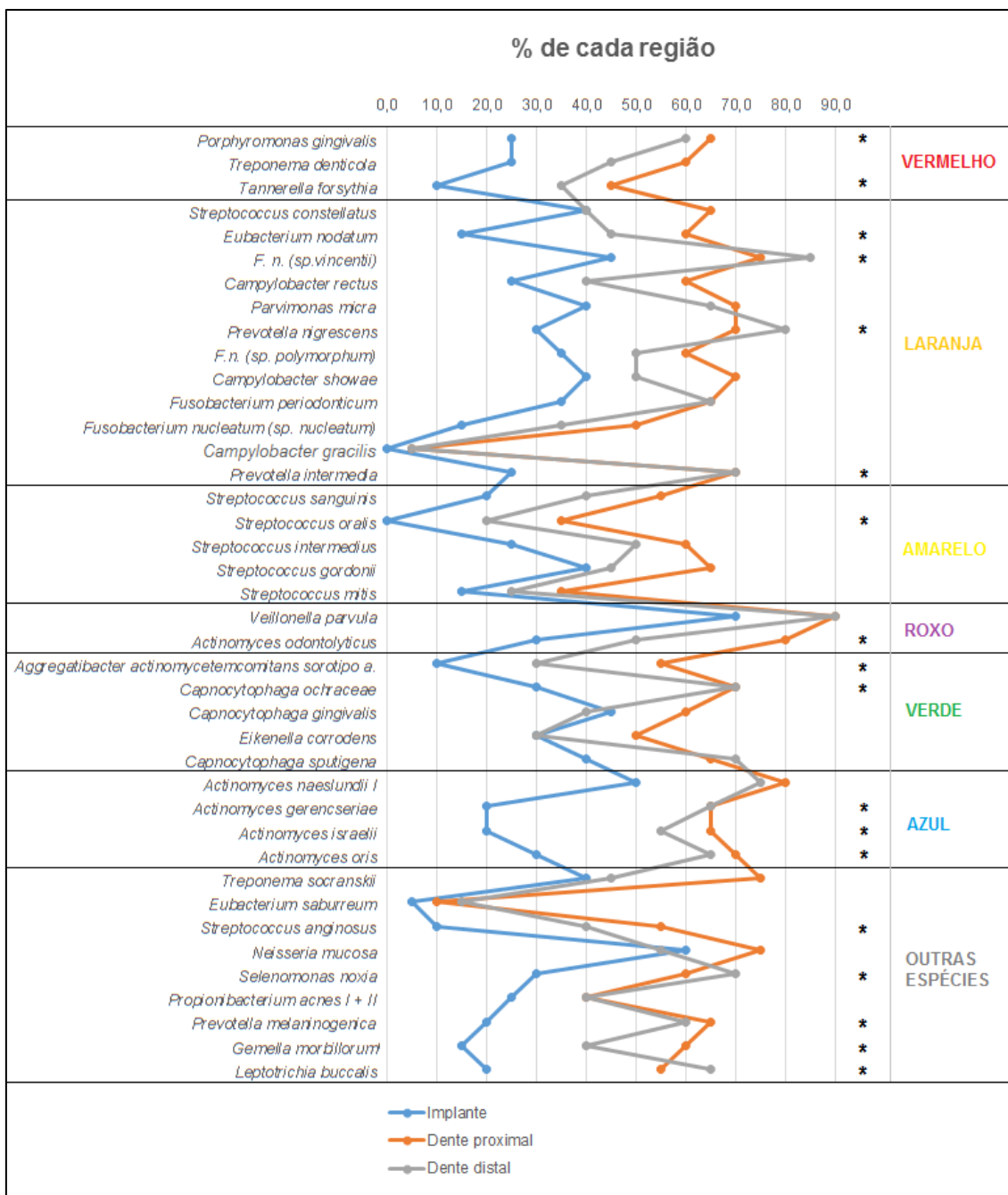


Gráfico 1: Comparação das porcentagens de bactérias com categoria igual ou acima de 3 entre as regiões de implante, dente proximal e dente distal; (\*) Significante ( $p < 0,050$ ) pelos testes do qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher

Houve diferenças significantes das porcentagens de bactérias entre as regiões para os periodontopatógenos: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Eubacterium nodatum*, *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus oralis*, *Actinomyces odontolyticus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans sorotipo a.*, *Capnocytophaga ochraceae*, *Actinomyces naeslundii I*, *Actinomyces*

*gerencseriae*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces oris*, *Streptococcus anginosus*, *Selenomonas noxia*, *Prevotella melaninogenica*, *Gemella morbillorum* e *Leptotrichia buccalis* foram maiores para as regiões dos dentes proximal e distal agrupados (Gráfico 2).

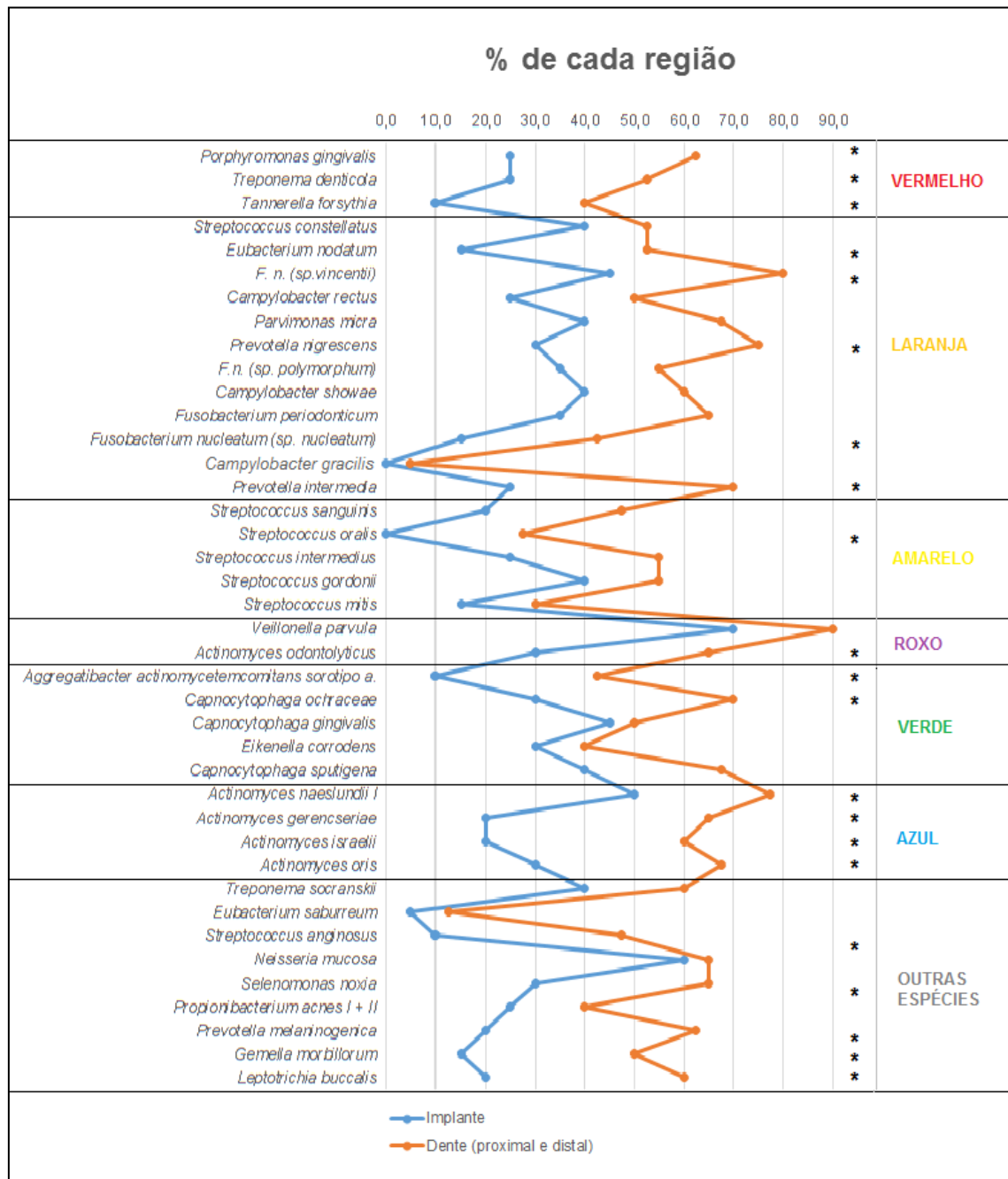


Gráfico 2: Comparação das porcentagens de bactérias com categoria igual ou acima de 3 entre as regiões de implante e dentes proximal e distal agrupados; (\*) Significante ( $p < 0,050$ ) pelos testes do qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher

O complexo laranja em relação ao total de todos os complexos microbianos juntos foi o de maior porcentagem de bactérias com 31,22% na região com implante, 30,19% na região do dente proximal e 31,19% na região do dente distal. Quando se avaliou cada quantidade de bactérias em cada complexo microbiano entre as regiões percebeu-se que a região com implante obteve menores porcentagens de bactérias em relação as regiões dos dentes proximal e distal para o complexo vermelho (16,22%), complexo laranja (20,35%), complexo amarelo (18,87%), complexo verde (24,39%), complexo roxo (22,30%), complexo azul (18,18%) e em outras espécies (19,57%) (Gráfico 3).

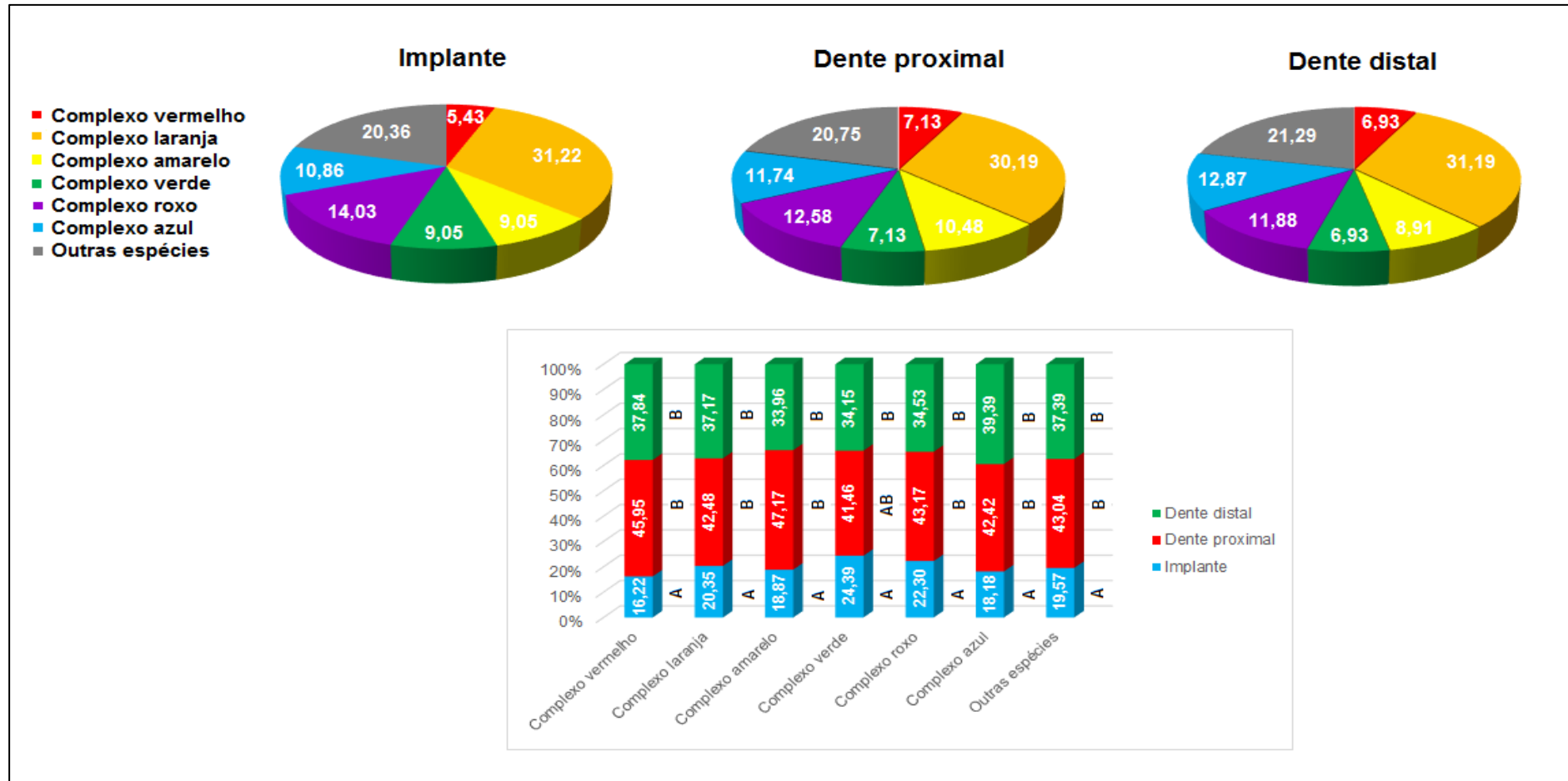


Gráfico 3: Porcentagens de bactérias por complexo e região. AB – Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,050$ ) entre as porcentagens (teste binomial para duas proporções).

Nota: Gráfico de setores o total das porcentagens é em relação ao total de cada região e o gráfico de barras o total das porcentagens é em relação ao total de cada complexo. Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

## 6 DISCUSSÃO

No presente estudo não foram observadas mudanças com relação à profundidade de sondagem (PS) e o nível de inserção clínico (NIC) ao redor de implantes instalados, apesar de haver associação significativa entre profundidade de bolsa e dente proximal (78,95%). De acordo com Pokrowiecki et al. (2017), os parâmetros clínicos PS e NIC fazem parte de um debate universal em relação aos implantes dentários no sentido de se adotar um marcador clínico padrão-ouro. Deve ser mencionado que a profundidade de sondagem de um implante sadio pode variar e seus valores estão relacionados ao tipo de sistema de implante usado, profundidade e angulação do implante, tipo de conexão do abutment-implante, perfil de emergência do abutment, biotipo do tecido mole peri-implantar e rugosidade da superfície do implante (POKROWIECKI et al., 2017). Além disso, diferenças na composição do tecido mole, sua organização e inserção da gengiva fazem com que as condições das mensurações de profundidade de sondagem ao redor de dentes e implantes não sejam totalmente comparáveis (POKROWIECKI et al., 2017). Esses aspectos são importantes, pois as características clínicas da nossa amostra consistem, exclusivamente de condições de saúde peri-implantar, ou seja, nenhum dos pacientes tinha a condição de peri-implantite, apenas alguns apresentaram leve inflamação (sangramento), porém sem edema, sem eritema gengival ou presença de supuração. Além disso, observou-se nos implantes instalados uma baixa porcentagem de placa, porém nos dentes foi mais significativa, mas o sangramento à sondagem mostrou-se semelhante entre estes. Estas condições clínicas podem ser reflexas dos pacientes terem recebido terapia de suporte periodontal intensa, uniforme, e, pelo nível de higiene oral alcançado nos programas de periodontia da Ufes previamente à instalação dos implantes. Por outro lado, o sangramento presente em alguns sítios pode, de uma maneira geral estar associado às faltas das visitas periódicas de manutenção destes pacientes. Este resultado de baixa prevalência de placa e de sangramento difere também do estudo de Renvert et al. (2007), onde a higiene oral deficiente colaborou com uma alta prevalência de sangramento à sondagem. Outro aspecto a ser considerado quanto a este sangramento, refere-se ao tempo de instalação dos implantes. Todos os indivíduos foram reabilitados proteticamente no período entre 2015 a 2018, porém, alguns dos indivíduos receberam carga protética em período mais recente, ou seja, superior a 30 dias, período mínimo estabelecido

para avaliação microbiológica destes pacientes. O prazo adotado neste protocolo se deve ao período exigido para maturação do biofilme dental e o assentamento passivo da coroa protética nos implantes nos grupos com terapia periodontal. Vale ressaltar que o nosso estudo transversal não oferece aspectos comparativos entre os diferentes tempos de cargas protéticas nos implantes avaliados, mas oferece uma análise quanto aos níveis de detecção de patógenos periodontais suspeitos nos implantes e nos dentes. Neste contexto, o estudo de Quirynem et al. (2006) estabeleceu que a colonização de microrganismos periodontopatogênicos na região marginal do implante ocorre dentre de sete a 14 dias, ou ainda em um prazo de 30 dias, e com a maioria dos implantes colonizados com *P. intermedia*, *P. micra*, *F. nucleatum*, indicando assim, que estas bactérias orais comensais são colonizadores primários de bolsas peri-implantares em pacientes parcialmente edêntulos. Verifica-se, portanto, no nosso estudo (gráfico 1) que os níveis de detecção de colonização destes mesmos patógenos periodontais são relativamente diferentes e com tendência a maior concentração nos dentes proximal e distal. Muito embora o número (%) e limite de detecção de periodontopatógenos nos implantes e nos dentes não sejam critérios estabelecidos aqui para definir valor preditivo de futuras doenças periodontais ou peri-implantares, o número de potenciais patógenos periodontais pode ou não desempenhar um papel nos implantes e nos dentes aqui analisados. Isto é nitidamente observado no gráfico 3 onde os níveis destes periodontopatógenos, seja nos implantes seja nos dentes expressam consideráveis aspectos biológicos da microbiota que contribuem para uma maior severidade de infecção. No presente estudo, o nível de detecção (*cut-off point*) de colonização adotado destes supostos periodontopatógenos ao redor dos implantes e dos dentes compreendeu uma carga bacteriana (contagem bacteriana/percentagem do total de DNA bacteriano) nos níveis de  $10^5$ ,  $10^5$  a  $10^6$ , e  $>10^6$  (gráficos 1; 2 e 3). Assim, observou-se uma diferença significativa encontrada nos dentes para a prevalência de *P.gingivalis* e *A.actinomycetemcomitans* quando se adotou tal limite (gráfico 1). Isto confirma os resultados de Quirynen e Van Assche (2011), os quais demonstraram que os implantes mostraram uma redução na colonização das bactérias, especialmente àqueles dos complexos vermelho e laranja. Isto também pode ser observado por Raffaini et al. (2018) onde verificaram que as mais baixas contagens de microrganismos foram encontradas nos implantes em função, ou seja, já com carga protética, e que esta colonização aumentava com o passar do tempo. Afirmaram

também que os patógenos *P.gingivalis*, *T.forsythia*, *T.denticola*, *Aggregatibacter spp.* e *Prevotella spp.* foram encontradas ambos em zircônia e titânio após sete dias dos implantes em função. Contudo, a busca por marcadores bacterianos de infecção ao redor dos implantes tem sido enorme. Para corroborar com isto, Furst et al. (2007) relataram que a colonização bacteriana ao redor dos implantes ocorre bem cedo, ou seja, 30 minutos após a instalação do implante. Em nosso estudo transversal verificase que a prevalência dos patógenos periodontais potenciais ao redor de implantes, tais como *P.gingivalis* e *A.actinomycescomitans* é relativamente baixa (gráficos 1 e 2), e mesmo o sulco peri-implantar sadio pode ser colonizado ocasionalmente pelos periodontopatógenos *F.nucleatum*, *P. intermedia*, *P.gingivalis* e *A.actinomycescomitans*, conforme POKROWIECKI et al. (2017). No entanto, o nosso estudo destaca a colonização dos periodontopatógenos *P.gingivalis* e *A.actinomycescomitans* na composição da microbiota ao redor dos implantes com limite de detecção de carga bacteriana de nível  $10^5$ . O limite de detecção usado com adoção do escore 3 ( $10^5$ ) do Checkerboard demonstra uma alta carga bacteriana presente e não apenas meramente a presença da bactéria. De acordo com Charalampakis et al. (2013), isto nos leva a uma discussão quanto ao conceito de um complexo, pois espécies bacterianas que não estão em um determinado complexo, tais como, o vermelho podem ser responsáveis por danos em um determinado sítio específico. Além disso, afirmam que a escolha do limite de detecção da carga bacteriana efetivamente reflete o estado de doença e também reduz a influência de fracas correlações cruzadas e de resultados falso positivos (CHARALAMPAKIS et al., 2013), Contudo, outros estudos relatam que a microbiota da cavidade oral antes da instalação de implantes influencia a composição da microbiota ao redor dos implantes e identificam uma alta prevalência de patógenos periodontais supostos ao redor de implantes em pacientes com histórico de doença periodontal e edêntulos e que persistem por um longo período de tempo na cavidade oral (QUIRYNEN; VAN ASSCHE, 2011). Os microrganismos *F. nucleatum* ou *P. intermedia* são considerados patógenos periodontais oportunistas com uma larga distribuição mesmo em indivíduos periodontalmente sadios (SOCRANSKY et al.,1998). Acredita-se em geral que altas concentrações destes patógenos devem estar presentes por longos períodos para se ter um impacto patogênico significativo sobre os tecidos periodontais (SOCRANSKY et al.,1998).

O perfil microbiológico dos nossos resultados também se apresenta de especial interesse. Verifica-se no nosso estudo que as bolsas periodontais dos dentes proximais também abrigaram maior porcentagem significativa de *P.gingivalis*, *T. forsythia*, *S.oralis*, *Actinomyces odontolyticus*, *P.intermedia*, *A. actinomycetemcomitans sorotipo a*, *C.ochraceae*, *A. gerencseriae*, *A. israelii*, *A. oris*, *S.anginosus*, *P.melaninogenica* e *Gemella morbilorum* concordando com o estudo de QUIRYNEN et al. (2006). Já a prevalência nas bolsas periodontais dos dentes distais foi constituída pelos microrganismos *F.nucleatum*, *P.nigrescens*, *P.intermedia*, *C.ochraceae*, *S.noxia* e *Leptotrichia bucallis*. Isto difere dos resultados de Renvert et al. (2007) que encontraram para os dentes uma microbiota composta por mais de 50,0% por *N.mucosa* e *F.nucleatum ssp. polymorphum*, e por altas porcentagens de *F.nucleatum ssp. nucleatum*, *C.sputigena*, *E.saburreum*, *P.nigrescens*, e *M.micros*. Nos implantes do nosso estudo não houve nenhuma predominância significativa em sua composição, porém foram observadas altas porcentagens de *V.parvula* (70,0%) e *N.mucosa* (60,0%). *V.parvula* foi o mais predominante nos implantes (52,6%) e os periodontopatógenos *F.nucleatum ssp. polymorphum* e *F.nucleatum ssp. nucleatum* estavam em altas concentrações (44,7%), respectivamente, e com carga bacteriana no nível  $10^5$  (RENVERT et al., 2007). Outro aspecto de relevância no nosso estudo é que não houve na amostra indivíduos com peri-implantite, e isto, abre uma discussão quanto à via de translocação dos microrganismos *P.gingivalis* (20,0%) e *A. actinomycetemcomitans sorotipo a* (10,0%), presentes no sulco peri-implantar. Isto pode ou não promover chances de riscos futuros de perda de inserção peri-implantar ou em associação com outros fatores de risco, caso não se institua um programa de terapia de manutenção, uma vez que o periodontopatógeno *A.actinomycetemcomitans sorotipo a* alcançou 40,0% de colonização nos dentes ( $p < 0,017$ ), sugerindo que as bolsas periodontais destes dentes podem servir como fontes de infecção para os implantes, conforme esclarecem QUIRYNEN et al. (2006). Isto corrobora com os resultados de que patógenos periodontais encontrados em sítios com periodontite são frequentemente encontrados em implantes com peri-implantite (QUIRYNEM et al., 2006). Contudo, estudos transversais e caso-controle sugerem que a microbiota ao redor de implantes com peri-implantite é muito mais complexa e diversa do que aquela encontrada em dentes com periodontite (QUIRYNEN; VAN ASSCHE, 2011; RAKIC et al., 2018).

O nosso estudo mostra diferenças de porcentagens em relação ao total dos complexos microbianos destacando-se o complexo laranja (31,22%) nos implantes e menor porcentagem de bactérias nos implantes em relação aos dentes (Gráfico 3), enquanto o complexo vermelho variou apenas entre 10,0% a 25,0% e o grupo dos *Actinomyces* variou de 20,0% a 50,0% (Gráficos 1 e 2). Estes resultados são concordantes com o estudo de Narvaja et al. (2018) onde o complexo laranja e o grupo *Actinomyces* apresentaram altas proporções (28,7%; 24,8%) nos implantes, respectivamente, enquanto o grupo do complexo vermelho mostrou a mais baixa proporção (5,2%). Os dados microbiológicos do presente estudo sugerem uma composição bacteriana peri-implantar e subgingival bastante diferente (Gráficos 1, 2 e 3). Observa-se, de maneira geral, que a microbiota dos dentes comporta-se com mais consistência, uniforme, mais estável e mais predominante do que nos implantes (Gráficos 1 e 2). Por outro lado, evidencia-se também uma maior predominância do *S. gordonii* do grupo dos estreptococos nos implantes (Gráficos 1 e 2), conferindo a este um papel mais protetor na microbiota peri-implantar como colonizador primário. Verifica-se no nosso estudo, que existe uma diversidade microbiana com distintas diferenças qualitativas e quantitativas. Neste sentido, Quirynen et al. (2006) relatam a colonização inicial dos implantes em pacientes com histórico de periodontite com presença das bactérias do complexo vermelho associada à peri-implantite, isto é *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola*, detectados no sulco peri-implantar dentro de uma semana após a instalação do abutment. Outro aspecto de fundamental importância é a ausência de qualquer associação dos 40 patógenos avaliados com as variáveis clínicas profundidade de sondagem e nível de inserção clínico (Tabelas 7 e 8). Esta questão do número de espécies avaliadas pela técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* também mostra diferenças nas pesquisas aqui relatadas, a saber: para 4 periodontopatógenos chaves, Quirynen e Van Assche (2011); para 25 espécies bacterianas, Charalampakis et al. (2013); para 35 espécies, Martínez-Hernández; Olivares-Navarrete e Almaguer-Flores (2016); para 40 espécies, o trabalho clássico de Socransky et al. (1998), Quirynen et al. (2006), Furst et al. (2007), Renvert et al. (2007), Narvaja et al. (2018), e, finalmente para 42 espécies, o estudo de Raffaini et al. (2018). Quanto ao perfil da microbiota subgingival das bolsas periodontais (dente distal e proximal), evidencia-se significância para as bactérias, *F.nucleatum ssp. vincentii* (80,0%;  $p < 0,009$ ) e *A.naeslundii I* (cerca de com 78,0%;  $p < 0,042$ ), *P.nigrescens* (75,0%;  $p < 0,002$ ) enquanto *V.parvula* (90,0%) foi a bactéria mais

predominante mas sem significância. O fato da microbiota dos dentes ser mais intensa qualitativamente e quantitativamente pode ser devido à condição clínica da profundidade de sondagem e pelo ambiente mais anaeróbico destes sítios permitindo assim uma maior carga bacteriana. Assim, a importância de um programa de manutenção de terapia periodontal é mandatória no sentido de estabilizar a saúde periodontal ou peri-implantar e de reduzir as espécies bacterianas no sentido de evitar o aparecimento de sinais de inflamação que podem levar falhas nos implantes (ARMITAGE; XENOUDI, 2016). O intervalo apropriado de visita dos pacientes não é o mesmo para todos. Em alguns indivíduos com um alto risco de recorrência ou progressão da doença, intervalos curtos (2 a 3 meses) são necessários, enquanto, para outros, longos intervalos são suficientes para evitar a recorrência dos problemas. Deste modo, os intervalos de chamadas devem ser ajustados ao conjunto de necessidades do paciente, segundo ARMITAGE e XENOUDI (2016). Assim, sítios clinicamente saudáveis ou não afetados podem conter comunidades microbianas em um estado pré-disbiótico (HAJISHENGALLIS; LAMONT, 2016). Portanto, o que se vê no nosso estudo é uma predominância elevada e significativa das bactérias periodontopatogênicas do complexo vermelho, *P. gingivalis*, *T.forsythia*, *T.denticola* e de *A. actinomycetemcomitans* nas bolsas periodontais e de cinco periodontopatógenos do complexo laranja tentando romper a homeostasia normal (Gráfico 2). Quando interpretamos os resultados deste estudo, é importante, primeiramente considerar a extensão do estado inflamatório dos sítios peri-implantares (nem todos apresentaram inflamação e nenhum tinha peri-implantite); a limitação do tamanho da amostra; o método de coleta das amostras, bem como, a duração da terapia periodontal realizada. No presente estudo determinamos as principais diferenças microbianas entre os sítios peri-implantares e subgingivais. Além disto, os sítios subgingivais foram fortemente colonizados por patógenos tradicionais, tais como as espécies do complexo vermelho, concordando com Perez-Chaparro et al. (2014) e igualmente, *S.gordonii* e *V. parvula* foram altamente abundantes nos sítios peri-implantares e dentários (PEREZ-CHAPARRO et al., 2014).

Além disto, a dinâmica da colonização bacteriana na cavidade bucal depende inteiramente do ambiente supragengival quando se considera a instalação de implantes, assim também como o tratamento de periodontite. Portanto, um patógeno chave pode colonizar bolsas periodontais recentes dentro de pouco tempo e isto pode

agir como infecção cruzada, principalmente quando bolsas periodontais não tratadas permanecem após debridamento mecânico parcial (QUIRYNEN; VAN ASSCHE, 2011).

## 7 CONCLUSÃO

Considerando as condições específicas deste trabalho, com base nos resultados obtidos no estudo clínico em adultos e com o uso da técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*, é lícito afirmar que:

1. Os parâmetros clínicos Profundidade de Sondagem, Nível de Inserção Clínico e Sangramento à Sondagem não mostraram significância com a microbiota subgingival dos dentes proximais, dentes distais e dos implantes. Houve significância somente com o índice de placa visível relacionada à presença de 33 espécies bacterianas;
2. Das 40 espécies bactérias analisadas, 18 espécies apresentaram significância nos dentes comparada aos implantes. Nenhuma bactéria apresentou significância nos implantes isoladamente;
3. Nos dentes, as bactérias mais significantes foram *P.gingivalis*, *T.forsythia*, *E.nodatum*, *F.nucleatum ssp.vincentii*, *P.nigrescens*, *P.intermedia*, *S.oralis*, *A.odontolyticus*, *A.actinomycetemcomitans* sorotipo a, *C.ochraceae*, *A.gerencseriae*, *A.israelii*, *A.oris*, *S.anginosus*, *S.noxia*, *P.melaninogenica*, *G.morbillosum*, e *Leptotrichia buccalis*. Nos implantes, não houve significância com nenhuma espécie bacteriana. Quanto aos complexos microbianos, o complexo Laranja foi mais predominante nos implantes do que nos dentes.

## REFERÊNCIA

- ARMITAGE, Gary C.; XENOUDI, Pinelopi. Post-treatment supportive care for the natural dentition and dental implants. **Periodontology** 2000 v. 71, n. 1, p. 164–184 , 2016.
- ARMITAGE, Gary C. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. **Ann Periodontol** v. 4, n. 1, p. 1–6 , 1999.
- CATON, Jack G. *et al.* A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. **Journal of periodontology** v. 89, n. March, p. 1–8 , 2018.
- CEKICI, Ali *et al.* Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. **Periodontology** 2000 v. 64, n. 1, p. 57–80 , 2014.
- CHARALAMPAKIS, Georgios *et al.* Bacterial markers vs. clinical markers to predict progression of chronic periodontitis: A 2-yr prospective observational study. **European Journal of Oral Sciences** v. 121, n. 5, p. 394–402 , 2013.
- DALAGO, Haline Renata *et al.* Risk indicators for Peri-implantitis. A cross-sectional study with 916 implants. **Clinical Oral Implants Research** v. 28, n. 2, p. 144–150 , 2017.
- DE MORAES REGO, Mariana Ribeiro *et al.* Osseointegrated implants placed at supracrestal level may harbour higher counts of *A. gerencseriae* and *S. constellatus* - A randomized, controlled pilot study. **Journal of Oral Microbiology** v. 7, n. 1 , 2015.
- DIAZ, Patricia I. Microbial diversity and interactions in subgingival biofilm communities. **Periodontal Disease** v. 15, p. 17–40 , 2012.
- DZINK, J. L.; SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. **Journal of Clinical Periodontology** v. 15, n. 5, p. 316–323 , 1988.
- FÜRST, Mirjam M. *et al.* Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. **Clinical Oral Implants Research** v. 18, n. 4, p. 501–508 , 2007.
- HAJISHENGALLIS, G.; LAMONT, R. J. Beyond the red complex and into more complexity: The polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. **Molecular Oral Microbiology** v. 27, n. 6, p. 409–419 , 2012.
- HAJISHENGALLIS, George.; LAMONT, Richard J. Dancing with the Stars: How Choreographed Bacterial Interactions Dictate Nosymbiosis and Give Rise to Keystone Pathogens, Accessory Pathogens, and Pathobionts. **Trends in Microbiology** v. 24, n. 6, p. 477–489 , 2016.
- HEITZ-MAYFIELD, Lisa J.A.; SALVI, Giovanni E. Peri-implant mucositis. **Journal of Clinical Periodontology** v. 45, p. 237–245 , 2018.
- KUMAR, Purnima S. *et al.* Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. **Journal of Clinical Microbiology** v. 43, n. 8, p. 3944–3955 , 2005.

LASSERRE, Jérôme Frédéric; BRECX, Michel; TOMA, Selena. Oral microbes, biofilms and their role in periodontal and peri-implant diseases. **Materials** v. 11, n. 10, p. 1–17 , 2018.

LINDHE, Jan; MEYLE, Joerg. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. **Journal of Clinical Periodontology** v. 35, n. 8, p. 282–285 , 2008.

MARCENES, W. *et al.* Global burden of oral conditions in 1990-2010: A systematic analysis. **Journal of Dental Research** v. 92, n. 7, p. 592–597 , 2013.

MARSH, P. D. *et al.* Influence of saliva on the oral microbiota. **Periodontology 2000** v. 70, p. 80–92 , 2016.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, M; OLIVARES-NAVARRETE, R; ALMAGUER-FLORES, A. Influence of the Periodontal Status on the Initial-Biofilm Formation on Titanium Surfaces. **Clinical Implant Dentistry and Related Research** v. 18, n. 1, p. 174–181 , 2016.

MOMBELLI, Andrea; LANG, Niklaus Peter. Clinical parameters for the evaluation of dental implants. **Periodontology 2000** v. 4, n. 1, p. 81–86 , 1994.

MONJE, Alberto; INSUA, Angel; WANG, Hom-Lay. Understanding Peri-Implantitis as a Plaque-Associated and Site-Specific Entity: On the Local Predisposing Factors. **Journal of Clinical Medicine** v. 8, n. 2, p. 279 , 2019.

MOORE, WEC; MOORE, LH. The bacteria of periodontal diseases. **Periodontol 2000. Periodontology** v. 5, n. 1, p. 66–77 , 1994.

MORAES, Saulo Roni *et al.* Comparison of the Effectiveness of Bacterial Culture , 16S rDNA Directed Polymerase Chain Reaction , and Checkerboard DNA-DNA Hybridization for Detection of *Fusobacterium nucleatum* in Endodontic Infections. **Journal of Endodontics** n. 1, p. 86–89 , 2002.

NARVAJA, Anibal *et al.* Microbiologic Analysis of Immediately Loaded Full-Arch Implant-Retained Prosthesis Protocol After 2 Years of Loading: A Retrospective Study. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants** v. 33, n. 6, p. 1339–1344 , 2018.

PÉREZ-CHAPARRO, Paula Juliana *et al.* Newly identified pathogens associated with periodontitis: A systematic review. **Journal of Dental Research** v. 93, n. 9, p. 846–858 , 2014.

PERSSON, G. Rutger; RENVERT, Stefan. Cluster of bacteria associated with peri-implantitis. **Clinical Implant Dentistry and Related Research** p. 783–793 , 2014..

POKROWIECKI, Rafał *et al.* Oral microbiome and peri-implant diseases: Where are we now? **Therapeutics and Clinical Risk Management** v. 13, p. 1529–1542 , 2017.

QUIRYNEN, Marc *et al.* Dynamics of initial subgingival colonization of “pristine” peri-implant pockets. **Clinical Oral Implants Research** v. 17, n. 1, p. 25–37 , 2006.

QUIRYNEN, Marc; VAN ASSCHE, Nele. Microbial changes after full-mouth tooth extraction, followed by 2-stage implant placement. **Journal of Clinical**

**Periodontology** v. 38, n. 6, p. 581–589 , 2011.

RAFFAINI, Flávia Correa *et al.* Genome analysis and clinical implications of the bacterial communities in early biofilm formation on dental implants restored with titanium or zirconia abutments. **Biofouling** v. 34, n. 2, p. 173–182 , 2018.

RAKIC, Mia *et al.* How frequent does peri-implantitis occur? A systematic review and meta-analysis. **Clinical Oral Investigations** v. 22, n. 4, p. 1805–1816 , 2018.

RENVERT, Stefan *et al.* Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. **Clinical Oral Implants Research** v. 18, n. 4, p. 509–516 , 2007.

RENVERT, Stefan; POLYZOIS, Ioannis. Risk indicators for peri-implant mucositis: A systematic literature review. **Journal of Clinical Periodontology** v. 42, n. S16, p. S172–S186 , 2015.

RICKLIN, Daniel *et al.* Complement: A key system for immune surveillance and homeostasis. **Nature Immunology** v. 11, n. 9, p. 785–797 , 2010.

ROMANOS, Georgios E.; WEITZ, Daniel. Therapy of peri-implant diseases. Where is the evidence? **Journal of Evidence-Based Dental Practice** v. 12, n. 3 SUPPL., p. 204–208 , 2012.

SHIBLI, Jamil Awad *et al.* Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. **Clinical Oral Implants Research** v. 19, n. 10, p. 975–982 , 2008.

SIQUEIRA JR, J *et al.* Checkerboard DNA-DNA hybridization analysis of endodontic infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 89, p. 744-748, 2000.

SOCRANSKY, Sigmund S. *et al.* Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol** v. 25, p. 134–144 , 1998.

SOCRANSKY, Sigmund S. *et al.* Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. **Oral Microbiology and Immunology** v. 19, n. 6, p. 352–362 , 2004.

SOCRANSKY, Sigmund S.; HAFFAJEE, Anne. Periodontal microbial ecology. **Periodontology 2000** v. 38, p. 135–187 , 2005. SOCRANSKY, Sigmund S.; HAFFAJEE, Anne D. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. **Periodontology 2000** v. 5, n. 1, p. 7–25 , 1994.

TELES, Ricardo *et al.* Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. **Periodontology 2000** v. 62, n. 1, p. 95–162 , 2013.

TENENBAUM, Henri *et al.* Long-term prospective cohort study on dental implants: clinical and microbiological parameters. **Clinical Oral Implants Research** p. 1–9 , 2016.

TOMASI, Cristiano; DERKS, Jan. Clinical research of peri-implant diseases - Quality of reporting, case definitions and methods to study incidence, prevalence and risk factors of peri-implant diseases. **Journal of Clinical Periodontology** v. 39, n. 12, p.

207–223 , 2012.

VAN DYKE, T. E.; SERHAN, C. N. Resolution of inflammation: A new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. **Journal of Dental Research** v. 82, n. 2, p. 82–90 , 2003.

VAN WINKELHOFF, A J *et al.* Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. **Clinical Oral Implants Research** v. 11, n. 6, p. 511–520 , 2000.



20) Data da cirurgia para colocação do implante  __ _ _ / __ _ _ / __ _ _  <b>Região:</b> _____	
21) Razão da perda dentária  ____  1. Fratura c/ pino metálico    2. Fratura sem pino 3. Insucesso endodôntico    4. Reabsorção radicular 5. Traumatismo    6. Cárie secundária 7. Doença periodontal    8. Outros	22) Leito ósseo  ____  0. próprio 1. enxerto- área doadora intra bucal 2. enxerto-área doadora extra bucal 3. outro enxerto (alógeno)
23) Fabricante do implante _____	24) Comprimento do implante:  ____  25) Diâmetro do implante:  ____
26) 26) Quanto à aplicação da carga:  ____  0. Imediata 1. Após a osseointegração	27) Quanto à instalação do implante:  ____  0. Imediata 1. Após a cicatrização
28) Data da colocação do provisório  __ _ _ / __ _ _ / __ _ _	29) Data da cimentação da prótese  __ _ _ / __ _ _ / __ _ _
30) Dados do Implante - Face vestibular IPV  __  MV  __  CV  __  DV ISG  __  MV  __  CV  __  DV PS  __  MV  __  CV  __  DV NCI  __  MV  __  CV  __  DV SS  __  MV  __  CV  __  DV SUP  __  MV  __  CV  __  DV	Face lingual / palatina IPV  __  ML  __  CL  __  DL ISG  __  ML  __  CL  __  DL PS  __  ML  __  CL  __  DL NCI  __  ML  __  CL  __  DL SS  __  ML  __  CL  __  DL SUP  __  ML  __  CL  __  DL
36) Presença de gengiva ceratinizada:  ____  0. Ausente 1. Presente Largura: _____ Altura: _____	37) Necessidade de enxerto gengival:  ____  0. Ausente 1. Presente <b>Sítio selecionado para coleta:</b> _____
38) Dente Mesial _____ Face vestibular IPV  __  MV  __  CV  __  DV ISG  __  MV  __  CV  __  DV PS  __  MV  __  CV  __  DV NCI  __  MV  __  CV  __  DV SS  __  MV  __  CV  __  DV SUP  __  MV  __  CV  __  DV Face lingual / palatina IPV  __  ML  __  CL  __  DL ISG  __  ML  __  CL  __  DL PS  __  ML  __  CL  __  DL NCI  __  ML  __  CL  __  DL SS  __  ML  __  CL  __  DL SUP  __  ML  __  CL  __  DL <b>Sítio selecionado para coleta:</b> _____	39) Dente Contra-lateral _____ Face vestibular IPV  __  MV  __  CV  __  DV ISG  __  MV  __  CV  __  DV PS  __  MV  __  CV  __  DV NCI  __  MV  __  CV  __  DV SS  __  MV  __  CV  __  DV SUP  __  MV  __  CV  __  DV Face lingual / palatina IPV  __  ML  __  CL  __  DL ISG  __  ML  __  CL  __  DL PS  __  ML  __  CL  __  DL NCI  __  ML  __  CL  __  DL SS  __  ML  __  CL  __  DL SUP  __  ML  __  CL  __  DL <b>Sítio selecionado para coleta:</b> _____

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

O (A) Sr.(a) \_\_\_\_\_, fui convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “**Análise da microbiota peri-implantar em pacientes com e sem histórico de doença periodontal reabilitados no Curso de Odontologia da UFES**”, sob a responsabilidade dos professores: Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, Dr<sup>a</sup>. Selva Maria Gonçalves Guerra e Dr<sup>a</sup>. Stefânia Carvalho Kano e da mestrandia Lorrany de Barros Del Piero.

#### JUSTIFICATIVA

A realização desta pesquisa é de extrema relevância por se tratar de uma ausência de estudos que analisam a participação de bactérias potencialmente patogênicas da boca ao redor de implantes e de dentes vizinhos que receberam tratamento gengival.

#### OBJETIVO DA PESQUISA

Avaliar a quantidade e os tipos de bactérias potencialmente patogênicas encontradas ao redor dos dentes e dos implantes instalados nos pacientes sem histórico de doença periodontal e com histórico de doença periodontal tratada e finalizada que foram reabilitados no Curso de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo.

#### PROCEDIMENTOS

Caso decida aceitar o convite, o(a) senhor(a) será submetido(a) ao(s) seguinte(s) procedimentos: exame da boca através da sondagem da gengiva ao redor do dente e do implante, coleta da placa dental e exame das bactérias da placa dental.

#### DURAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa será desenvolvida nos Ambulatórios 2 e 5 do IOUFES do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo.

O (A) senhor (a) será avaliado (a) uma única vez e o exame clínico e coleta de placa dental terá duração média de 30 minutos.

Ressaltamos que as coletas de dados serão realizadas durante as consultas regulares de atendimento e acompanhamento, evitando o seu deslocamento desnecessário.

#### RISCOS E DESCONFORTOS

Sua participação envolve o risco de incômodos, como sensibilidade ou desconforto durante o exame de sondagem de gengiva. Entretanto, essa é a única forma de se realizar o exame. Os incômodos serão minimizados pela realização, de forma suave, do procedimento de sondagem, não gerando danos à sua gengiva.

A quebra de sigilo será minimizada pela garantia do termo assinado no TCLE.

## **BENEFÍCIOS**

Como benefício direto a todos os participantes do estudo será oferecido um programa de terapia periodontal de suporte (TPS) a cada semestre letivo gratuitamente pela equipe de Professores, alunos e/ou monitores de Periodontia, consistindo de: controle de placa, profilaxia, orientação de higiene oral, aplicação tópica de flúor, e controle radiográfico periapical anual na Clínica de Periodontia a ser realizado no Ambulatório 2 ou na Clínica Integrada do Ambulatório 5 do IOUFES/UFES durante 24 meses.

## **GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA E/OU RETIRADA DE CONSENTIMENTO**

Entendo que não sou obrigado (a) a participar desta pesquisa, podendo deixar de participar dela em qualquer momento de sua execução, sem que haja penalidades ou prejuízos decorrentes da minha recusa. Caso decida retirar seu consentimento, o(a) Sr.(a) não mais será contatado (a) pelos pesquisadores.

## **GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE**

Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários.

Os pesquisadores se comprometem a resguardar sua identidade durante todas as fases da pesquisa, inclusive após publicação.

## **GARANTIA DE RESSARCIMENTO FINANCEIRO**

Como os exames serão realizados no mesmo local para tratamento, não haverá nenhuma despesa adicional para participar da pesquisa. Portanto não haverá o ressarcimento.

## **GARANTIA DE INDENIZAÇÃO**

Em qualquer momento, se houver algum dano, comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito à indenização.

## **ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS**

Em caso de dúvidas sobre esta pesquisa ou para relatar algum problema, o (a) Sr.(a) pode contatar o pesquisador Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, ou a mestrande Lorrany de Barros Del Piero nos telefones (27)3335-7273/3335-7228/3335-7236 ou (27) 99734-6618 ou (27) 9 9999-4793. O(A) Sr.(a) também pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES) através do telefone (27) 3335-7211, e-mail cep.ufes@hotmail.com ou correio: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Prédio Administrativo do CCS, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29.040-090, Vitória - ES, Brasil. O CEP/CCS/UFES tem a função de analisar projetos de pesquisa visando à proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais. Seu horário de funcionamento é de segunda a sexta-feira, das 8h às 14h.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de igual teor, assinada pelo(a) pesquisador(a) principal ou seu representante, rubricada em todas as páginas.

---

LOCAL / DATA

---

Participante da pesquisa / Responsável legal

Na qualidade de pesquisador responsável pela pesquisa **“Análise da microbiota periimplantar em pacientes com e sem histórico de doença periodontal reabilitados no Curso de Odontologia da UFES”**, sob a responsabilidade dos professores: Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, eu, Lorrany de Barros Del Piero, declaro ter cumprido as exigências do(s) item(s) IV.3 e IV.4, da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

---

Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa

---

Lorrany de Barros Del Piero





## ANEXOS

### ANEXO A: PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Análise da microbiota perimplantar em pacientes com e sem histórico de doença periodontal reabilitados no curso de graduação de Odontologia da UFES

**Pesquisador:** LORRANY DE BARROS DEL PIERO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 66462717.3.0000.5060

**Instituição Proponente:** Centro de Ciências da Saúde

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.091.134

##### Apresentação do Projeto:

Na contemporaneidade os implantes dentários vêm se configurando como uma alternativa de excelência aos dispositivos e tratamentos do edentulismo parcial ou total. Entretanto, refere a autora deste projeto, complicações advindas das condições estruturais a este procedimento podem ser frequentes, uma vez que "A colonização bacteriana que ocorre nos implantes origina-se do biofilme que reside na mucosa oral no momento da conexão do pilar protético. De uma maneira semelhante aos tecidos periodontais, os tecidos perimplantares podem desenvolver uma reação inflamatória em resposta ao biofilme acumulado nas restaurações protéticas sobre implantes (LISTGARTEN; LAI, 1999)". A partir desta problematização a pesquisadora propõe um estudo analítico observacional e transversal com uma amostra de 20 a 30 sujeitos distribuídos em dois grupos: Grupo 1 - sujeitos que tiveram história de implantes osseointegrados, mas sem história de doença periodontal e Grupo 2 – sujeitos que foram tratados periodontalmente (terapêutica cirúrgica ou não). O estudo implica em consultas de avaliação clínica, mensuração dos parâmetros perimplantares e coleta do biofilme subgingival, a ser realizada por um único examinador calibrado e não envolvido na fase cirúrgica e/ou protética da reabilitação dos sujeitos investigados.

**Endereço:** Av. Marechal Campos 1468

**Bairro:** S/N

**CEP:** 29.040-091

**UF:** ES

**Município:** VITÓRIA

**Telefone:** (27)3836-7211

**E-mail:** cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 2.061.104

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário**

Avaliar a prevalência de bactérias periodontais ao redor de implantes sadios em pacientes com histórico de doença periodontal tratada;

**Objetivos Secundários**

Determinar a prevalência de bactérias periodontais ao redor dos implantes em pacientes sem histórico de doença periodontal;

Comparar os parâmetros clínicos periodontais e periimplantares com o perfil microbiológico do biofilme subgengival dos pacientes com e sem histórico de doença periodontal.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos**

A autora afirma que "os riscos envolvidos na participação poderão ser incômodos como sensibilidade ou desconforto durante a avaliação clínica e mensuração dos parâmetros paraimplantares e a quebra de sigilo. Quanto à avaliação clínica e mensuração dos parâmetros paraimplantares, estes procedimentos não geram danos ao periodonto ou ao implante e a sondagem será realizada suavemente, de forma a minimizar o desconforto, caso haja sangramento, o paciente será encaminhado para tratamento. O sigilo será garantido pela assinatura no TCLE.

**Benefícios**

A todos os sujeitos do estudo será oferecido a inclusão em um Programa Periodontal de Suporte a ser realizado na Clínica de Periodontia do IOUFES, consistindo no controle de placa, profilaxia, orientação de higiene oral, aplicação tópica de flúor e controle radiográfico periapical anual.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo relevante e que integra o ensino da Odontologia nos níveis da graduação e pós-graduação stricto sensu, uma vez que os participantes desta investigação a cada semestre terão terapia periodontal de suporte por parte de professores e estudantes da Clínica Periodontal do Instituto Odontológico da instituição de ensino superior.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES

Município: VITORIA

Telefone: (27)3336-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 2.081.104

O projeto apresenta os seguintes termos de Apresentação Obrigatória:

- Comprovante Recepção (Versão 2), postado em 10/05/2017.
- Folha de Rosto, em conformidade com a Res. CNS 466/12.
- Informações Básicas sobre o Projeto, em conformidade com a Res. CNS 466/12.
- Projeto Detalhado / Brochura Investigador (Versão 2), em conformidade com a Res. CNS 466/12.
- TCLE, em conformidade com a Res. CNS 466/12.
- Orçamento, em conformidade com a Res. CNS 466/12.

**Recomendações:**

Trata-se de um projeto relevante.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem Pendências

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_888620.pdf	18/05/2017 22:20:18		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.doc	18/05/2017 22:19:44	LORRANY DE BARROS DEL PIERO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	18/05/2017 22:16:25	LORRANY DE BARROS DEL PIERO	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.docx	30/03/2017 00:08:39	LORRANY DE BARROS DEL	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES

Município: VITORIA

Telefone: (27)3336-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer 2.081.104

VITÓRIA, 30 de Maio de 2017

---

Assinado por:

**Maria Helena Monteiro de Barros Miotto**  
(Coordenador)

**Endereço:** Av. Marechal Campos 1468

**Bairro:** SN

**UF:** ES

**Telefone:** (27)3336-7211

**Município:** VITÓRIA

**CEP:** 39.040-091

**E-mail:** cep.ufes@hotmail.com

## ANEXO B: CERTIFICADO DE CALIBRAÇÃO DA PIPETA



### Certificado de Calibração Laboratório Medição Vitória

Certificado: 209329/18

Data Calibração: 26/11/2018

Validade: 26/11/2019

OS: 505488-A/2018

1 / 2

Solicitante: W O PIERO W ELÉTRICA SOLUÇÕES  
AVENIDA CENTRAL, 1439, SERRA, ES

Contratante: O MESMO

## Características do Instrumento

Descrição: PIPETA AUTOMÁTICA VOLUME VARIÁVEL

Identificação: 135330

Marca: BIOPET

Nº. Sere: 135330

## Condições Ambientais:

Serviço executado nas instalações permanentes do Laboratório.

Temperatura: 20,2 °C ± 1 °C

Umidade:

62 %ur ± 5%ur

## Procedimentos

Calibração Executada conforme: ITTEC038

Revisão: 3

## Padrões

Identificação		Marca	Certificado	Calibrado por	Validade
PTG-0671	BALANÇA ELETRÔNICA PADRÃO	SHIMADZU	PTG06712606/18	MEDIÇÃO-CAL0183	06/2019
PTG-0851	PICNÔMETRO PADRÃO	JS	PTG08511605/17	MEDIÇÃO-CAL0183	05/2020
PTG-0885	SARÔMETRO DIGITAL PADRÃO	TESTO	P-454776	CTJ-CAL0477	12/2019
PTT-0635	TERMORESISTÊNCIA PADRÃO	ECL	415118	ECL-CAL0026	05/2021
PTT-0663	CALIBRADOR PORTÁTIL	ECL	363217	ECL-CAL0026	05/2020

## Resultados Obtidos

## VOLUME

Faixa de Uso: 100 a 1000 µl

Faixa de Indicação: 100 a 1000 µl

Resolução: 10 µl

V.I	V.R	Erro de Medição	Incerteza Expandida	Incerteza Expandida + Erro	(k)	Veff
µl	µl	µl	µl	µl		
100	100,85	-0,85	5,77	6,62	2,00	Infinito
500	500,15	-0,15	5,77	5,92	2,00	Infinito
1000	1000,95	-0,95	5,77	6,72	2,00	Infinito

O CONTEÚDO APRESENTADO NESTE DOCUMENTO/REGISTRO TEM SIGNIFICADO RESTRITO E SE APLICA SOMENTE A ESTA SITUAÇÃO. É PROIBIDA A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DO MESMO SEM A AUTORIZAÇÃO DO EMITENTE.

ESTE DOCUMENTO/REGISTRO É UMA CÓPIA DA VERSÃO ORIGINAL EM FORMATO DIGITAL DISPONÍVEL EM: [WWW.MILORD.COM.BR](http://WWW.MILORD.COM.BR)



## Certificado de Calibração Laboratório Medição Vitória

Certificado: 20932918

Data Calibração: 26/11/2018

Validade: 26/11/2019

OS: 505486-A/2018

2 / 2

### Observações Gerais

#### NÃO HOUVE AJUSTE

- V: Valor indicado no instrumento na unidade de medida.
- V.R: Valor de Referência na unidade de medição do padrão.
- A incerteza expandida de medição relatada é declarado como a incerteza padrão de medição multiplicada pelo fator de abrangência k, o qual para uma distribuição t com 95% graus de liberdade estatística corresponde a uma probabilidade de abrangência de aproximadamente 95%. A incerteza padrão de medição foi determinada de acordo com a publicação EA-402.
- A condição de Aprovado/Reprovado se restringe apenas as grandezas metrológicas do instrumento, sendo que o limite de erro especificado para esta condição é de responsabilidade do Cliente.
- A operação de ajuste / regulagem não faz parte do escopo dos serviços.
- A validade de calibração do instrumento, quando apresentada neste certificado, é de responsabilidade do cliente.

Endereço de Emissão: RUA K, 9 - MAROEL PLAZA - SERRA - ES  
Data de emissão: 26 de novembro de 2018

Assinado Eletronicamente  
MARCO FARIAS SILVEIRA  
Gerente Técnico



Digitally signed by MARCO  
FARIAS SILVEIRA, DN: cn=1725629  
Date: 2018.11.26 17:23:14 -02:00  
Reason: Certificado de Calibração  
Local: Laboratório Medição  
Vitória

O CONTEÚDO APRESENTADO NESTE DOCUMENTO/REGISTRO TEM SIGNIFICADO RESTRITO E SE APLICA SOMENTE A ESTA SITUAÇÃO. É PROIBIDA A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DO MESMO SEM A AUTORIZAÇÃO DO EMITENTE.

**ANEXO C: COMPARAÇÃO DAS PORCENTAGENS DE BACTÉRIAS COM CATEGORIA IGUAL OU ACIMA DE 3 ENTRE AS REGIÕES DE IMPLANTE, DENTE PROXIMAL E DENTE DISTAL**

	Implante		Dente proximal		Dente distal		Valor p*	Complexo
	n	%	n	%	n	%		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5	25,0	13	65,0	12	60,0	<b>0,022</b>	Vermelho
<i>Treponema denticola</i>	5	25,0	12	60,0	9	45,0	0,081	
<i>Tannerella forsythia</i>	2	10,0	9	45,0	7	35,0	<b>0,045</b>	
<i>Streptococcus constellatus</i>	8	40,0	13	65,0	8	40,0	0,189	Laranja
<i>Eubacterium nodatum</i>	3	15,0	12	60,0	9	45,0	<b>0,013</b>	
<i>F. n. (sp.vincentii)</i>	9	45,0	15	75,0	17	85,0	<b>0,018</b>	
<i>Campylobacter rectus</i>	5	25,0	12	60,0	8	40,0	0,079	
<i>Parvimonas micra</i>	8	40,0	14	70,0	13	65,0	0,119	
<i>Prevotella nigrescens</i>	6	30,0	14	70,0	16	80,0	<b>0,003</b>	
<i>F.n. (sp. polymorphum)</i>	7	35,0	12	60,0	10	50,0	0,281	
<i>Campylobacter showae</i>	8	40,0	14	70,0	10	50,0	0,153	
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	7	35,0	13	65,0	13	65,0	0,089	
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	3	15,0	10	50,0	7	35,0	0,062	
<i>Campylobacter gracilis</i>	0	0,0	1	5,0	1	5,0	0,437	
<i>Prevotella intermedia</i>	5	25,0	14	70,0	14	70,0	<b>0,004</b>	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	4	20,0	11	55,0	8	40,0	0,074	Amarelo
<i>Streptococcus oralis</i>	0	0,0	7	35,0	4	20,0	<b>0,016</b>	
<i>Streptococcus intermedius</i>	5	25,0	12	60,0	10	50,0	0,072	
<i>Streptococcus gordonii</i>	8	40,0	13	65,0	9	45,0	0,247	
<i>Streptococcus mitis</i>	3	15,0	7	35,0	5	25,0	0,344	
<i>Veillonella parvula</i>	14	6,3	18	90,0	18	4,5	0,163	Roxo
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	6	30,0	16	80,0	10	50,0	<b>0,006</b>	
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans sorotipo a.</i>	2	10,0	11	55,0	6	30,0	<b>0,009</b>	Verde
<i>Capnocytophaga ochraceae</i>	6	30,0	14	70,0	14	70,0	<b>0,013</b>	
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	9	45,0	12	60,0	8	40,0	0,420	
<i>Eikenella corrodens</i>	6	30,0	10	50,0	6	30,0	0,317	
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	8	40,0	13	65,0	14	70,0	0,119	
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	10	50,0	16	80,0	15	75,0	0,092	Azul
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	4	20,0	13	65,0	13	65,0	<b>0,005</b>	
<i>Actinomyces israelii</i>	4	20,0	13	65,0	11	55,0	<b>0,011</b>	
<i>Actinomyces oris</i>	6	30,0	14	70,0	13	65,0	<b>0,022</b>	
<i>Treponema socranskii</i>	8	40,0	15	75,0	9	45,0	0,056	Outras espécies
<i>Eubacterium saburreum</i>	1	5,0	2	10,0	3	15,0	0,574	
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	10,0	11	55,0	8	40,0	<b>0,010</b>	
<i>Neisseria mucosa</i>	12	60,0	15	75,0	11	55,0	0,393	
<i>Selenomonas noxia</i>	6	30,0	12	60,0	14	70,0	<b>0,031</b>	
<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	5	25,0	8	40,0	8	40,0	0,517	
<i>Prevotella melaninogenica</i>	4	20,0	13	65,0	12	60,0	<b>0,008</b>	
<i>Gemella morbillorum</i>	3	15,0	12	60,0	8	40,0	<b>0,014</b>	
<i>Leptotrichia buccalis</i>	4	20,0	11	55,0	13	65,0	<b>0,011</b>	

(\*) Teste do qui-quadrado para uma amostra; (-) Estatística não computada porque só a casos em um grupo; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**ANEXO D: COMPARAÇÃO DAS PORCENTAGENS DE BACTÉRIAS COM CATEGORIA IGUAL OU ACIMA DE 3 ENTRE AS REGIÕES DE IMPLANTE E DENTES (PROXIMAL E DISTAL)**

	Implante		Dente (proximal e distal)		Valor p*	Complexo
	n	%	n	%		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5	25,0	25	62,5	<b>0,006</b>	Vermelho
<i>Treponema denticola</i>	5	25,0	21	52,5	<b>0,043</b>	
<i>Tannerella forsythia</i>	2	10,0	16	40,0	<b>0,034</b>	
<i>Streptococcus constellatus</i>	8	40,0	21	52,5	0,419	Laranja
<i>Eubacterium nodatum</i>	3	15,0	21	52,5	<b>0,011</b>	
<i>F. n. (sp. vincentii)</i>	9	45,0	32	80,0	<b>0,009</b>	
<i>Campylobacter rectus</i>	5	25,0	20	50,0	0,096	
<i>Parvimonas micra</i>	8	40,0	27	67,5	0,055	
<i>Prevotella nigrescens</i>	6	30,0	30	75,0	<b>0,002</b>	
<i>F.n. (sp. polymorphum)</i>	7	35,0	22	55,0	0,177	
<i>Campylobacter showae</i>	8	40,0	24	60,0	0,176	
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	7	35,0	26	65,0	0,053	
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	3	15,0	17	42,5	<b>0,044</b>	
<i>Campylobacter gracilis</i>	0	0,0	2	5,0	0,548	
<i>Prevotella intermedia</i>	5	25,0	28	70,0	<b>0,002</b>	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	4	20,0	19	47,5	0,051	Amarelo
<i>Streptococcus oralis</i>	0	0,0	11	27,5	<b>0,011</b>	
<i>Streptococcus intermedius</i>	5	25,0	22	55,0	0,053	
<i>Streptococcus gordonii</i>	8	40,0	22	55,0	0,412	
<i>Streptococcus mitis</i>	3	15,0	12	30,0	0,343	
<i>Veillonella parvula</i>	14	70,0	36	90,0	0,070	Roxo
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	6	30,0	26	65,0	<b>0,014</b>	
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> sorotipo a.	2	10,0	17	42,5	<b>0,017</b>	Verde
<i>Capnocytophaga ochraceae</i>	6	30,0	28	70,0	<b>0,005</b>	
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	9	45,0	20	50,0	0,788	
<i>Eikenella corrodens</i>	6	30,0	16	40,0	0,573	
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	8	40,0	27	67,5	0,055	Azul
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	10	50,0	31	77,5	<b>0,042</b>	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	4	20,0	26	65,0	<b>0,002</b>	
<i>Actinomyces israelii</i>	4	20,0	24	60,0	<b>0,006</b>	
<i>Actinomyces oris</i>	6	30,0	27	67,5	<b>0,012</b>	Outras espécies
<i>Treponema socranskii</i>	8	40,0	24	60,0	0,176	
<i>Eubacterium saburreum</i>	1	5,0	5	12,5	0,653	
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	10,0	19	47,5	<b>0,009</b>	
<i>Neisseria mucosa</i>	12	60,0	26	65,0	0,780	
<i>Selenomonas noxia</i>	6	30,0	26	65,0	<b>0,014</b>	
<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	5	25,0	16	40,0	0,390	
<i>Prevotella melaninogenica</i>	4	20,0	25	62,5	<b>0,003</b>	
<i>Gemella morbillorum</i>	3	15,0	20	50,0	<b>0,011</b>	
<i>Leptotrichia buccalis</i>	4	20,0	24	60,0	<b>0,006</b>	

(\*) Teste do qui-quadrado para uma amostra; (-) Estatística não computada porque só a casos em um grupo; Estatisticamente significativo se  $p < 0,050$

Nota: Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3

**ANEXO E: PORCENTAGENS DE BACTÉRIAS POR COMPLEXO E REGIÃO**

	Implante	Dente proximal	Dente distal	Valor p*		
	%	%	%	Implante x Dente proximal	Implante x Dente distal	Dente proximal x Dente distal
Complexo vermelho	16,22	45,95	37,84	< 0,001	<b>0,003</b>	0,318
Complexo laranja	20,35	42,48	37,17	< 0,001	< 0,001	0,158
Complexo amarelo	18,87	47,17	33,96	< 0,001	<b>0,013</b>	0,051
Complexo verde	24,39	41,46	34,15	<b>0,028</b>	0,170	0,334
Complexo roxo	22,30	43,17	34,53	< 0,001	<b>0,024</b>	0,140
Complexo azul	18,18	42,42	39,39	< 0,001	< 0,001	0,617
Outras espécies	19,57	43,04	37,39	< 0,001	< 0,001	0,216

(\*) Teste Binomial para duas proporções.

Nota: O total das porcentagens é em relação ao total de cada complexo. Foram consideradas apenas as bactérias com código igual ou acima de 3