

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

BIANCA SCOPEL COSTA

**ANÁLISE DA CONDIÇÃO PERI-IMPLANTAR E DA MICROBIOTA
SUBGENGIVAL DE IMPLANTES COM DIFERENTES CONEXÕES:
ESTUDO TRANSVERSAL APÓS 5 ANOS DE CARGA FUNCIONAL**

VITÓRIA

2017

BIANCA SCOPEL COSTA

**ANÁLISE DA CONDIÇÃO PERI-IMPLANTAR E DA MICROBIOTA
SUBGENGIVAL DE IMPLANTES COM DIFERENTES CONEXÕES:
ESTUDO TRANSVERSAL APÓS 5 ANOS DE CARGA FUNCIONAL**

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 à obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Selva Maria G. Guerra

Co-orientador: Prof. Dr. Alfredo Carlos R. Feitosa

VITÓRIA

2017

BIANCA SCOPEL COSTA

**ANÁLISE DA CONDIÇÃO PERI-IMPLANTAR E DA MICROBIOTA
SUBGENGIVAL DE IMPLANTES COM DIFERENTES CONEXÕES:
ESTUDO TRANSVERSAL APÓS 5 ANOS DE CARGA FUNCIONAL**

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 à obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Selva Maria G. Guerra
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Prof.^a Dr.^a. Rossiene Motta Bertollo
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Vinicius Pavesi Fardin
Universidade de Vila Velha

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre me acompanhar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos.

Aos meus pais, Estela e Lucélio, por toda a dedicação, amor e carinho. Vocês são tudo para mim.

Ao meu namorado, Naeme, pelo amor, companheirismo e por tornar os dias mais leves.

Ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo, meu agradecimento pela oportunidade de estudar nesta instituição.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Selva Maria Gonçalves Guerra, pela orientação no desenvolvimento desta dissertação e por todos os conhecimentos transmitidos.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, pela dedicação no desenvolvimento dessa dissertação, pela tranquilidade transmitida e pelo incentivo durante essa trajetória.

À equipe do Laboratório de Pesquisa em Odontologia, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade de Guarulhos, São Paulo, em especial à técnica Izilvânia Barreto, pela gentileza de ter me recebido no laboratório e me auxiliado na execução de parte desta pesquisa.

Aos funcionários da Universidade Federal do Espírito Santo, em especial do Mestrado em Clínica Odontológica, Regina (secretária do Programa), pela atenção e alegria.

Aos colegas de turma, que tornaram essa trajetória mais leve.

Aos pacientes que participaram da pesquisa clínica e, indiretamente estão envolvidos nos resultados deste estudo.

“Cada sonho que você deixa para trás é um pedaço do seu futuro que deixa de existir”

(Steve Jobs)

RESUMO

A união entre o implante e o intermediário protético ocorre por meio de diferentes conexões, que apresentam características distintas, destacando a largura do microgap e a estabilidade mecânica. O objetivo desse estudo foi analisar a condição peri-implantar e comparar a microbiota subgengival de implantes com diferentes conexões, a partir de 5 anos de carga funcional. Um estudo transversal foi realizado envolvendo 30 implantes presentes em 16 indivíduos, periodontalmente saudáveis, divididos em três grupos de acordo com a conexão: Grupo A - Hexágono Externo (n=14), Grupo B - Canal Triplo (n=9) e Grupo C - Cone Morse (n=7). Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e a composição da microbiota subgengival foi analisada através da técnica Checkerboard DNA-DNA Hybridization, a partir de amostras do biofilme subgengival. As variáveis clínicas foram analisadas pelo teste Exato de Fisher, exceto a variável profundidade de sondagem que utilizou o teste de Kruskal-Wallis, mesmo teste utilizado para análise da contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme. Os parâmetros clínicos índice de placa e sangramento à sondagem peri-implantar apresentaram elevado percentual em todos os tipos de conexões ($p > 0,05$). As bactérias *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* (*sp. vincentii*), *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia* estão presentes em níveis elevados no grupo A, enquanto o Grupo B apresenta altos níveis de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Fusobacterium periodonticum* ($p < 0,05$). O grupo C apresentou baixa contagem de bactérias patogênicas. O estudo concluiu que o tipo de conexão protética não influenciou os parâmetros clínicos peri-implantares, porém influenciou a colonização bacteriana do biofilme subgengival.

Palavras-chave: Implantes Dentários. Análise Microbiológica. Peri-implantite.

ABSTRACT

The union between the implant and the prosthetic intermediate occurs through different connections, which present distinct characteristics, highlighting microgap width and mechanical stability. The aim of this study was to analyze the peri-implant condition and to compare the subgingival microbiota of implants with different connections, after at least 5 years of functional load. A cross-sectional study was carried out involving 30 implants installed in 16 healthy periodontal individuals, divided into three groups according to the type of connection: Group A - External Hexagon (n=14), Group B - Tri-Channel (n=9) and Group C - Morse Cone (n=7). All patients underwent clinical evaluation and the composition of the subgingival microbiota was analyzed using the Checkerboard DNA-DNA Hybridization technique, from samples of the subgingival biofilm. The clinical variables were analyzed by the Fisher Exact test, except for the probing depth variable that used the Kruskal-Wallis test, the same test was used to analyze the count ($\times 10^6$) of the DNA probes of the 40 bacterial species present in the biofilm samples. The clinical parameters index of visible plaque and bleeding on probing presented a high percentage in all types of connections ($p > 0,05$). The bacteria *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum (sp. vincentii)*, *Prevotella nigrescens* and *Prevotella intermedia* are present at high levels in group A, while Group B presents high levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* and *Fusobacterium periodonticum* ($p < 0,05$). Group C had a low count of pathogenic bacteria. The study concluded that the type of prosthetic connection did not influence the peri-implant clinical parameters, but it influenced the bacterial colonization of the subgingival biofilm.

Keyword: Dental Implants. Microbiological Analysis. Periimplantitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival periimplantar dos implantes 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação das cepas empregadas para a confecção das sondas de DNA	38
Tabela 2 - Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgingival	42
Tabela 3 - Relação entre o tipo de conexão protética, o gênero e a localização do implante.....	44
Tabela 4 - Dados Clínicos da Amostra	45
Tabela 5 - Contagem ($\times 10^6$) de bactérias referente a cada grupo	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>C. rectus</i>	<i>Campylobacter rectus</i>
Cm	Centímetro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
<i>E. corrodens</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
EUA	Estados Unidos da América
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
F.n. (sp. vincentii)	<i>Fusobacterium nucleatum sp. vincentii</i>
F. periodonticum	<i>Fusobacterium periodonticum</i>
HCL	Ácido Clorídrico
IL-1 β	Interleucina 1 Beta
IPV	Índice de Placa Visível
ISGM	Índice de Sangramento Gengival Marginal
LUCCAR	Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Reddins
Mm	Micrômetro
MI	Mililitro
Mm	Milímetro
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
N	Newton
Ncm	Newton/centímetro
NaCl	Cloreto de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio

PCR	Reação em Cadeira da Polimerase
<i>P. intermédia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. nigrescens</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
PSP	Profundidade de Sondagem Peri-implantar
SSP	Sangramento a Sondagem Peri-implantar
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
<i>T. forsythia</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
3	OBJETIVOS	31
3.1	OBJETIVOS GERAIS	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
4	METODOLOGIA.....	32
4.1	AMOSTRA.....	33
4.1.1	Critérios de Inclusão	33
4.1.2	Critérios de Exclusão	33
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	34
4.3	AVALIAÇÃO CLÍNICA	35
4.3.1	Índice de Placa Bacteriana Visível (IPV)	35
4.3.2	Índice de Sangramento Gengival Marginal (ISG)	36
4.3.3	Profundidade de Sondagem (PS)	36
4.3.5	Sangramento à Sondagem.....	36
4.3.6	Exsudato e Supuração	36
4.4	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	37
4.4.1	Seleção dos sítios de coleta	37
4.4.2	Coleta das Amostras de Biofilme Subgengival.....	37
4.4.3	Processamento e Análise das Amostras: Hibridização Checkerboard DNA-DNA.....	39
4.4.4	Pré Hibridização e Hibridização DNA-DNA	39
4.4.5	Detecção das Espécies	40

4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
4.5.1	Dados Clínicos	42
4.5.2	Dados Microbiológicos	43
5	RESULTADOS	44
6	DISCUSSÃO	49
7	CONCLUSÃO.....	54
	REFERÊNCIAS	55
	APÊNDICES	61
	ANEXOS	93

1 INTRODUÇÃO

O advento da osseointegração e a sua aplicação clínica na odontologia consistem em uns dos mais significativos avanços no tratamento da perda de dentes, apresentando os implantes osseointegrados resultados previsíveis, reproduzíveis e estáveis ao longo do tempo, com índices de sucesso elevados (BERGLUNDH; PERSSON; KLINGE, 2002), podendo a taxa de sobrevivência após 10 anos variar de 82% a 94% (HOLM-PEDERSEN; LANG; MULLER, 2007).

A osseointegração consiste em uma conexão estrutural direta e funcional entre o osso e a superfície de um implante, sendo o maior desafio da implantodontia na atualidade a manutenção em longo prazo. A presença de condições biológicas que permitam a ausência de respostas inflamatórias dos tecidos moles e duros é condição essencial à manutenção do implante. Apesar das taxas de sucesso da osseointegração serem excelentes, muitas falhas em longo prazo foram descritas e relacionadas ao desenho dos implantes e fatores microbiológicos (KOUTOUZIS et al., 2014).

A maioria dos sistemas de implantes é composta por duas partes principais, uma intra-óssea e outra uma conexão transmucosa, o intermediário protético, sendo o implante e o intermediário unidos de forma mecânica (BROGGINI et al., 2003). A união entre o implante e o intermediário protético pode ocorrer através de diferentes tipos de conexões, envolvendo conexões cônicas e não cônicas, sendo em ambos os casos observado a formação de um espaço entre as duas peças, denominado microgap, o qual está sujeito à infiltração bacteriana (DO NASCIMENTO et al., 2012; CANULLO et al., 2015).

A presença de um microgap na interface entre o implante e o intermediário protético atua como um reservatório de microrganismos e proporciona um ambiente ideal para a proliferação de bactérias anaeróbias, em virtude da baixa concentração de oxigênio (HERMANN et al., 2000). Essas bactérias estão associadas à patologia da doença peri-implantar, podendo levar a alterações nos parâmetros de normalidade clínica e microbiológica dos tecidos peri-implantares e atuar de forma negativa na

manutenção e sucesso dos implantes em longo prazo (BRÄGGER et al., 2001; JENSEN et al., 1997).

O objetivo do presente estudo foi analisar, através de parâmetros clínicos, a condição peri-implantar e comparar a microbiota subgengival ao redor de implantes com diferentes conexões, a partir de 5 anos de carga funcional.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A reabilitação de pacientes com implantes osseointegrados era limitada, no passado, ao tratamento da perda total de elementos dentários, consequência da pequena variedade e disponibilidade de implantes, intermediários protéticos e protocolos clínicos. A comprovação da eficiência dos implantes osseointegrados, nessa condição específica, levou sua utilização para o desdentado parcial, aumentando suas indicações e gerando a necessidade de novos protocolos clínicos e materiais (GARCÍA-BELLOSTA et al., 2010).

As conexões entre implante e o intermediário protético podem ser classificadas ainda em externas ou internas. O principal exemplo de conexão externa é o implante de hexágono externo, já entre as conexões internas mais conhecidas estão os implantes de hexágono interno e os de cone morse (BINON, 2000).

O sistema de conexão hexagonal inicialmente proposto por Branemark, para prótese tipo protocolo, constitui o sistema de implante mais conhecido e documentado. Esse tipo de conexão apresenta uma forma hexagonal que age como mecanismo anti-rotacional, sendo, juntamente com o parafuso protético, o responsável pela estabilidade mecânica do conjunto implante/intermediário protético (PIMENTEL et al., 2010). No entanto, em virtude da pequena altura do hexágono, as conexões externas podem permitir a ocorrência de um micro-movimento, o qual pode ocasionar afrouxamento do parafuso e/ou do intermediário, fratura do parafuso e a inflamação dos tecidos peri-implantares (MAEDA; SATOH; SOGO, 2006; MICHALAKIS et al., 2014).

Os implantes de hexágono externo, desenvolvidos por Brånemark foram e ainda são utilizados no tratamento de pacientes desdentados totais e parciais, sendo esplintados por uma estrutura que suporta a prótese, não havendo assim a necessidade de um dispositivo anti-rotacional, tendo apenas a função de estabilizar o montador no momento da instalação do implante (BINON, 2000).

Com a difusão do uso dos implantes, em casos unitários, diversas conexões protéticas, bem como materiais e técnicas aplicados às próteses sobre implantes foram desenvolvidos, ao longo do tempo, no intuito de reduzir as limitações associadas as conexões tipo hexágono externo, considerando principalmente o desempenho mecânico e os aspectos biológicos e estéticos que envolvem a reabilitação com implantes (MAEDA; SATOH; SOGO, 2006; BINON, 2000). Dentre esses, têm-se os sistemas de conexão interna, com diferentes tamanhos e conformações das plataformas, bem como o conceito de plataforma switch (MICHALAKIS et al., 2014).

O sistema de hexágono interno, o qual constitui um tipo de conexão interna, possibilitou uma melhor estabilidade mecânica e efeito anti-rotacional, devido à maior área de conexão entre o implante e o pilar, tornando-o mais adequado para restaurações unitárias, promovendo ainda melhor distribuição das forças oclusais no osso adjacente. No entanto, embora tenha se apresentado como uma inovação, manteve o design básico anterior que era de uma prótese retida por uma conexão de formato hexagonal (MAEDA; SATOH; SOGO, 2006).

A conexão em canal triplo, ou tri-channel, constitui uma conexão interna com três lobos radiais que em conjunto a longa extensão do encaixe propicia uma conexão segura e estável, distribuindo uniformemente a força antirrotacional, e consequentemente, reduzindo os micromovimentos e as forças de flexão. Steinebrunner et al. (2008) avaliaram a influência do carregamento cíclico de longo prazo na resistência à fratura de diferentes conexões e concluíram que as conexões internas de encaixe tubo-em-tubo, apresentaram vantagens em relação à longevidade e à resistência a fratura quando comparada as demais conexões internas e as conexões externas.

A conexão protética do tipo cone morse surgiu como uma evolução na implantodontia e apresenta-se com uma conexão cônica entre o implante e o intermediário protético, sendo a força de união entre os componentes proporcional à força de inserção, evitando assim que o cone macho seja facilmente removido do cone fêmea, mesmo ao tentar girá-lo ou aplicar uma força axial de intensidade razoável (BAUMGARTEM et al., 2005).

O implante tipo cone morse utiliza ainda o conceito plataforma switching, posicionando a interface implante/intermediário protético mais centralmente ao eixo do implante, afastando-a da crista óssea (BAUMGARTEM et al., 2005). Assim, esse sistema conseguiu trazer melhorias significantes não apenas na estabilidade das próteses e na manutenção da estética como também na saúde dos tecidos peri-implantares (PIMENTEL et al., 2010).

Um fator importante relacionado aos tecidos peri-implantares e à resposta óssea é a existência de um microgap entre o implante e o intermediário, cuja largura pode variar entre 40 e 60 micrômetros (μm) (SCARANO et al., 2005). Quanto maior o grau de desajuste na interface implante/intermediário, maior esse microgap e conseqüentemente maior a quantidade de microrganismos que poderão se alojar ao mesmo, aumentando a chance de ocorrer uma inflamação peri-implantar (TEIXEIRA, 2009).

O perfil microbiano associado à peri-implantite é similar àquele associado à doença periodontal. Socransky et al. (1998) estabeleceram a existência de seis complexos microbianos com características distintas que atuam nas diferentes etapas da formação do biofilme bacteriano. As espécies bacterianas que constituem os complexos Amarelo, Verde, Violeta e Azul têm a capacidade de se aderirem à superfície dental, atuando como colonizadores iniciais. Esses complexos fornecem receptores e criam condições ecológicas que permitem a adesão e proliferação de bactérias do complexo Laranja, o qual promove condições para a adesão e proliferação do complexo Vermelho (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*). Os microrganismos dos complexos laranja e vermelho estão envolvidos no desenvolvimento da doença periodontal e peri-implantar (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY et al., 2005).

Baumann et al. (1992) realizaram um estudo no qual se observou que a microbiota em torno de implantes sem alterações peri-implantares é similar à encontrada no sulco gengival saudável, com predominância de bactérias gram positivas, outras bactérias não móveis e espiroquetas.

Shibli et al. (2008) realizaram um estudo com objetivo de analisar a composição microbiana do biofilme peri-implantar supra e subgengival. No total, 44 pacientes

que apresentavam implantes em função por um período mínimo de dois anos foram divididos em dois grupos de acordo com a presença/ausência de doença peri-implantar: Grupo com peri-implantite (n=22) (profundidade de sondagem maior que 3 milímetros, sangramento à sondagem e/ou supuração) e Grupo com implantes saudáveis (n=22). Os parâmetros clínicos avaliados incluíram índice de placa, sangramento gengival, sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e supuração. As amostras de biofilme supra e subgengivais foram coletadas das bolsas mais profundas de cada implante e submetidas à análise microbiológica para 36 microrganismos, pela técnica de Checkerboard DNA-DNA Hybridization. Uma maior concentração de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* foi observada nas amostras de biofilme supra e subgengival do grupo com peri-implantite quando comparada às amostras do grupo com implantes saudáveis. Os autores concluíram que implantes com peri-implantite apresentaram maiores proporções dos patógenos do complexo vermelho e menores proporções de bactérias dos complexos microbianos não relacionados à doença periodontal/peri-implantar (complexos Amarelo, Azul, Verde e Violeta).

A infiltração bacteriana através da interface implante/intermediário nos diferentes sistemas de implantes tem sido demonstrada em diversos estudos (COVANI et al., 2006; DO NASCIMENTO et al., 2012; KOUTOUZIS et al., 2016), podendo o biofilme formado no microgap estar relacionado ao desenvolvimento da peri-implantite (ZITZMANN et al., 2002).

Callan et al. (2005) realizaram um estudo com o objetivo de identificar através da análise de sondas de DNA (ácido desoxirribonucléico) a presença de bactérias periodontopatogênicas na interface implante/intermediário protético e no parafuso de retenção do intermediário. Trinta e dois pacientes, totalizando 54 implantes, foram selecionados entre janeiro a novembro de 2001 e apresentavam excelente saúde periodontal. Pontas de papel estéril foram utilizadas para obter amostras da interface implante/intermediário protético (n= 43) e do parafuso de retenção do intermediário (n= 11). Todas as amostras obtidas dos parafusos de retenção foram insignificantes para a presença de bactérias. Em contraste, 100% das amostras obtidas da interface foram positivas para uma ou mais bactérias. O percentual total para cada tipo de bactéria foi de 41,9% *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; 60,5% *Tannerella forsythia*; 44,2% *Campylobacter rectus*; 60,5% *Eikenella corrodens*;

48,8% *Fusobacterium nucleatum*; 46,5% *Porphyromonas gingivalis*; 55,8% *Prevotella intermedia*; e 51,2% *Treponema denticola*.

Covani et al. (2006) analisaram a distribuição de bactérias nas superfícies internas e externas de implantes. Um total de 15 implantes, com mobilidade e envoltos radiograficamente por uma zona radiolúcida, foram removidos de 07 pacientes e submetidos à análise. Durante a remoção manteve-se a conexão implante/intermediário permitindo a avaliação da infiltração bacteriana no microgap formado. Todos os implantes avaliados apresentaram presença de microrganismos ao longo do microgap. Os autores concluíram que a alta colonização bacteriana observada na interface implante/intermediário pode legitimar a hipótese de que microgap formado nessa interface apresenta risco para perda óssea.

Dibart et al. (2005) investigaram através de um estudo *in vitro* a capacidade de prevenção da microinfiltração na interface implante/intermediário de implantes com conexão protética tipo cone morse. Na primeira fase do estudo avaliou-se a capacidade do espaço interno do implante não ser contaminado por bactérias externas. Foram usados 10 implantes e 10 intermediários protéticos. As unidades implante/intermediário foram imersas individualmente em tubos de ensaio contendo 10 ml de uma mistura de bactérias em meio de cultura. Os espécimes foram então incubados por 24 horas numa câmara anaeróbica a 37°C, sendo posteriormente os intermediários separados dos implantes e analisados por microscopia eletrônica de varredura. Na segunda fase do experimento, a habilidade do selo para prevenir penetração bacteriana a partir do interior do implante foi testada. Uma mistura bacteriana em ágar a 2% foi mantida na forma líquida, sendo 0,1 microlito (μ l) depositada no topo dos intermediários protéticos, e esses fixados aos implantes. As unidades implante/intermediário foram incubadas em um caldo nutritivo estéril a 37°C, durante 72 horas. A ocorrência de microinfiltração não foi detectada em ambas as fases do estudo. Os autores concluíram que o sistema de travamento cônico propiciou um excelente vedamento da interface implante/intermediário, o que poderia reduzir a possibilidade de inflamação e infecção peri-implantar.

Steinebrunner et al. (2005) avaliaram a microinfiltração bacteriana na interface implante/intermediário de diferentes sistemas de implante, com diferentes desenhos de macroestrutura (Brånemark System; Frialit-2; Camlog; Replace Select; Screw-

Vent). A microinfiltração bacteriana foi avaliada durante testes com carga dinâmica de dois pontos, podendo essa reduzir a estabilidade da interface implante/intermediário e com isso permitir a penetração de bactérias. Cinco diferentes sistemas de implantes, com oito combinações para coroas unitárias de molares foram testadas. Os implantes foram incrustados em anéis de aço inoxidável com resina autopolimerizável, sendo as coroas de molares confeccionadas sobre intermediários para cimentação. Com uma micropipeta, o interior de cada implante foi inoculado com 5 μ L de solução com *Escherichia coli* em suspensão e o intermediário parafusado utilizando o torque recomendado pelo fabricante. Um modelo experimental idealizado pelos autores foi utilizado. Nesse modelo, os espécimes eram parcialmente imersos em um caldo, onde a interface implante/intermediário ficava submersa e a parte oclusal, não submersa, recebia a carga dinâmica de 120 N. Em intervalos de ciclos regulares, 0,5ml do caldo era coletado para avaliar a contaminação. Todos os espécimes apresentaram contaminação. A média de ciclos de mastigação até a detecção de *Escherichia coli* foi de 172.800 para o Sistema Brånemark (Hexágono Externo), 43.200 para o Sistema Frialit-2 (Hexagonal com Silicone de vedamento), 64.800 para o Sistema Replace Select (Canal Triplo) 345.600 para o Sistema Camlog (Conexão “tube in tube”) e 24.300 para o Sistema Screw-Vent (Hexágono Interno com fricção). Houve diferença estatisticamente significativa entre os sistemas Camlog e Frialit-2, assim como entre os sistemas Camlog e Screw-Vent. O sistema Camlog foi o que necessitou maior número de ciclos para ocorrer a contaminação bacteriana.

Tsuge et al. (2008) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a largura do microgap formado na interface implante/intermediário protético de diferentes implantes. No total, cinco diferentes sistemas de implantes foram utilizados envolvendo: Brånemark System MKIII (hexágono externo), Osseotite External Hex (hexágono externo), Osseotite Certain (hexágono interno), Replace Select (canal triplo) e CAMLOG (“tube in tube”). Os intermediários foram adaptados e receberam o torque recomendado pelo fabricante. A largura da interface implante/intermediário foi medida utilizando um microscópio eletrônico de varredura. A largura do microgap de todos os sistemas foi inferior a 6 μ m, sendo observada uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre os implantes Replace Select (Canal Triplo) 5,6 μ m e Brånemark System MKIII (Hexágono Externo) 2,3 μ m.

Renvert et al. (2008) avaliaram, através de um estudo *in vivo*, a condição clínica e microbiológica de dois diferentes sistemas de implantes. No total, cinquenta e quatro indivíduos, com implantes em função por um período de sete anos, foram incluídos nesse estudo e divididos em dois grupos: Vinte e sete reabilitados com Astra Tech (132 implantes) e vinte e sete reabilitados com Branemark Nobel Biocare (102 implantes). As amostras subgingivais foram obtidas a partir da inserção de duas pontas de papel endodôntico estéreis, por 20 segundos, no ponto de maior profundidade de sondagem, sendo a análise realizada pela técnica Checkerboard DNA-DNA Hybridization. As profundidades de sondagem foram significativamente maiores nos implantes Branemark quando comparado ao Astra Tech, não sendo observada diferença estatisticamente significante para os parâmetros clínicos: índice de placa, sangramento à sondagem e supuração. A avaliação microbiológica não apresentou resultado estatisticamente significante entre os grupos.

Tesmer et al. (2009) conduziram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar o risco de infiltração bacteriana na interface implante/intermediário de implantes com diferentes tipos de conexões protéticas. Trinta implantes foram divididos em três grupos (n=10 por grupo) com base na configuração da interface. No Grupo 1 implantes com conexão tipo cone morse foram conectados a intermediários protéticos convencionais utilizando um torque de 25 Ncm de acordo com a orientação do fabricante. No Grupo 2 foi utilizada a mesma configuração do grupo 1, tendo sido confeccionado manualmente uma fissura vertical na porção lateral do intermediário. No grupo 3 implantes com uma conexão interna tipo canal triplo foram conectados aos seus intermediários utilizando um torque de 35 Ncm de acordo com orientação do fabricante. O manuseio dos implantes e intermediários foi realizado mantendo uma técnica asséptica. As amostras foram imersas numa solução de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* a 37°C por cinco dias. Três das dez amostras do grupo 1 demonstraram significância com baixo número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) para *A. actinomycetemcomitans*, enquanto nenhum implante das dez amostras demonstrou UFC para *P. gingivalis*. Dez das 10 e nove das 10 amostras dos grupos 2 e 3, respectivamente, desenvolveram múltiplos UFCs para *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*. O estudo concluiu que o tipo de conexão protética influenciou o risco de infiltração bacteriana na interface implante/intermediário protético.

Do Nascimento et al. (2011) conduziram um estudo com o objetivo de avaliar a microinfiltração bacteriana da interface implante/intermediário protético de implantes com conexão tipo hexágono externo, em condições de não carregamento. Previamente a avaliação da microinfiltração, amostras da porção interna do implante foram coletadas utilizando um microbrush estéril, atuando como controle negativo. No total, 12 implantes adaptados aos seus intermediários com um torque de 32 Ncm, de acordo com orientações do fabricante, foram utilizados. Os conjuntos foram imersos em 2 ml de saliva humana e incubados por um período de sete dias. Após esse período amostras da porção interna do implante e dos parafusos dos intermediários foram coletados com microbrush estéril, assim como no grupo controle, sendo a contaminação avaliada utilizando a técnica Checkerboard DNA-DNA Hybridization. A presença de microrganismos foi observada nas superfícies internas de todos os implantes avaliados após incubação por período de 7 dias. As espécies bacterianas mais incidentes foram *A. actinomycetemcomitans* e *Capnocytophaga gingivalis*. Não foram observados microrganismos nas amostras obtidas previamente ao teste de microinfiltração. Os autores concluíram, dentro das limitações do estudo, que a interface implante/intermediário protético de implantes com conexões tipo hexágono externo está sujeita a microinfiltração bacteriana mesmo em condições de não carregamento.

Do Nascimento et al. (2012) avaliaram através de um estudo *in vitro* a infiltração bacteriana na interface implante/intermediário protético de implantes com diferentes conexões protéticas (20 Hexágono Externo, 20 Hexágono Interno e 20 Cone Morse) sob condições de carregamento e não carregamento. Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos (10 implantes submetidos ao carregamento dinâmico e 10 implantes não submetidos ao carregamento). As amostras foram imersas em saliva humana e submetidas a um carregamento de 500.000 ciclos a 120 N (Newton) (grupo teste) ou incubadas em condições estáticas a 35°C por 07 dias (grupo controle). A ocorrência da infiltração bacteriana, através da interface implante/intermediário, e consequente contaminação dos implantes foi avaliada utilizando a técnica Checkerboard DNA-DNA Hybridization. A presença de microrganismos foi detectada em todos os tipos de conexões, sendo uma menor contagem de microrganismos observada nos implantes com conexão tipo cone morse em condições de carregamento e não

carregamento. Conexões tipo hexágono externo e interno mostraram uma maior contagem de microrganismos quando submetidos ao carregamento dinâmico.

Schmitt et al. (2014) realizaram uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de comparar o desempenho dos sistemas de conexão cônicas e não cônicas (externas e internas) em estudos *in vitro* e *in vivo*. No total, 52 estudos foram incluídos nessa revisão: treze avaliaram a infiltração bacteriana na interface implante/intermediário protético, trinta concentraram-se na análise da resistência mecânica do conjunto implante/intermediário dos diferentes sistemas e nove caracterizaram estudos *in vivo* (humanos e animais). Estudos *in vitro* indicam que as conexões cônicas apresentam menor infiltração bacteriana, maior estabilidade mecânica e maior capacidade de manutenção do torque. Nos estudos *in vivo*, as conexões cônicas e não cônicas apresentaram taxas de sucesso semelhantes, sendo observada uma menor perda óssea marginal nas conexões cônicas.

Koutouzis et al. (2014) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito do carregamento dinâmico na colonização da interface implante/intermediário protético em implantes com conexão tipo cone morse. Quarenta implantes foram divididos em dois grupos (n=20 / grupo), sendo os intermediários protéticos conectados a esses com um torque de 25 Ncm em condições assépticas. As amostras foram imersas numa solução bacteriana de *Escherichia coli*, sendo o grupo 2 submetido a um carregamento de 500.000 ciclos a 50 N utilizando um simulador de mastigação. Posteriormente os implantes e os intermediários foram desconectados, mantendo condições assépticas, e as amostras bacterianas coletadas com auxílio de um swab a partir da parte rosqueada do intermediário, preparadas e então incubadas a 37°C por 24 horas. Um dos implantes do Grupo 1 e quatro do Grupo 2 apresentaram infiltração por *E. coli* na interface implante/intermediário protético. O resultado do estudo indica que implantes com conexão tipo cone morse exibiram uma microinfiltração bacteriana mínima na interface implante/intermediário em condições *in vitro*, havendo, no entanto, um aumento no potencial de infiltração quando esses são submetidos ao carregamento dinâmico. Os autores destacam que os resultados dos estudos *in vitro* devem ser confirmados por estudos clínicos.

Canullo et al. (2015) avaliaram, através de um estudo transversal, a presença de microrganismos no biofilme subgingival peri-implantar, no biofilme subgingival dos

dentes vizinhos e na conexão implante/prótese de implantes saudáveis. Os pacientes (n=40) foram selecionados, a partir de quatro clínicas especializadas privadas, participando os mesmos de programas de manutenção semestrais/anuais e apresentando prótese fixa metalocerâmica cimentadas, suportadas por pelo menos dois implantes saudáveis, em função há pelo menos 5 anos, com necessidade de remoção para reparo ou substituição. Os pacientes foram divididos em 04 grupos de acordo com o tipo de conexão: hexágono externo (Grupo Controle – 10), hexágono interno duplo (Grupo teste 1 - 10), hexágono interno com colar externo (Grupo teste 2 - 10) e conexão cônica (Grupo teste 3 – 10). As amostras para exame microbiológico foram coletadas por um único examinador em três sítios distintos (biofilme subgengival peri-implantar, biofilme subgengival dos dentes vizinhos e da conexão implante/prótese) e submetidas à análise quantitativa e qualitativa utilizando a técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR). Os grupos 2 e 3 apresentaram contagem bacteriana total significativamente menor no biofilme subgengival peri-implantar e na conexão implante prótese, em relação aos demais grupos. Além disso, o grupo 3 apresentou os menores valores médios para as bactérias do complexo vermelho e o grupo controle, o mais elevado, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Os autores concluíram que todas as conexões analisadas apresentaram infiltração bacteriana, no entanto, o tipo de conexão protética pode influenciar os níveis de atividade bacteriana qualitativa e quantitativamente, especialmente na conexão implante/prótese.

Tallarico et al. (2017) realizaram uma revisão sistemática e meta-análise com o objetivo de avaliar a colonização bacteriana na interface implante/intermediário protético e identificar possíveis associações com a condição peri-implantar. O foco do estudo consistiu em correlacionar a maior contagem bacteriana ao desenvolvimento da peri-implantite. A estratégia de pesquisa envolveu a literatura online, de 1990 a 2015. Para análise de dados, a contagem bacteriana total de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* foi comparada na presença e ausência de patologia peri-implantar. Um total de 14 artigos, relatando dados de 1126 implantes, preencheram os critérios de inclusão e foram submetidos a avaliação de qualidade. Os estudos selecionados revelaram contaminação da interface

implante/intermediário protético, em pacientes que receberam sistemas de implantes de duas partes. A meta-análise indicou diferença significativa na contagem bacteriana total entre implantes afetados por peri-implantite quando comparado aos tecidos peri-implantares saudáveis, sendo observada menor contagem bacteriana em condições de saúde para todas as bactérias gram-negativas investigadas, exceto para *T. forsythia*.

O conceito de plataforma switching foi introduzido por Lazzara e Porter (2006) e refere-se ao uso de um intermediário de menor diâmetro em relação ao diâmetro da plataforma protética do implante. Essa condição afasta a interface implante/intermediário da crista óssea, posicionando-a mais centralmente ao eixo do implante. Sugere-se que ao deslocar a interface implante/intermediário centralmente reduz-se a tensão sobre a crista óssea e afasta da mesma, bactérias que podem se alojar no microgap, reduzindo a resposta inflamatória (LAZZARA; PORTER, 2006).

Crespi, Capparè e Gherlone (2009) realizaram um estudo clínico prospectivo, durante 24 meses, com o objetivo de avaliar o nível ósseo marginal em torno de dois diferentes tipos de conexões implante/intermediário, um convencional (hexágono externo) e outro utilizando o conceito de plataforma reduzida (cone morse). Quarenta e cinco pacientes, os quais necessitavam de exodontia de incisivo, canino ou pré-molar (maxila ou mandíbula), foram incluídos no estudo e divididos aleatoriamente em dois grupos. No primeiro grupo foram instalados 34 implantes com conexão tipo hexágono externo e no segundo 30 implantes com conexão tipo cone morse. Os implantes foram instalados imediatamente após a exodontia e então carregados. Os critérios de exclusão envolveram: deiscência ou fenestração óssea, distúrbios da coagulação, infecções agudas do elemento dentário extraído, tabagismo, álcool, drogas e bruxismo. Exames radiográficos intrabucais foram realizados após a instalação dos implantes, aos 12 e 24 meses, sendo a perda óssea mensurada por um radiologista, por meio de um software específico, medindo a distância entre a plataforma do implante e o ponto mais coronal de contato ósseo por mesial e distal. Após 24 meses, a taxa de sobrevivência foi de 100% para ambos os grupos. O grupo com plataforma reduzida mostrou uma perda óssea média de $0,78 \pm 0,49$ milímetros (mm) e o grupo com plataforma convencional mostrou uma perda óssea média de $0,73 \pm 0,52$ mm ($p > 0,05$). Os resultados deste estudo indicam que os implantes colocados em alvéolos frescos e carregados imediatamente

representam um procedimento previsível, sem diferença significativa em relação à mudança do nível ósseo quando comparado conexões tipo hexágono externo e cone morse.

Enkling et al. (2011) realizaram um estudo clínico randomizado com o objetivo de avaliar se o emprego da plataforma switching apresenta um impacto positivo sobre as mudanças do nível da crista óssea, reduzindo a perda óssea peri-implantar no primeiro ano após a instalação do implante. Vinte e cinco pacientes foram selecionados na Dental Clinic Bochum - Universidade de Witten-Herdecke, Alemanha, tendo como pré-requisito bom estado de saúde geral, ausência de doenças infecciosas, diabetes, osteopatias, doença periodontal e adequada altura e largura óssea. Cada paciente foi submetido à instalação de dois implantes (4 x 9,5 mm), na região posterior de mandíbula, os quais permaneceram imersos por 3 meses, sendo posteriormente expostos e conectados aos intermediários protéticos: Grupo Controle não utilizando o conceito de plataforma switching (diâmetro 4,0 mm) e Grupo Teste utilizando o conceito de plataforma switching (diâmetro 3,3 mm). Coroas unitárias foram então cimentadas provisoriamente. Radiografias padronizadas e amostras microbiológicas do interior dos implantes foram obtidas no início do estudo (cirurgia de implante), e depois de 3, 4 e 12 meses. Após um ano, a perda óssea radiográfica no grupo teste foi de $0,53 \pm 0,35\text{mm}$, e no grupo controle $0,58 \pm 0,55\text{ mm}$, não sendo a diferença estatisticamente significativa. A colonização da porção interna do implante não apresentou diferença estatística em relação à largura do intermediário. O presente estudo clínico randomizado não confirmou a hipótese de que o emprego da plataforma switching apresenta um impacto positivo sobre as mudanças do nível da crista óssea em torno de implantes.

Pieri et al. (2011) realizaram um estudo clínico randomizado com o objetivo de comparar clínica e radiograficamente duas conexões implante/intermediário protético distintas. Quarentas indivíduos, os quais apresentavam indicação de exodontia de pré-molar superior e instalação imediata de implantes, foram recrutados entre setembro de 2007 e janeiro de 2008, da Unidade de Cirurgia Oral e Maxilofacial da Universidade de Bologna (Itália), e acompanhados por um período de 12 meses. Após a exodontia do elemento dentário, o paciente era submetido à instalação imediata do implante e do intermediário protético, sendo as coroas protéticas provisórias adaptadas 24 horas após o procedimento. A seleção do intermediário foi

realizada aleatoriamente: Grupo teste – intermediário protético com configuração cone morse e utilizando o conceito de plataforma switching e Grupo Controle – intermediário protético convencional com uma conexão interna e com o mesmo diâmetro do implante. As coroas definitivas foram instaladas 4 meses após o procedimento. Os parâmetros clínicos (índice de placa modificada, índice de sangramento, profundidade de sondagem) e radiográfico (distância entre a plataforma do implante e o ponto mais coronal de contato ósseo por mesial e distal) foram registrados após a instalação dos implantes, e após 4 e 12 meses. Dos 40 pacientes recrutados, 38 completaram o estudo. Na avaliação de 12 meses, não foi observada diferença estatística entre os dois grupos em relação aos parâmetros clínicos, no entanto, quando avaliada radiograficamente o grupo controle apresentou maior perda óssea quando comparado ao grupo teste. Os autores destacam a necessidade de estudos em longo prazo e com uma amostra maior para uma correta conclusão da influência dos diferentes tipos de intermediários nos parâmetros clínicos e radiográficos.

Strietzel, Neumann e Hertel (2015) realizaram uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de avaliar o impacto da plataforma switching sobre o nível ósseo marginal, quando comparado a plataforma convencional. Uma revisão foi realizada utilizando base de dados eletrônica, buscando preferencialmente estudos clínicos randomizados e estudos de coorte clínicos controlados e prospectivos, entre 2005 e 2013, os quais analisavam as alterações no nível ósseo marginal em implantes que utilizaram uma plataforma switching em comparação a implantes que utilizaram uma plataforma convencional para reabilitação protética. Vinte e duas publicações, que preencheram os critérios de inclusão e exclusão foram eleitas e determinaram em sua maioria (15 estudo clínicos randomizados e 3 estudos de coorte prospectivos) uma perda óssea marginal significativamente menor em torno de implantes que utilizaram a plataforma switching. Os autores relatam, no entanto, que em virtude a heterogeneidade, o tempo de acompanhamento e os vieses relatados nos estudos, os resultados devem ser interpretados com cautela.

Na implantodontia, os implantes podem ser classificados, de acordo com o protocolo de instalação em submersos e não submersos. Nos implantes submersos o microgap está localizado ao nível da crista óssea ou apicalmente a essa, condição a qual permite que os microrganismos que colonizam a interface

implante/intermediário, assim como seus subprodutos, fiquem em íntimo contato com o tecido ósseo, favorecendo a ocorrência de um processo inflamatório/infeccioso local e consequente perda óssea (BROGGINI et al., 2003; HERMANN et al., 2001).

Hermann et al. (2001) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar histometricamente mudanças do nível da crista óssea em implantes de duas peças e não submersos. Um total de 60 implantes instalados aleatoriamente em mandíbulas desdentadas de cães foram divididos em 6 grupos, de acordo com a dimensão do microgap e a presença ou ausência de componentes soldados. Em todos os implantes as plataformas protéticas foram instaladas 1 mm coronalmente a crista óssea, sendo o intermediário protético a esse adaptado na primeira fase cirúrgica. Nos grupos A, B e C os implantes apresentavam, respectivamente, dimensões do microgap de $<10 \mu\text{m}$, $50 \mu\text{m}$, e $100 \mu\text{m}$. O mesmo era observado nos grupos C, D e E, diferindo, pois, nos grupos A, B e C os implantes eram soldados ao intermediário, não permitindo micro movimentos, enquanto nos grupos C, D e E o intermediário era retido apenas pelo parafuso. Nos implantes soldados a laser (A, B, e C) a distância média da interface implante/intermediário protético ao primeiro ponto de contato osso/implante foi de $1,06 \pm 0,46 \text{ mm}$ para o grupo A, $1,28 \pm 0,47 \text{ mm}$ para o Grupo B, e $1,17 \pm 0,51 \text{ mm}$ para o Grupo C. Todos os do grupo sem soldadura (D, e, e F) apresentaram significativamente maiores perdas ósseas, com $1,72 \pm 0,49 \text{ mm}$ para Grupo D, $1,71 \pm 0,43 \text{ mm}$ para o Grupo E, e de $1,65 \pm 0,37 \text{ mm}$ para Grupo F. Os autores concluíram que a perda óssea em torno de implantes não submersos é significativamente influenciada por micro movimentos entre o implante e o intermediário protético, porém não pelas dimensões do microgap.

Boynuegri et al. (2012) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito do microgap nos parâmetros clínicos e bioquímicos em torno de implantes osseointegrados. Dez pacientes, desdentados há pelo menos dois anos e com rebordo mandibular severamente reabsorvido, foram selecionados da Clínica de Periodontia da Universidade de Gazi, Ankara. Cada paciente foi submetido à instalação de quatro implantes Straumann (2 Standards e 2 Esthetic Plus) entre os forames mentonianos. O implante Standard apresenta uma porção coronária com uma superfície usinada de 2,8 mm, enquanto no Esthetic Plus essa é de 1,8 mm, permitindo assim diferentes localizações do microgap em relação à crista óssea

alveolar. Posteriormente 4 diferentes grupos foram classificados de acordo com a localização do microgap: Grupo A: Implante Straumann Standard mantendo a superfície usinada coronalmente a crista óssea, Grupo B: Implante Straumann Standard mantendo 1 mm da superfície usinada infra óssea, Grupo C: Implante Esthetic Plus mantendo a superfície usinada supra óssea e grupo D: Implante Esthetic Plus mantendo a superfície usinada infra óssea. Portanto, o microgap no grupo A ficou 2,8 mm acima da crista alveolar, enquanto no grupo D esse permaneceu ao nível da crista alveolar. Os parâmetros clínicos peri-implantares (índice gengival, índice de placa, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem) e o fluido crevicular peri-implantar foram coletados imediatamente antes do carregamento e no 3º, 6º e 12º mês após o carregamento. Não foram observadas diferenças entre o índice de placa, índice gengival e a profundidade de sondagem entre os grupos ao longo do estudo. O grupo A apresentou uma menor quantidade de fluido crevicular. Em relação ao sangramento à sondagem o grupo A apresentou menores valores quando comparados aos grupos C e D. Na avaliação bioquímica, o grupo A apresentou os menores valores de IL-1 β , sendo ainda os valores de Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) menores no grupo A quando comparado aos grupos B e D. Com base nos resultados do estudo os autores ressaltam que a localização mais coronal do microgap em relação à crista óssea pode auxiliar a manutenção da saúde peri-implantar, devendo ser empregado especialmente em locais sem prioridade estética.

O sucesso da osseointegração e a longevidade dos implantes estão bem documentados, entretanto uma das intercorrências negativas observadas durante seu acompanhamento, em longo prazo, são as infecções peri-implantares. A peri-implantite é um processo inflamatório que acomete os tecidos que circundam implantes dentais osseointegrados. Essa condição se desenvolve em resposta a colonização bacteriana e, se não tratada, leva a perda do osso de suporte (MOMBELLI, 1998).

Os implantes osseointegráveis são bem suportados pelo tecido ósseo, porém se a interface implante/intermediário protético não for precisa, pode resultar em complicações biomecânicas e microbiológicas, gerando inflamação dos tecidos e conseqüente comprometimento estético e funcional dos implantes (DIAS et al., 2006). Na dificuldade em evitar-se a existência de espaços entre os componentes na

adaptação de diferentes partes de um sistema de implante, o significado clínico dessa desadaptação demanda estudos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Analisar a condição peri-implantar e comparar a microbiota subgengival ao redor de implantes com diferentes conexões protéticas, em função por um período mínimo de 5 anos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar, através de parâmetros clínicos (índice de placa visível, índice de sangramento gengival marginal, profundidade de sondagem peri-implantar, sangramento à sondagem peri-implantar e supuração) a condição peri-implantar de implantes com diferentes conexões protéticas.
- Comparar a microbiota subgengival encontrada ao redor de implantes com diferentes conexões protéticas.

4 METODOLOGIA

Este estudo de caráter analítico e com delineamento transversal foi realizado de acordo com a Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) sob o número 1.358.225 (ANEXO A).

A seleção da amostra para este estudo foi realizada com base na avaliação de prontuários de indivíduos reabilitados com implantes osseointegrados, em uma clínica privada de Vitória/ES (Brasil), no período de 1994 a 2009, executados por uma mesma equipe de profissionais, seguindo o mesmo protocolo clínico de atendimento.

No total, 16 indivíduos que apresentavam documentação completa e reabilitados com implantes osseointegrados unitários, estando à prótese instalada e funcional por um período mínimo de cinco anos, com ausência de doença periodontal e submetidos a consultas regulares de controle foram incluídos nessa pesquisa. A amostra total foi selecionada, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão abaixo descritos, a partir de um banco de dados de 31 pacientes.

O período mínimo de cinco anos foi adotado por permitir não apenas a detecção da destruição tecidual ao redor dos implantes, como também garantir que as alterações observadas sejam consequências da interação entre a microbiota e a resposta imune-inflamatória do hospedeiro (ROSENBERG *et al.*, 2004; ZANGRADO *et al.*, 2015; SGOLASTRA *et al.*, 2015).

Indivíduos com doença periodontal moderada e severa, e com doença periodontal agressiva, foram excluídos da pesquisa em virtude a inter-relação entre a doença periodontal e a doença peri-implantar, podendo elementos dentários com comprometimento periodontal atuar como reservatórios para transmissão de periodontopatógenos aos sítios peri-implantares (SUMIDA *et al.*, 2002; AGERBAEK *et al.*, 2006; DALAGO *et al.*, 2017).

Todos os participantes receberam orientação quanto aos objetivos da pesquisa, assim como seus riscos e benefícios. A participação foi voluntária e os indivíduos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). Posteriormente, realizou-se a atualização de informações pessoais e médicas.

4.1 AMOSTRA

4.1.1 Critérios de Inclusão

- a. documentação completa;
- b. reabilitação realizada pela mesma equipe;
- c. implantes osseointegrados unitários;
- d. prótese instalada e funcional por um período mínimo de 05 anos;
- e. realização de consultas regulares de controle.

4.1.2 Critérios de Exclusão

Excluiu-se da pesquisa, assim como proposto em outros estudos (SHIBLI et al., 2008; CANULLO et al., 2015):

- a. pacientes submetidos à terapia antibiótica e/ou anti-inflamatória nos três meses que antecederam o estudo;
- b. fumantes;
- c. diabéticos ou com doença que seja um indicador de risco a doença periodontal;
- d. grávidas e lactantes;
- e. pacientes submetidos à terapia com medicamentos que possam alterar o metabolismo ósseo (exemplo: bifosfonatos);
- f. pacientes submetidos à quimioterapia e/ou radioterapia de cabeça e pescoço nos últimos cinco anos;
- g. pacientes que não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

- h. pacientes que apresentaram ao exame clínico coroas protéticas fraturadas e/ou com mobilidade;
- i. diagnosticados com doença periodontal crônica de moderada a severa, ou seja, supuração em algum dente, sangramento à sondagem em mais de 30% dos sítios subgingivais ou que apresente dente com profundidade de sondagem maior que 5mm;
- j. diagnosticados com doença periodontal agressiva, ou seja, índice de placa desproporcional à acentuada perda de inserção interproximal atingindo principalmente primeiros molares e incisivos permanentes;
- k. mobilidade clinicamente detectável do implante;
- l. ausência de contato oclusal e/ou interproximal na coroa protética do implante.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Nos indivíduos selecionados foram coletadas em prontuários e registradas em instrumento de coleta de dados (APÊNDICE B) as seguintes informações:

- a. dados pessoais e médicos;
- b. tempo de instalação do implante;
- c. marca comercial do implante;
- d. comprimento e diâmetro do implante;
- e. tipo de conexão protética;

Trinta implantes, presentes em 16 indivíduos, foram divididos em três grupos de acordo com o tipo de conexão protética: Hexágono Externo (Grupo A; OSSEOTITE IMPLANT SYSTEM, 3I, Palm Spring, CA, EUA e BRANEMARK SYSTEM MKIII, Nobel Biocare, Kloten, Switzerland), Canal Triplo (Grupo B; REPLACE SELECT, Nobel Biocare, Kloten, Switzerland) e Cone Morse (Grupo C; Straumann[®], Basel, Switzerland).

Todos os indivíduos foram submetidos a avaliação clínica e coleta de amostras de biofilme subgengival, de acordo com o protocolo especificado nas duas sessões seguintes (4.3 Avaliação Clínica e 4.4 Avaliação Microbiológica). Esse estudo se apresenta como um estudo duplo cego.

4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação clínica e mensuração dos parâmetros peri-implantares foram realizadas por um único examinador calibrado, cego para o tipo de conexão protética, assim como para o objetivo do estudo e não envolvido na fase cirúrgica e/ou protética da reabilitação. Para a realização da calibração intra-examinador, antes do início da pesquisa, o profissional selecionado (especialista em Periodontia com mais de dez anos de experiência clínica) realizou exames clínicos completos em dez indivíduos, repetindo o mesmo procedimento após um intervalo de sete dias para que os dados fossem submetidos ao teste Kappa (CONOVER *et al.*, 1999). A calibração foi realizada nesses intervalos, obtendo um grau de concordância muito bom (Kappa= 0,835).

As mensurações clínicas foram realizadas em todos os implantes, utilizando-se sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte (PCPNU-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA). Assim como proposto em outros estudos (SHIBLI *et al.*, 2008; DALAGO *et al.*, 2017) os parâmetros clínicos avaliados incluíram:

4.3.1 Índice de Placa Visível (IPV)

Seguindo o índice dicotômico proposto por Ainamo & Bay (1975), foi avaliada e registrada a presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de placa supragengival visível, na região adjacente à mucosa do implante, sem utilização de sonda, após secagem da prótese sobre implante com ar comprimido.

4.3.2 Índice de Sangramento Gengival Marginal (ISGM)

Seguindo o índice dicotômico proposto por Ainamo & Bay (1975), foi avaliada a presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento da gengiva marginal, após percorrer levemente a sonda periodontal ao longo do sulco gengival.

4.3.3 Profundidade de Sondagem Peri-implantar (PSP)

A profundidade de sondagem foi medida nas quatro faces (mesial, distal, vestibular e lingual/palatal), após calibração do examinador. As distâncias foram mensuradas em milímetros, sendo registrado o sítio de maior profundidade de sondagem, para cada implante.

4.3.4 Sangramento à Sondagem Peri-implantar (SSP)

Após a sondagem peri-implantar, observou-se a presença (1) ou ausência (0) de sangramento à sondagem nas quatro faces onde foram mensuradas as profundidades de sondagem. Os dados foram analisados após transcorridos 30 segundos da sondagem com sonda periodontal milimetrada.

4.3.5 Exsudato e Supuração

Após a sondagem peri-implantar, observou-se a presença (1) ou ausência (0) de exsudato e supuração nas quatro faces onde foram mensuradas as profundidades de sondagem. Os dados foram analisados após transcorridos 30 segundos da sondagem com sonda periodontal milimetrada.

4.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

4.4.1 Seleção dos Sítios de Coleta

Após exame clínico ao redor de todo implante, o sítio de maior profundidade de sondagem foi selecionado para a realização da coleta de biofilme subgengival. Caso dois ou mais sítios apresentassem a mesma profundidade de sondagem, o sítio localizado mais anteriormente era selecionado.

4.4.2 Coleta das Amostras de Biofilme Subgengival

Após remoção da placa supragengival, os implantes foram isolados com rolos de algodão e as superfícies secas com jato de ar. A coleta de amostras do biofilme subgengival, dos sítios peri-implantares selecionados, foi realizada com auxílio de uma cureta Gracey do tipo mini-five (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA), posicionada na porção mais apical do sulco/bolsa peri-implantar, e em um único movimento de raspagem no sentido ápico-coronal. As amostras foram imediatamente transferidas para tubos plásticos do tipo Eppendorf (Axygen, EUA) de 1,5ml (identificados com as iniciais de cada paciente, número do implante e face de coleta) contendo 150 µl de solução de TE (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7,6). A cada tubo contendo a amostra do biofilme subgengival, foi adicionado 100µl de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5M. Posteriormente, os tubos foram armazenados em freezer a - 80°C, no Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Reddins (LUCCAR), localizado no Centro de Ciências da Saúde, UFES, até serem analisados por meio da técnica do Checkerboard DNA-DNA Hybridization para as 40 cepas bacterianas, descritas na Tabela 1, no Laboratório de Pesquisa em Odontologia, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade de Guarulhos/São Paulo – Brasil. As espécies foram agrupadas por complexos bacterianos descritos por Socransky et al. (1998).

Tabela 1. Relação das cepas empregadas para a confecção das sondas de DNA.

Espécies	Cepas	Espécies	Cepas
Complexo Azul		Complexo Laranja (cont.)	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860 ^a	<i>Eubacterium nodatum</i>	33099 ^a
<i>Actinomyces israelii</i>	12102 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum ssp. nucleatum</i>	25586 ^a
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	12104 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum ssp. polymorphum</i>	10953 ^a
<i>Actinomyces oris</i>	43146 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum ssp. vincentii</i>	49256 ^a
		<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693 ^a
Complexo Roxo		<i>Parvimonas micra</i>	33270 ^a
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929 ^a	<i>Prevotella intermédia</i>	25611 ^a
<i>Veillonella parvula</i>	10790 ^a	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563 ^a
		<i>Streptococcus constellatus</i>	27823 ^a
Complexo Amarelo		Complexo Vermelho	
<i>Streptococcus gordonii</i>	10558 ^a	<i>Tannerella forsythia</i>	43037 ^a
<i>Streptococcus intermedius</i>	27335 ^a	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277 ^a
<i>Streptococcus mitis</i>	49456 ^a	<i>Treponema denticola</i>	B1 ^b
<i>Streptococcus oralis</i>	35037 ^a		
<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556 ^a		
Complexo Verde		Outras Espécies	
		<i>Eubacterium saburreum</i>	33271 ^a
<i>Aggregatibacter</i>	43718 ^a	<i>Gemella morbillorum</i>	27824 ^a
<i>actinomycetemcomitans a + b</i>	29523 ^a	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201 ^a
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624 ^a	<i>Neisseria mucosa</i>	19696 ^a
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596 ^a	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845 ^a
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612 ^a	<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	11827 ^a
<i>Eikenella corrodens</i>	23834 ^a		11828 ^a
		<i>Selenomonas noxia</i>	43541 ^a
Complexo Laranja		<i>Streptococcus anginosus</i>	33397 ^a
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236 ^a	<i>Treponema socranskii</i>	S1 ^b
<i>Campylobacter rectus</i>	33238 ^a		
<i>Campylobacter showae</i>	51146 ^a		

^a ATCC (American Type Culture Collection)

^b Forsyth Institute, Boston, MA.

4.4.3 Processamento e Análise das Amostras: Checkerboard DNA-DNA Hybridization

O processamento e a análise das amostras foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Odontologia, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade de Guarulhos/São Paulo – Brasil, pelo método “Checkerboard DNA-DNA Hybridization” descrito por Socransky et al. (1994) e modificado por Haffajee et al. (1997). Nesse, as suspensões contidas nos tubos de Eppendorf foram fervidas em banho-maria por dez minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de acetato de amônia a 5 Molar (M). Com isso, as células foram lisadas e o DNA ficou suspenso na solução. Cada suspensão, contendo o DNA livre das bactérias presentes nas amostras coletadas, foi depositada em uma das canaletas do aparelho *Minislot 30* (Immunectis, Cambridge, MA, USA), ficando, assim o DNA concentrado em uma membrana de nylon (15 X 15 cm) com carga positiva (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN, USA). As duas últimas canaletas horizontais do *Minislot 30* foram ocupadas por controles contendo uma mistura do DNA das espécies de microrganismos investigadas pelas sondas, nas concentrações correspondentes a 10^5 e 10^6 células bacterianas, ou seja, 1 nanograma (ng) e 10ng de DNA de cada espécie, respectivamente (SOCRANSKY et al., 1994; HAFFAJEE et al., 1997). Posteriormente, 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 minutos.

4.4.4 Pré-Hibridização e Hibridização DNA-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 standart saline citrate - SSC (1 x SSC = 150 mM NaCl, 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 (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA).

Em seguida, cada membrana foi posicionada sob a placa acrílica do “Miniblotter 45” (Immunetics, Cambridge, MA, USA) com as linhas de DNA perpendiculares às canaletas do aparato. O “Miniblotter” contém 45 canaletas que servem cada uma

para a colocação de uma sonda de DNA. As sondas de DNA foram confeccionadas usando o “random primer digoxigen in labeling Kit” (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA), como descrito por Feinberg & Vogelstein (1983). Sondas de DNA específicas para 40 espécies, selecionadas devido à sua associação com diferentes tipos de doenças e saúde periodontais/peri-implantares, foram utilizadas nesse estudo (HAFFAJEE; SOCRANSKY, 1994). Anteriormente ao seu uso as sondas foram testadas com uma mistura controle contendo as espécies investigadas, numa concentração de 10^4 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 μ l 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 e 1% caseína). As sondas hibridizaram o material localizado perpendicularmente às linhas que contém o DNA bacteriano fixado, 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. Para hibridização das membranas com as sondas aguardou-se um período mínimo de 20 horas, a 42°C.

4.4.5 Detecção das Espécies

Após o período de hibridização, as membranas foram removidas do Miniblotter 45 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 uma hora, em uma solução contendo 1% de ácido maléico ($C_4H_4O_4$), 3 M NaCl, 0,2 M NaOH, 0,3% Tween 20, 0,5% caseína, pH 8,0, e, em seguida, por 30 minutos, na mesma solução, contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) em uma diluição de 1/10.000. As membranas foram, então, lavadas duas vezes por 20 minutos em uma solução de 0,1 M de ácido maléico, 3 M de NaCl, 0,2 M de NaOH, 0,3% Tween 20, pH 8,0, e uma vez, por cinco minutos, em uma solução de 0,1 M de Tris HCL e 0,1 M de NaCl, 50 mM $MgCl_2$, pH 9,5.

As membranas foram incubadas em uma solução detectora à base de fosfatase alcalina, CDP- Star™ Detection Reagent (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra), 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 Kodak X-Omat de 18 X 24 cm (Kodak Brasileira Com. e Ind. Ltda, São José dos Campos, SP, BR) por aproximadamente 40 minutos. O filme foi revelado manualmente, pelo método convencional tempo-temperatura, de acordo com orientações do fabricante, empregando soluções Kodak mantidas à temperatura de 20°C.

Dessa forma, foi obtido um filme radiográfico com os sinais de quimioluminescência detectados pelas sondas de DNA, no qual as linhas horizontais representam às amostras e as verticais as sondas de DNA. A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado e cego em relação ao tipo de conexão protética e o objetivo do estudo, da seguinte forma: cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de biofilme foi comparado, em intensidade, ao sinal produzido pela mesma sonda nos dois controles contendo 10^5 e 10^6 bactérias. Dessa forma, o número 0 foi registrado quando não houve detecção do sinal; o número 1 equivaleu a um sinal menos intenso que o controle de 10^5 células; o número 2 equivaleu a aproximadamente 10^5 células; o número 3 entre 10^5 e 10^6 células; o número 4 a aproximadamente 10^6 células e o número 5, mais de 10^6 células (Tabela 2). Esses registros foram posteriormente utilizados para determinar a contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas analisadas nas amostras de biofilme subgengival (Tabela 5).

Tabela 2 - Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgengival.

Índice	Nível do microrganismo	Contagem
0	Não detectado	0
1	Menos de 10^5 células	10.000
2	Aproximadamente 10^5 células	100.000
3	Entre 10^5 a 10^6 células	500.000
4	Aproximadamente 10^6 células	1.000.000
5	Mais de 10^6 células	10.000.000

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados em planilhas do programa Excel for Windows sendo, a princípio, tratados de forma separada. As análises estatísticas foram realizadas no programa IBM SPSS Statistics 24. O nível de significância estabelecido para os testes foi de 5%, o que estabeleceu um nível de confiança de 95% para os resultados apresentados.

4.5.1 Dados Clínicos

O perfil dos pacientes foi obtido a partir de análise descritiva dos seguintes dados: idade, sexo e tipo de conexão protética. Para as variáveis Índice de Placa Visível, Índice de Sangramento Gengival Marginal, Sangramento à Sondagem Peri-

implantar, Exsudato e Supuração foram utilizados o teste Exato de Fisher. O teste Kruskal-Wallis foi aplicado à variável Profundidade de Sondagem Peri-implantar.

4.5.2 Dados Microbiológicos

A contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas avaliadas nas amostras de biofilme subgingival foi analisada pelo teste de Kruskal-Wallis para os implantes com diferentes conexões. A significância estatística foi estabelecida em 5%.

5 RESULTADOS

No total, 30 implantes presentes em 16 indivíduos (4 homens e 12 mulheres) foram incluídos nesse estudo e divididos em três grupos de acordo com o tipo de conexão protética: Grupo A - Hexágono Externo (n=14), Grupo B - Canal Triplo (n=9) e Grupo C - Cone Morse (n=7). Nove participantes apresentavam dois ou mais implantes unitários instalados e em função, sendo que quatro desses indivíduos apresentavam simultaneamente conexões tipo hexágono externo e canal triplo. A idade média dos participantes do estudo foi de $60,3 \pm 12,3$ anos, com a idade mínima observada de 25 anos e a máxima de 75 anos, e o tempo médio de instalação dos implantes foi de $10 \pm 3,57$ anos.

Tabela 3. Relação entre o tipo de conexão protética, o gênero e a localização do implante.

	Total de Implantes	Gênero	Localização do Implante
Hexágono Externo (Grupo A)	14	Feminino: 10 (71,4%) Masculino: 4 (28,6%)	Anterior: 4 (28,6%) Posterior: 10 (71,4%)
Canal Triplo (Grupo B)	9	Feminino: 3 (33,3%) Masculino: 6 (66,6%)	Anterior: 7 (77,7%) Posterior: 2 (22,2%)
Cone Morse (Grupo C)	7	Feminino: 7 (100%) Masculino: 0 (0%)	Anterior: 1 (14,3%) Posterior: 6 (85,7%)

Autoria própria.

A Tabela 3 apresenta a relação entre o tipo de conexão protética, o gênero e a localização do implante. No total, 20 dos trinta implantes (66,6%) estavam presentes em indivíduos do gênero feminino, além disso 18 (60%) dos trinta implantes estavam instalados em região posterior. Nos Grupos A (Hexágono Externo) e C (Cone Morse) os implantes estavam presentes em maior percentual em indivíduos do gênero feminino, 71,4% e 100% respectivamente, diferente do Grupo B (Canal Triplo) em que 66,6% dos implantes encontravam-se instalados em indivíduos do gênero

masculino. Ao avaliar a localização, os implantes dos Grupos A e C estavam presentes em maior percentual em região posterior, 71,4% e 85,7% respectivamente, diferente do Grupo B presente em maior percentual, 77,7%, em região anterior. A análise dos dados obtidos na avaliação clínica dos 30 implantes (Apêndice C), de acordo com o grupo, está presente na Tabela 4.

Tabela 4. Dados Clínicos da Amostra.

		Conexão			Valor <i>p</i>
		Hexágono Externo (Grupo A) N=14	Canal Triplo (Grupo B) N=9	Cone Morse (Grupo C) N=7	
Índice de Placa Visível	(Presença/Ausência)	10 (71,4%)	6 (66,6%)	3 (42,8%)	0.548*
Índice de Sangramento Gengival Marginal	(Presença/Ausência)	6 (42,8%)	2 (22,2%)	4 (57,1%)	0.353*
Profundidade de Sondagem Peri-implantar (mm)		3,57±2,59	4,78±1,2	3,57±1,72	0.442**
Sangramento à Sondagem Peri-implantar	(Presença/Ausência)	9 (64,2%)	7 (77,7%)	6 (85,7%)	0.660*
Supuração	(Presença/Ausência)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-

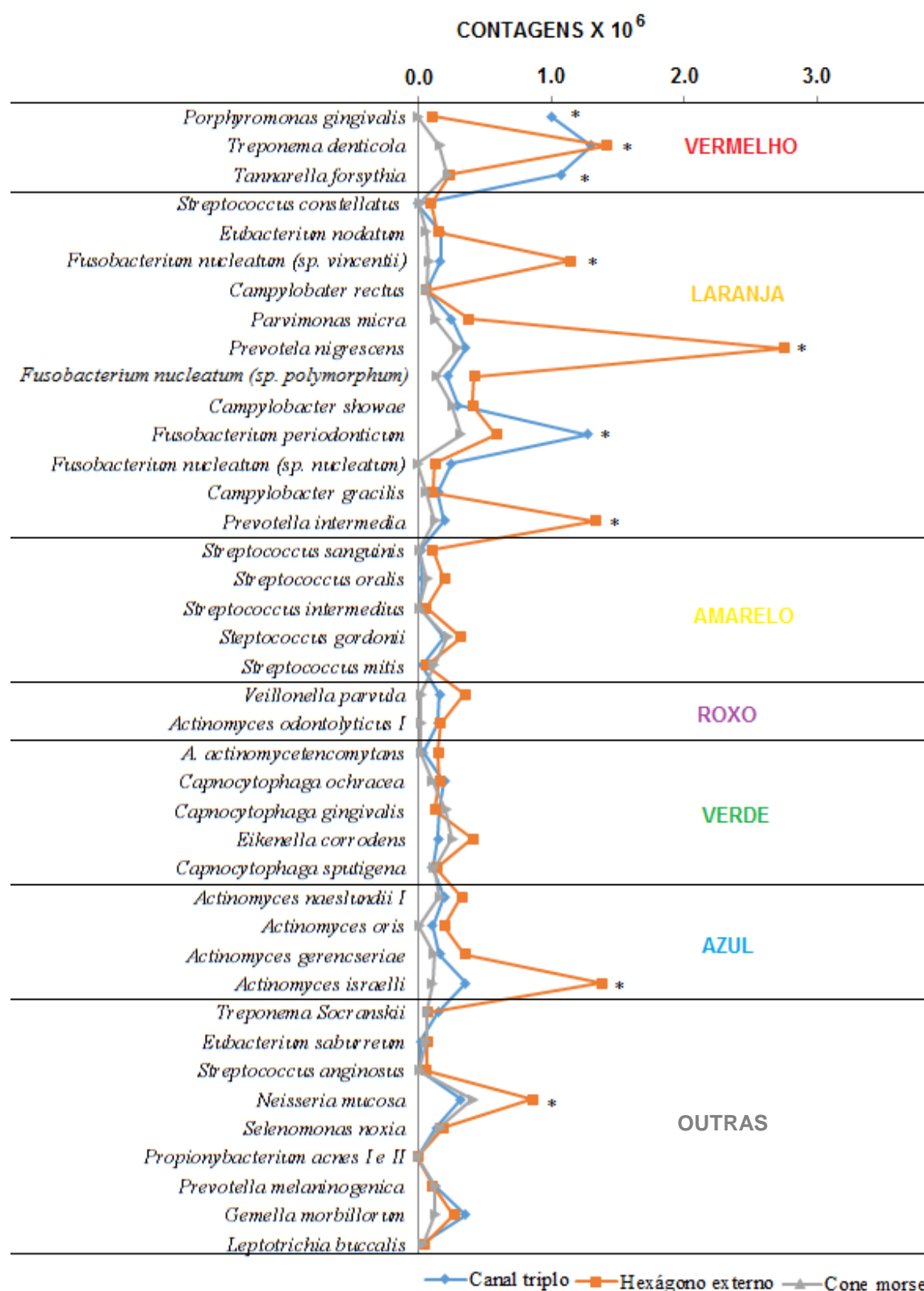
*. Teste Exato de Fisher; **. Teste de Kruskal-Wallis

(-) Estatística não computada porque não houve casos

A média da profundidade de sondagem peri-implantar do Grupo A foi $3,57 \pm 2,59$ mm, do Grupo B $4,78 \pm 1,2$ mm e do Grupo C $3,57 \pm 1,72$ mm, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$). O parâmetro clínico sangramento à sondagem peri-implantar apresentou elevado percentual em todos os tipos de conexões, com destaque para a conexão tipo Cone Morse que apresentou 85,7% dos implantes com pelo menos um sítio com sangramento a sondagem. Todos os tipos de conexões apresentaram elevado percentual para a variável índice de placa ($p > 0,05$) e o parâmetro clínico supuração não foi observado em nenhum implante dos grupos A, B e C.

Em relação à avaliação microbiológica, a Figura 1 contém a contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas analisadas nas amostras de biofilme subgengival. As bactérias *Treponema denticola* (1.4×10^6) do complexo vermelho e *Fusobacterium nucleatum* (sp. *vincentii*) (1.2×10^6), *Prevotella nigrescens* (2.8×10^6), *Prevotella intermédia* (1.3×10^6) do complexo laranja estão presentes em níveis elevados no grupo A ($p < 0.05$). Duas das três espécies bacterianas do complexo vermelho: *Porphyromonas gingivalis* (1.0×10^6) e *Tannerella forsythia* (1.1×10^6) estão presentes em níveis elevados no grupo B, assim como a espécie *Fusobacterium periodonticum* (1.3×10^6) que pertence ao complexo laranja ($p < 0.05$). O grupo C apresentou baixa contagem de bactérias patogênicas (complexo vermelho e laranja) quando comparada aos demais grupos, sendo essa diferença estatisticamente significativa.

Figura 1: Contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival peri-implantar dos implantes.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 5. Contagem (x10⁶) de bactérias referente a cada grupo.

	Hexágono externo	Canal triplo	Cone morse	Valor p*
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.11	1.00	0.00	0.002
<i>Treponema denticola</i>	1.42	1.30	0.16	0.035
<i>Tannarella forsythia</i>	0.24	1.07	0.22	0.027
<i>Streptococcus constellatus</i>	0.10	0.00	0.01	0.333
<i>Eubacterium nodatum</i>	0.15	0.17	0.06	0.450
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. vincentii)</i>	1.15	0.17	0.08	0.035
<i>Campylobacter rectus</i>	0.06	0.06	0.06	0.999
<i>Parvimonas micra</i>	0.38	0.25	0.13	0.217
<i>Prevotella nigrescens</i>	2.75	0.36	0.30	< 0.001
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. polymorphum)</i>	0.42	0.22	0.14	0.258
<i>Campylobacter showae</i>	0.41	0.30	0.26	0.227
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	0.59	1.27	0.32	0.035
<i>Fusobacterium nucleatum (sp. nucleatum)</i>	0.13	0.25	0.00	0.119
<i>Campylobacter gracilis</i>	0.11	0.15	0.06	0.679
<i>Prevotella intermedia</i>	1.33	0.20	0.13	0.043
<i>Streptococcus sanguinis</i>	0.11	0.02	0.01	0.600
<i>Streptococcus oralis</i>	0.20	0.03	0.07	0.148
<i>Streptococcus intermedius</i>	0.06	0.02	0.01	0.999
<i>Streptococcus gordonii</i>	0.32	0.20	0.22	0.872
<i>Streptococcus mitis</i>	0.06	0.03	0.12	0.500
<i>Veillonella parvula</i>	0.35	0.16	0.02	0.787
<i>Actinomyces odontolyticus I</i>	0.17	0.15	0.02	0.260
<i>A. actinomycetencomytans</i>	0.15	0.04	0.02	0.260
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	0.16	0.20	0.11	0.709
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	0.13	0.16	0.21	0.500
<i>Eikenella corrodens</i>	0.41	0.15	0.26	0.999
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	0.14	0.11	0.12	0.790
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	0.33	0.20	0.16	0.834
<i>Actinomyces oris</i>	0.20	0.11	0.01	0.400
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	0.35	0.16	0.12	0.109
<i>Actinomyces israeli</i>	1.38	0.36	0.11	0.001
<i>Treponema Socranskii</i>	0.07	0.15	0.07	0.357
<i>Eubacterium saburreum</i>	0.07	0.02	0.06	0.999
<i>Streptococcus anginosus</i>	0.06	0.02	0.01	0.999
<i>Neisseria mucosa</i>	0.86	0.32	0.41	0.047
<i>Selenomonas noxia</i>	0.19	0.14	0.16	0.458
<i>Propionibacterium acnes I e II</i>	0.00	0.00	0.00	0.999
<i>Prevotella melaninogenica</i>	0.11	0.13	0.13	0.999
<i>Gemella morbillorum</i>	0.27	0.36	0.13	0.215
<i>Leptotrichia buccalis</i>	0.05	0.03	0.04	0.125

Fonte: Clínica Privada – Vitória/ES

*. Teste de Kruskal Wallis

6 DISCUSSÃO

O sucesso dos implantes osseointegrados ampliou as suas indicações, na Odontologia, não apenas no desdentado total, assim como no desdentado parcial, tornando necessário o desenvolvimento de novos sistemas que pudessem suprir as limitações estéticas, mecânicas e biológicas (GARCÍA-BELLOSTA et al., 2010; MICHALAKIS et al., 2014).

Os sistemas de implantes diferem, entre outros, pelas características da interface implante/intermediário protético, com diferenças particulares entre as conexões cônicas e não cônicas (internas e externas), destacando-se a formação de um microgap na interface implante/intermediário, assim como a estabilidade mecânica dos diferentes sistemas (SCHMITT et al., 2014; MICHALAKIS et al., 2014), condições que podem influenciar os parâmetros clínicos, radiográficos e microbiológicos.

Neste estudo, a média da profundidade de sondagem peri-implantar do Grupo A (Hexágono Externo) foi $3,57 \pm 2,59$ mm; do Grupo B (Canal Triplo) $4,78 \pm 1,2$ mm e do Grupo C (Cone Morse) $3,57 \pm 1,72$ mm, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Apesar da profundidade de sondagem ser um excelente parâmetro para avaliar a saúde periodontal dos dentes naturais (MISCH et al., 2008), apresenta um menor valor diagnóstico em implantes, devendo estar associada a outros parâmetros, como o sangramento à sondagem (COLI et al., 2017). Essa condição decorre da diferença na disposição das fibras periodontais e das fibras peri-implantares (BELIBASAKIS, 2014), do nível ósseo de instalação do implante, bem como do tipo e comprimento do intermediário protético utilizado (BOYNUEGRI et al., 2012).

O índice de placa visível apresentou elevado percentual para todos os tipos de conexões, com destaque ao Grupo A, podendo indivíduos que perderam elementos dentários apresentarem uma maior negligência as medidas de higiene bucal, favorecendo o desenvolvimento de doenças inflamatórias peri-implantares (MARRONE et al., 2013). Alécio et al. (2014) destacaram relação direta entre a

presença de placa bacteriana e o desenvolvimento de mucosite, não sendo observado relevância estatística em relação à peri-implantite. Konstantinidis et al. (2015) observaram associação estatisticamente significativa entre um alto índice de placa e a presença de mucosite, sendo essa associação dose dependente. Já Canullo et al. (2016) associaram o inadequado controle de placa e o sangramento à sondagem, em pacientes com implantes dentários, a uma maior prevalência de peri-implantite.

Heitz-Mayfield & Lang (2010) destacam que embora a resposta inicial do hospedeiro ao desafio bacteriano observado na mucosite seja semelhante ao encontrado na gengivite, o acúmulo persistente da placa bacteriana pode gerar uma resposta inflamatória mais pronunciada na mucosa peri-implantar quando comparado aos elementos dentários. Casado et al. (2011) destacam que a mucosa peri-implantar pode ser mais sensível às forças de sondagem quando comparada a mucosa em torno dos dentes, favorecendo o sangramento à sondagem.

O sangramento à sondagem consiste em um importante parâmetro clínico no diagnóstico da saúde/doença peri-implantar (JEPSEN et al., 2015). Farina et al. (2017) associaram a maior probabilidade de sangramento à sondagem nos sítios peri-implantares com uma maior profundidade de sondagem, sendo o sangramento à sondagem observado em 27% dos sítios com profundidade de sondagem igual a 4 mm, enquanto sítios com 5 e 6 mm apresentaram 37% e 48% respectivamente. Os autores destacam que 85,7% dos implantes apresentaram pelo menos um sítio com sangramento à sondagem, resultado semelhante ao observado nesse estudo, no qual os grupos A, B e C apresentaram respectivamente 77,7%, 64,2% e 85,7% dos implantes com pelo menos um sítio com sangramento. Tenenbaum et al. (2017) observaram sangramento à sondagem em 60,2% dos implantes e 73% dos pacientes.

A maior prevalência de doenças peri-implantares, identificadas através da presença de sangramento à sondagem, com ou sem perda óssea, também tem sido associada ao gênero feminino (FERREIRA et al., 2015; FARINA et al., 2017), condição que pode ser influenciada por fatores hormonais (FARINA; TOMASI; TROMBELLI, 2013). No presente estudo 66,6% (n=20) dos implantes que compuseram a amostra estavam instalados em mulheres. Farina et al. (2017)

destacaram ainda uma maior probabilidade de sangramento à sondagem para implantes localizados em região anterior. Essa condição se apresenta contrária ao observado em dentes naturais em que a probabilidade de sangramento a sondagem é maior nos sítios localizados em região posterior (FARINA et al., 2013). No entanto, em estudo recente realizado por Abduljabbar et al. (2017) a localização do implante, não foi associada a maior probabilidade de sangramento à sondagem. No presente estudo 60% (n=18) dos implantes que compuseram a amostra estavam instalados em região posterior.

O parâmetro clínico sangramento à sondagem peri-implantar está presente em maior porcentagem nas conexões tipo Cone Morse (85,7%), no entanto, em virtude da maior estabilidade mecânica e a menor infiltração na interface implante/intermediário das conexões cônicas (MAEDA; SATOH; SOGO, 2006; TESMER et al. 2009; PIMENTEL et a., 2010; DO NASCIMENTO et al., 2012; SCHMITT et al., 2014; KOUTOUZIS et al., 2014) era esperado melhor resultado para o grupo C, em relação aos grupos A e B, condição que pode ter sido favorecida em virtude a 100% da amostra do Grupo C estar presente em mulheres.

Muitos estudos têm demonstrado a ocorrência de infiltração bacteriana através da interface implante/intermediário nos diferentes sistemas de implantes (COVANI et al., 2006; DO NASCIMENTO et al., 2012; KOUTOUZIS et al., 2016), sendo o biofilme formado na superfície do implante, principalmente na região do microgap, de difícil controle e relacionado diretamente ao desenvolvimento da peri-implantite (ZITZMANN et al., 2002).

Todos os tipos de conexões estão sujeitas a infiltração bacteriana, não sendo nenhum sistema de implante, de dois passos, capaz de fornecer o vedamento completo da interface implante/intermediário protético (DO NASCIMENTO et al., 2012; SCHMITT et al., 2014; TALLARICO et al., 2017). No entanto, muitos estudos, concluem que a conexão cônica, em virtude da menor largura do microgap, apresenta uma menor infiltração bacteriana na interface implante/intermediário (DO NASCIMENTO et al., 2012; SCHMITT et al., 2014; TALLARICO et al., 2017).

A microbiota associada a saúde peri-implantar caracteriza-se pela presença de cocos gram positivos anaeróbios facultativos e bastonetes (FURST et al., 2007), no

entanto, bastonetes gram negativos anaeróbios podem ser encontrados, em condições de saúde em alguns implantes, em pequenos números e baixas proporções (HEITZ-MAYFIELD & LANG, 2010). A mucosite está associada ao aumento de cocos, bacilos móveis e espiroquetas. Na presença de peri-implantite a microbiota caracteriza-se por elevadas contagens e proporções de bactérias anaeróbicas gram negativas, com destaque as bactérias associadas a patogênese da doença periodontal, complexo vermelho e laranja, conforme descrito por Socransky et al. (1998). A presença de *A. actinomycetemcomitans* também foi observada em sítios com peri-implantite em diversos estudos (TABANELLA; NOWZARI; SLOTS, 2009; MOMBELLI; DÉCAILLET, 2011; PREETHANATH et al., 2017).

A microbiota peri-implantar pode ser influenciada pelas características dos diferentes sistemas de implantes (PAPASPYRIDAKOS et al. 2012), não sendo, no entanto, diversos estudos capazes de correlacionar a presença de microrganismos específicos com os diferentes tipos de conexões (RENVERT et al., 2008; TABANELLA; NOWZARI; SLOTS, 2009).

No presente estudo a conexão tipo Cone Morse apresentou baixa contagem de bactérias periodontopatogênicas quando comparada aos demais grupos, o que está em concordância ao descrito por Canullo et al. (2015) que observaram contagem bacteriana total significativamente menor no biofilme subgingival peri-implantar nas conexões interna e cônica, podendo esse resultado estar relacionado a menor microinfiltração bacteriana na interface implante/intermediário protético da conexão tipo Cone Morse, em condições de carregamento e não carregamento (TESMER et al., 2009; DO NASCIMENTO et al., 2012; KOUTOUZIS et al., 2014).

A maior contagem de bactérias, principalmente do complexo vermelho e laranja, nas conexões tipo Hexágono Externo (*T. denticola*, *F. nucleatum sp. vincentii*, *P. nigrescens*, *P. intermédia*) e Canal Triplo (*P. gingivalis*, *T. forsythia* e *F. periodonticum*) pode estar relacionada a maior largura do microgap (TSUGE et al. 2008; DO NASCIMENTO et al., 2011; DO NASCIMENTO et al., 2012). Essas bactérias apresentam grande potencial patogênico (SOCRANSKY et al., 2005) e tem sido relacionadas com formas destrutivas da doença periodontal e peri-implantar (SHIBLI et al., 2008).

Em meta-análise recente realizada por Tallarico et al. (2017) os autores destacaram que contagens bacterianas significativamente maiores para bactérias periodontopatogênicas foram observadas na interface implante/intermediário de pacientes com peri-implantite, no entanto, essa correlação não foi analisada neste estudo.

A inter-relação entre a doença periodontal e a doença peri-implantar é comprovada cientificamente, podendo um elemento dentário com comprometimento periodontal atuar como reservatório para transmissão de periodontopatógenos aos sítios peri-implantares (SUMIDA et al., 2002; AGERBAEK et al., 2006, DALAGO et al., 2017). Essa condição é observada principalmente em sulcos periodontais com profundidade de sondagem maior que cinco milímetros (MOMBELLI et al., 1995). Desta forma, neste estudo, indivíduos com doença periodontal crônica moderada e severa, e com doença periodontal agressiva, foram excluídos da pesquisa. A inclusão de pacientes reabilitados por uma equipe e não por um único profissional, se apresenta como uma limitação desse estudo, podendo haver variações como o posicionamento do implante.

No presente estudo, todos os implantes avaliados apresentaram prótese instalada e em função por um período mínimo de cinco anos, período sugerido por outros autores (ROSENBERG et al., 2004; ZANGRADO et al., 2015; SGOLASTRA et al., 2015), permitindo que as alterações observadas sejam consequências da interação entre a microbiota e a resposta imune-inflamatória do hospedeiro.

7 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados do presente estudo, conclui-se que:

- a) No presente estudo, os parâmetros clínicos peri-implantares não variaram de acordo com o tipo de conexão protética, sendo que todos os tipos de conexões apresentaram elevado percentual para as variáveis índice de placa visível e sangramento à sondagem.
- b) A colonização bacteriana do biofilme subgengival foi influenciada pelo tipo de conexão protética, sendo a maior contagem de bactérias periodontopatogênicas (complexo vermelho e laranja) observada nas conexões tipo Hexágono Externo e Canal Triplo. A conexão tipo Cone Morse apresentou baixa contagem de bactérias periodontopatogênicas.

REFERÊNCIAS

- ABDULJABBAR, T. et al. Influence of implant location in patients with and without type 2 diabetes mellitus: 2-year follow-up. **Int J Oral Maxillofacial Implants**, Lombard, v. 46, n. 9, p. 1188-1192, 2017.
- AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **Int Dent J**, London, v. 25, n. 4, p. 229-235, 1975.
- AGERBAEK, M. R.; LANG, N. P.; PERSSON, G. R. Comparison of bacterial patterns presence at implant and tooth sites in subjects on supportive periodontal therapy. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 17, p. 18-24, 2006.
- ALÉCIO, H. et al. Relationship between modified plaque index and the prevalence of peri-implants diseases around osseointegrated implants. **Full Dent. Sci**, São José dos Pinhais, v. 5, n. 8, p. 264-268, 2014.
- BAUMANN, G. et al. Plaque-induced inflammation around implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 7, n. 3, p. 330-337, 1992.
- BAUMGARTEN, H. et al. A new implant design for crestal bone preservation: initial observations and case report. **Pract Proced Aesthet Dent**, Mahwah, v.17, n.10, p.735-49, 2005.
- BELIBASAKIS, G. N. Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 59, n. 1, p. 66–72, 2014.
- BERGLUNDH, T.; PERSSON, L.; KLINGE, B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.29, n.3, p.197–212, 2002.
- BINON, P. Implants and Components: Entering de New Millennium. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v.15, n.1, p.76-94, 2000.
- BOYNUEGRI, A. et al. Effect of different localizations of microgap on clinical parameters and inflammatory cytokines in peri-implant crevicular fluid: a prospective comparative study. **Clin Oral Invest**, Berlin, v. 16, n. 2, p. 353-361, 2012.
- BRÄGGER, U. et al. Biological and technical complications and failures with fixed parcial dentures (FPD) on implants and teeth after four to five years of function. **Clin Oral Implant Res**, Copenhagen, v.12, n.1, p.26-34, 2001.
- BROGGINI, N. et al. Persistent Acute Inflammation at the Implant-Abutment Interface. **J Dent Res**, Washington, v. 82, n. 3, p. 232-237, 2003.
- CALLAN, D.; COBB, C.; WILLIAMS, K. DNA Probe Identification of Bacteria Colonizing Internal Surfaces of the Implant-Abutment Interface: A Preliminary Study. **J Periodontol**, Chicago, v.76, n.1, p. 115-120, 2005.

- CANULLO, L. et al. Clinical and microbiological findings in patients with peri-implantitis: a cross-sectional study. **Clin Oral Implant Res**, Copenhagen, v. 27, n. 3, p. 386-392, 2016.
- CANULLO, L. et al. Microbiological assessment of the implant-abutment interface in different connections: cross-sectional study after 5 years of functional loading. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 26, n.4, p.426–434, 2015.
- CASADO, P. et al. Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Implant Dentistry*, Baltimore, v. 20, n. 3, p. 226-35, 2011.
- COLI, P. et al. Reliability of periodontal diagnostic tools for monitoring peri-implant health and disease. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 73, n. 1, p. 203–217, 2017.
- CONOVER, W. Practical Nonparametric Statistics. Third edition. **John Wiley & Sons**, New York, p. 493, 1999.
- COVANI, U. et al. Bacterial plaque colonization around dental implant surfaces. **Implant Dent**, Baltimore, v.15, n.3, p. 298-304, 2006.
- CRESPI, R.; CAPPARÈ, P.; GHERLONE, E. Radiographic Evaluation of Marginal Bone Levels Around Platform-Switched and Non–Platform-Switched Implants Used in an Immediate Loading Protocol. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 24, n.5, p. 920-926, 2009.
- DALAGO, H. et al. Risk indicators for peri-implantitis. A cross-sectional study with 916 implants. **Clinical Oral Implants Research**, Copenhagen, v. 28, n. 2, p. 144-7, 2017.
- DIAS, E. et al. Infiltração bacteriana na interface implante-pilar protético: considerações na literatura atual. **Rev Bras Implant**, Curitiba, v.12, n.1, p. 12-15, 2006.
- DIBART, S. et al. In Vitro Evaluation of the Implant-Abutment Bacterial Seal: The Locking Taper System. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v.20, n.5, p. 732-737, 2005.
- DO NASCIMENTO, C. et al. In vitro evaluation of bacterial leakage long the implant-abutment interface of an external-hex implant after saliva incubation. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 26, n.4, p. 1168-1172, 2011.
- DO NASCIMENTO, C. et al. Leakage of Saliva Trough the Implant-Abutment Interface: In vitro Evaluation of Three Different Implant Connections Under Unloaded and Loaded Conditions. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 27, n.3, p. 551-60, 2012.
- ENKLING, N. et al. Effect of platform switching on peri-implant bone levels: a randomized clinical trial. **Clin Oral Implant Res**, Copenhagen, v.22, n.10, p. 1185-1192, 2011.

- FARINA, R. et al. Bleeding on probing around dental implants: a retrospective study of associated factors. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 44, n. 1, p. 115-122, 2017.
- FARINA, R.; TOMASI, C.; TROMBELLI, L. The bleeding site: a multi-level analysis of associated factors. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 40, n. 8, p. 735-42, 2013
- FEINBERG, A.; VOGELSTEIN, B.; Technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. **Anal Biochem**, New York, v. 132, n. 1, p. 6-13, 1983.
- FERREIRA, C. et al. Prevalence of peri-implant diseases: analyses of associated factors. **Eur J Prosthodont Restor Dent** , England, v. 23, n. 4, p. 199–206, 2015.
- FURST, M. et al. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. **Clin Oral Implants Res**, Copenhagen, v. 18, n. 4, p. 501–508, 2007.
- GARCÍA-BELLOSTA, S. et al. Retrospective study of the long-term survival of 980 implants placed in a periodontal practice. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 25, n. 3, p. 613–619, 2010.
- HAFFAJEE, A.; SOCRANSKY, S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 5, n.1, p.78-111, jun., 1994.
- HAFFAJEE, A. et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v, 24, n. 5, p. 324-34, 1997.
- HEITZ-MAYFIELD, L.; LANG, N. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 53, n. 1, p. 167-181, 2010.
- HERMANN, J. et al. Influence of the Size of the Microgap on Crestal Bone Changes Around Titanium Implants. A Histometric Evaluation of Unloaded Non-Submerged Implants in the Canine Mandible. **J Periodontol**, Chicago, v. 71, n.10, p. 1372-1383, 2001.
- HOLM-PEDERSEN, P.; LANG, N.; MULLER, F. What are the longevities of teeth and oral implants? **Clin Oral Implant Res**, Copenhagen, v. 18, n. 3, p. 15-19, 2007.
- JENSEN, V.; CONRADS, G.; RICHTER, E. Microbial leakage and marginal fit of the implant abutment interface. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v.12, n.4, p. 527-50, 1997.
- JEPSEN, S. et al. Primary prevention of periimplantitis: managing peri-implant mucositis. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 42, n. 16, p. 152– 157, 2015.
- KONSTANTINIDIS, I. et al. Cross-sectional study on the prevalence and risk indicators of peri-implant disease. **Eur J Oral Implantol**, Berlin, v. 8, n. 1, p. 75-88, 2015.

KOO, K. et al. The Effect of Internal Versus External Abutment Connection Modes on Crestal Bone Changes Around Dental Implants: A Radiographic Analysis. **J Periodontol**, Chicago, v. 83, n. 9, p. 1104-1109, 2012.

KOUTOUZIS, T. et al. The Effect of Dynamic Loading on Bacterial Colonization of the Dental Implant Fixture-Abutment Interface: An In Vitro Study. **J Oral Implantol**, Abingdon, v.40, n.4, p. 432-7, 2014.

KOUTOUZIS, T.; GADALLA, H. LUNDGREN, T. Bacterial Colonization of the Implant-Abutment Interface (IAI) of Dental Implants with a Sloped Marginal Design: An in vitro study. **Clin Implant Dent Relat Res**, Copenhagen, v. 18, n. 1, p. 161-67, 2016.

LAZZARA, R.; PORTER, S. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. **Int J Periodontics Restorative Dent**, Chicago, v. 26, n. 1, p. 9-17, 2006.

MAEDA, Y.; SATOH, T.; SOGO, M. In vitro differences of stress concentrations for internal and external hex implant-abutment connections: a short communication. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 33, n.1, p. 75-8, 2006.

MARRONE, A. et al. Prevalence and risk factors for peri-implant disease in Belgian adults. **Clin Oral Implant Res**, Copenhagen, v. 24, n. 8, p. 934-940, 2013.

MICHALAKIS, K. et al. The effect of different Implant-Abutment Connections on Screw Joint Stability. **J Oral Implantol**, Abingdon, v.40, n.2, p.146-52, 2014.

MISCH, C. et al. Implant success, survival, and failure: the International Congress of Oral Implantologists (ICOI) Pisa Consensus Conference. **Implant Dent**, Baltimore, v. 17, n. 1, p. 5–15, 2008.

MOMBELLI, A.; DECAILLET, F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 38, n. 11, p. 203-13, 2011.

MOMBELLI, A. et al. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 22, n. 2, p. 124-130, 1995.

MOMBELLI, A.; LANG, N. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 17, n. 1, p. 63–76, 1998.

PAPASPYRIDAKOS, P. et al. Success Criteria in Implant Dentistry: A Systematic Review. **J Dent Res**, Washington, v. 91, n. 3, p. 242–248, 2012.

PIERI, F. et al. Influence of Implant-Abutment Interface Design on Bone and Soft Tissue Levels Around Immediately Placed and Restored Single-Tooth Implants: A Randomized Controlled Clinical Trial. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 26, n. 1, p. 169-178, 2011.

PIMENTEL, G. et al. Perda Óssea Peri-implantar e Diferentes Sistemas de Implantes. **Innov Implant J**, São Paulo, v.5, n.2, p. 75-81, 2010.

PREETHANATH, R. et al. Microbiome of dental implants and its clinical aspect. **Microb Pathog**, London, v. 106, p. 20-24, 2017.

RENVERT, S. et al. Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. **Clin Oral Implant Res**, Berlin, Copenhagen, v. 18, n. 4, p. 509–516, 2007.

ROSENBERG, E. S. et al. A comparison of characteristics of implant failure and survival in periodontally compromised and periodontally healthy patients: a clinical report. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 19, n. 6, p. 873–879, 2004a.

SCARANO, A. et al. A 16-year study of the microgap between 272 human titanium implants and their abutments. **J Oral Implantol**, Abingdon, v.31, n.6, p. 269-75, 2005.

SGOLASTRA, F. et al. Periodontitis, implant loss and peri-implantitis. A meta-analysis. **Clin Oral Implant Res**, Berlin, v. 26, n. 4, p. 8-16, 2015.

SHIBLI, J. et al. Composition of supra and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. **Clin Oral Implant Res**, Copenhagen, v.19, n.10, p. 975-982, 2008.

SHMITT, C. et al. Performance of conical abutment (Morse Taper) connection implants: A systematic review. **J Biomed Mater Res**, Hoboken, v. 102a, n. 2, p. 552-74, 2014.

SOCRANSKY, S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.25, n.2, p.134-44, 1998

SOCRANSKY, S. et al. Periodontal microbial ecology. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 28, n. 1, p. 135-187, 2005

SOCRANSKY, S. et al. "Checkerboard" DNA–DNA hybridization. **Biotechniques**, London, v.17, n. 4, p.788-92, 1994.

SGOLASTRA, F. et al. Periodontitis, implant loss and peri-implantitis: A meta-analysis. **Clin Oral Impl Res**, v. 26, n. 4, p. 8–16, 2015.

STEINEBRUNNER, L. et al. Implant-abutment interface design affects fatigue and fracture strength of implants. **Clin Oral Impl Res**, Copenhagen, v. 19, n. 12, p. 1276-84, 2008.

STEINEBRUNNER, L. et al. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant abutment interface of different implant systems. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 20, n. 6, p. 875-881, 2005.

STRIETZEL, F.; NEUMANN, K.; HERTEL, M. Impact of platform switching on marginal peri-implant bone-level changes. A systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Impl Res**, Copenhagen, v. 26, n. 3, p. 342-358, 2015.

- SUMIDA, S. et al. Transmission of periodontal disease – associated bacteria from teeth to osseointegrated implant regions. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 17, n. 5, p. 696-702, 2002.
- TABANELLA, G.; NOWZARI, H.; SLOTS, J. Clinical and Microbiological Determinants of Ailing Dental Implants. **Clin Implant Dent Relat Res**, Hamilton, v. 11, n. 1, p. 24-36, 2009.
- TALLARICO, M. et al. Microbial colonization at the implant-abutment interface and its possible influence on periimplantitis: A systematic review and meta-analysis. **J Prosthodont Res**, Amsterdam, v. 61, n. 3, p. 233-41, 2017.
- TEIXERA, W. Avaliação in vitro da infiltração bacteriana na interface implante/componente protético em conexões dos tipos cone morse e hexágono interno. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2009.
- TENENBAUM, H. et al. Long-term prospective cohort study on dental implants: clinical and microbiological parameters. **Clin Oral Impl Res**, Copenhagen, v. 28, n. 1, p. 86-94, 2017.
- TESMER, M. et al. Bacterial Colonization of the Dental Implant Fixture–Abutment Interface: An In Vitro Study. **J Periodontol**, Chicago, v. 80, n. 12, p. 1991-1997, 2009.
- TSUGE, T.; HAGIWARA, H.; MATSUMURA, H. Marginal Fit and Microgaps of Implant-abutment Interface with Internal Anti-rotation Configuration. **Dental Mater J**, Tokyo, v. 27, n. 1, p. 29-34, 2008.
- VIGOLO, P.; GIVANI, A. Platform-Switched Restorations on Wide-Diameter Implants: A 5-year Clinical Prospective Study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v. 24, n. 1, p. 103-109, 2009.
- ZANGRANDO, S. et al. Long-Term Evaluation of Periodontal Parameters and Implant Outcomes in Periodontally Compromised Patients: A Systematic Review. **J Periodontol**, Chicago, v. 86, n. 2, p. 201-221, 2015.
- ZITZMANN, N. et al. Soft tissue reactions to plaque formation at implants abutments with different surface topography: An experimental study in dogs. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 29, n. 5, p. 456-61, 2002.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, fui convidado (a) a participar da pesquisa intitulada **“Análise da condição peri-implantar e da microbiota subgengival de implantes com diferentes conexões: estudo transversal após 5 anos de carga funcional”**, sob responsabilidade da Prof^a Dr^a Selva Maria Gonçalves Guerra, Prof Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa e da Mestranda Bianca Scopel Costa.

JUSTIFICATIVA

Esta pesquisa permitirá a análise e a divulgação de dados sobre as condições clínicas e microbiológicas de regiões peri-implantares com diferentes tipos de conexões protéticas, possibilitando a comparação dos resultados *in vivo*, informações essas cuja literatura tem grande deficiência.

OBJETIVO(S) DA PESQUISA

A pesquisa irá avaliar a presença ou não de inflamação ao redor dos implantes com diferentes tipos de conexões protéticas, permitindo ao pesquisador detectar a existência de diferença entre esses na manutenção de implantes a longo prazo.

PROCEDIMENTOS

Caso aceite o convite, estou ciente de que serei submetido(a) ao(s) seguinte(s) procedimentos: exame clínico peri-implantar e coleta de placa bacteriana subgengival para realização de testes microbiológicos (material biológico armazenado em biorrepositário).

DURAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA

A consulta para avaliação clínica e mensuração dos parâmetros peri-implantares serão realizadas no Ambulatório II de Odontologia e será conduzida durante as atividades clínicas da disciplina de Periodontia II, da graduação. A consulta terá um tempo aproximado de 50 minutos.

RISCOS E DESCONFORTOS

Os riscos envolvidos na participação poderão ser incômodos como sensibilidade ou desconforto durante o exame de sondagem, porém estou ciente de que esse procedimento não gera danos à gengiva ou ao dente/implante.

BENEFÍCIOS

Serei informado sobre a condição em que se encontra o tratamento realizado, assim como a saúde ou doença na gengiva ao redor dos implantes e dos dentes vizinhos.

GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA

Entendo que não sou obrigado (a) a participar da pesquisa, podendo deixar de participar dela em qualquer momento de sua execução, sem que haja penalidades ou prejuízos decorrentes da minha recusa.

Estou ciente que poderei (ou meu representante legal), a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado em banco (placa bacteriana), valendo a desistência a partir da data de formalização desta.

GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

Todas as informações obtidas serão sigilosas e meu 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.

GARANTIA DE RESSARCIMENTO FINANCEIRO E/OU INDENIZAÇÃO

Caso eu tenha algum gasto que seja devido à minha participação na pesquisa, serei ressarcido, caso solicite. Em qualquer momento, se eu sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, terei direito a indenização.

ARMAZENAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

O material biológico coletado em exame clínico (placa bacteriana) será armazenado em freezer do Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Reddins, do Centro de Ciências da Saúde/CCS, da Universidade Federal do Espírito Santo, localizado na Av. Mal. Campos, 1355 - Santos Dumont, Vitória - ES, 29040-091.

MATERIAL BIOLÓGICO - DESTINO

Ao final do período de realização do projeto de pesquisa, o material biológico armazenado no Biorrepositário será descartado ou transferido formalmente para outro Biorrepositário ou Biobanco:

- a) No caso de descarte do material esse será realizado de acordo com as normas vigentes na Universidade Federal do Espírito Santo, onde as amostras serão autoclavadas, descartadas em saco para lixo contaminado, encaminhadas para um abrigo temporário na UFES e recolhido por uma empresa contratada para destino adequado.
- b) No caso de transferência será solicitado ao CEP, pelo pesquisador responsável, a renovação da autorização de armazenamento, acompanhada

de justificativa e relatório das atividades de pesquisa desenvolvidas com o material durante o período;

TRANSFERENCIA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Estou ciente que o material biológico armazenado (placa bacteriana) poderá sofrer transferências entre Biobancos ou Biorrepositórios, da própria ou de outra instituição, sendo essa transferência sempre que possível a mim comunicada. Na impossibilidade de comunicação será apresentada justificativa ao Sistema CEP/CONEP.

PESQUISAS FUTURAS

Estou ciente da possibilidade de utilização futura da amostra armazenada, ressaltando que cada novo estudo estará condicionado a:

- a) Apresentação de novo projeto para ser analisado e aprovado pelo Sistema CEP/CONEP;
- b) Será me requerido um novo consentimento, por meio de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido específico, referente ao novo projeto de pesquisa;

PERDA, DESTRUIÇÃO OU ENCERRAMENTO DO BIORREPOSITÓRIO

Eu, como participante da pesquisa, serei informado (a) sobre a perda ou destruição de minhas amostras biológicas, bem como sobre o encerramento do biorrepositório.

ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou em caso de necessidade de reportar qualquer injúria ou dano relacionado com o estudo, devo contatar as Professoras Dr^a

Selva Maria Gonçalves Guerra e Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa e/ou a mestranda Bianca Scopel Costa nos telefones (27) 99903 0055. Caso não consiga contatar os pesquisadores para relatar algum problema, posso contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFES pelo telefone (27) 3335-7211 ou pelo correio, através do seguinte endereço: Universidade Federal do Espírito Santo, Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe, Prédio da Administração do CCS, CEP 29.040-090, Vitória - ES, Brasil.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o teor do presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, como também, os meus direitos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Declaro também ter recebido uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinada pelos Professores Dr^a. Selva Maria Gonçalves Guerra, Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa e pela Mestranda Bianca Scopel Costa.

Na qualidade de pesquisadores responsáveis pela pesquisa **“Análise da condição peri-implantar e da microbiota subgengival de implantes com diferentes conexões: estudo transversal após 5 anos de carga funcional”**, declaramos ter cumprido as exigências do(s) item(s) IV.3 e IV.4 (se pertinente), da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

Participante da Pesquisa

Bianca Scopel Costa (Mestranda)

Prof^a Dra. Selva Maria Gonçalves Guerra

Prof Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa

Local e Data

APÊNDICE B - INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Título: Análise da condição peri-implantar e da microbiota subgingival de implantes com diferentes conexões: estudo transversal após 5 anos de carga funcional

I) IDENTIFICAÇÃO DO FORMULÁRIO

A) Nome do Examinador	
B) Identificação da Unidade Amostral	
C) Data da Entrevista / Exame	
D) Nome do Participante:	

Meu nome é Bianca Scopel Costa e você foi convidado a participar de uma pesquisa para analisar a condição peri-implantar e comparar a microbiota subgingival de implantes com diferentes conexões. Eu gostaria de alguns minutos de sua atenção.

II) FORMULÁRIO

Implante: _____

E) Sexo: (1) Feminino (2) Masculino	[]
F) Qual a sua idade?	[] anos
G) Anos de estudo completo sem repetição?	[] anos
H) Você é fumante? (1) Sim (2) Não	[]
I) Você é diabético? (1) Sim (2) Não	[]
J) Tempo de Instalação do Implante	[] anos
K) Localização Implante: (1) Anterior (2) Posterior	[]
L) Plataforma Protética: (1) HE (2) CT (3) CM	[]
M) Marca Comercial do Implante: (1) I3 (2) Straumann (3) Nobel	[]
N) Comprimento do Implante: (1) 5-7mm (2) 8-12 mm (3) 13-16mm	[]

O) Índice de Placa Visível: (0) Ausência (1) Presença	[]
P) Índice de Sangramento Gengival Marginal: (0) Ausência (1) Presença	[]
Q) Profundidade de Sondagem :	Mesial [] mm
R) Profundidade de Sondagem	Distal [] mm
S) Profundidade de Sondagem	Vestibular [] mm
T) Profundidade de Sondagem	Palatino/Lingual [] mm
U) Sangramento à Sondagem: (0) Ausência (1) Presença	[]
V) Supuração: (0) Ausência (1) Presença	[]
W) Mobilidade: (0) Ausência (1) Presença	[]
X) Presença de Doença Periodontal: (0) Ausência (1) Presença	[]

APÊNDICE D – ARTIGO EM PORTUGUÊS

ANÁLISE DA CONDIÇÃO PERI-IMPLANTAR E DA MICROBIOTA SUBGENGIVAL DE IMPLANTES COM DIFERENTES CONEXÕES: ESTUDO TRANSVERSAL APÓS 5 ANOS DE CARGA FUNCIONAL

Resumo

Objetivos: Analisar, através de parâmetros clínicos, a condição peri-implantar e comparar a microbiota subgengival ao redor de implantes com diferentes conexões, após pelo menos 5 anos de carga funcional.

Material e Métodos: Um estudo transversal foi realizado envolvendo 30 implantes instalados em 16 indivíduos, periodontalmente saudáveis, divididos em três grupos de acordo com a conexão: Grupo A - Hexágono Externo (n=14), Grupo B - Canal Triplo (n=9) e Grupo C - Cone Morse (n=7). Todos os pacientes foram submetidos à avaliação clínica e a composição da microbiota subgengival foi analisada através da técnica Checkerboard DNA-DNA Hybridization, a partir de amostras do biofilme subgengival. As variáveis de resposta envolveram a porcentagem de implantes positivos para os parâmetros clínicos analisados e a contagem de bactérias. As variáveis clínicas foram analisadas pelo teste Exato de Fisher, exceto a variável profundidade de sondagem que utilizou o teste de Kruskal-Wallis, mesmo teste utilizado para análise da contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme.

Resultados: Os parâmetros clínicos índice de placa e sangramento à sondagem apresentaram elevado percentual para todas as conexões ($p > 0,05$). As bactérias *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum* (sp. *vincentii*), *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermédia* estavam presentes em níveis elevados no Grupo A, enquanto o Grupo B apresentou altos níveis de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Fusobacterium periodonticum* ($p < 0,05$). O Grupo C apresentou baixa contagem de bactérias patogênicas.

Conclusão: O tipo de conexão protética não influenciou os parâmetros clínicos peri-implantares, porém influenciou a colonização bacteriana do biofilme subgengival.

Palavras-chave: implantes dentários, análise microbiológica, peri-implantite

O advento da osseointegração e a sua aplicação clínica na odontologia consistem em uns dos mais significativos avanços no tratamento da perda de dentes, apresentando os implantes osseointegrados resultados previsíveis e estáveis ao longo do tempo, com índices de sucesso elevados (Berglundh et al. 2002), podendo a taxa de sobrevivência após 10 anos variar de 82% a 94% (Holm-Pedersen et al. 2007).

A maioria dos sistemas de implantes é composta por duas partes principais, uma intra-óssea e outra uma conexão transmucosa, o intermediário protético, sendo o implante e o intermediário unidos de forma mecânica (Broggini et al. 2003). A união entre o implante e o intermediário protético pode ocorrer através de diferentes tipos de conexões, envolvendo conexões cônicas e não cônicas, sendo em ambos os casos observada a formação de um espaço entre as duas peças, microgap, o qual está sujeito à infiltração bacteriana (Do Nascimento et al. 2012; Canullo et al. 2015).

A infiltração bacteriana através da interface implante/intermediário nos diferentes sistemas de implantes tem sido demonstrada em diversos estudos (Covani et al. 2006; Tesmer et al. 2009; Do Nascimento et al. 2011; Do Nascimento et al. 2012; Koutouzis et al. 2016), atuando o microgap como um reservatório de microrganismos (Hermann et al. 2000). Essas bactérias estão associadas à patologia da doença peri-implantar, podendo levar a alterações nos parâmetros de normalidade clínica e microbiológica dos tecidos peri-implantares e atuar de forma negativa na manutenção e sucesso dos implantes em longo prazo (Brägger et al. 2001).

A maior chance de ocorrer uma inflamação peri-implantar depende, entre outros fatores, do grau de desajuste na interface implante/intermediário. Quanto maior o desajuste, maior a largura do microgap e conseqüentemente maior a quantidade de microrganismos que poderão se alojar ao mesmo (Teixeira, 2011).

Schmitt et al. (2014) destacaram que as conexões cônicas apresentam menor infiltração bacteriana, maior estabilidade mecânica e maior capacidade de manutenção do torque. Canullo et al. (2015) avaliaram a presença de microrganismos no biofilme subgingival peri-implantar, no biofilme subgingival dos dentes vizinhos e na conexão implante/prótese de implantes saudáveis e observaram que todas as conexões analisadas apresentavam infiltração bacteriana, no entanto, o tipo de conexão influenciou os níveis de atividade bacteriana qualitativa e quantitativamente.

O objetivo do presente estudo foi analisar, em indivíduos com saúde periodontal, através de parâmetros clínicos, a condição peri-implantar e comparar a microbiota subgingival de implantes com três diferentes tipos de conexões, após pelo menos 5 anos de carga funcional.

Material e Métodos

Um estudo transversal foi realizado de acordo com os princípios descritos na Declaração de Helsinki. A seleção da amostra foi realizada com base na avaliação de prontuários de indivíduos previamente reabilitados com implantes osseointegrados, em uma clínica privada de Vitória/ES (Brasil), no período de 1994 a 2009.

Esse estudo foi realizado após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) sob o número 1.358.225. Todos os participantes receberam orientação quanto aos objetivos da pesquisa, assim como seus riscos e benefícios. A participação foi voluntária e os indivíduos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

No total, 16 indivíduos que apresentavam documentação completa e reabilitados por uma mesma equipe, com implantes osseointegrados unitários, seguindo o mesmo protocolo clínico de atendimento, estando a prótese instalada e funcional por um período mínimo de cinco anos, com ausência de doença periodontal e submetidos a consultas regulares de controle foram incluídos nessa pesquisa.

Os trinta implantes foram divididos em três grupos de acordo com o tipo de conexão protética: Hexágono Externo (Grupo A; OSSEOTITE IMPLANT SYSTEM, 3I, Palm Spring, CA, EUA e BRANEMARK IMPLANT SYSTEM MKIII, Nobel Biocare AB, Göteborg, Sweden), Canal Triplo (Grupo B; REPLACE SELECT, Nobel Biocare AB, Göteborg, Sweden) e Cone Morse (Grupo C; Straumann[®], Basel, Switzerland).

Critérios de Exclusão

Excluiu-se do estudo indivíduos que tivessem feito uso de antibióticos e/ou anti-inflamatórios nos 3 meses que antecederam a pesquisa, ou qualquer outro medicamento que possa alterar o metabolismo ósseo, ou ainda aqueles que tivessem sido submetidos à quimioterapia e/ou radioterapia de cabeça e pescoço nos últimos cinco anos, os fumantes, os diabéticos ou os que apresentassem doença indicadora de risco para a doença periodontal, grávidas, lactantes e finalmente os que não assinaram o TCLE. Os indivíduos foram excluídos ainda quando diagnosticados com doença periodontal crônica de moderada a severa (supuração em algum dente, sangramento à sondagem em mais de 30% dos sítios subgingivais ou que apresentassem dente com profundidade de sondagem maior que 5mm), diagnosticados com doença periodontal agressiva (índice de placa desproporcional à acentuada perda de inserção interproximal atingindo principalmente primeiros molares e incisivos permanentes), que apresentaram ao exame clínico coroas protéticas fraturadas e/ou com mobilidade, mobilidade do implante, assim como ausência de contato oclusal e/ou interproximal na coroa protética do implante (Shibli et al. 2008; Canullo et al. 2015).

Todos os indivíduos foram submetidos à avaliação clínica e coleta de amostras de biofilme subgingival, de acordo com o protocolo especificado nas duas sessões seguintes.

Avaliação Clínica

Os parâmetros clínicos, como presença (1) ou ausência (0) de placa, sangramento gengival, sangramento à sondagem, supuração e medida da profundidade de sondagem (mm) foram analisadas em quatro faces por implante (mesial, distal,

vestibular e lingual/palatal), utilizando sonda periodontal milimetrada Carolina do Norte (PCPNU-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA), por um único examinador calibrado, cego para o tipo de conexão protética, assim como para o objetivo do estudo e não envolvido na fase cirúrgica e/ou protética da reabilitação. A calibração intra-examinador foi realizada assim como disposto por Conover et al. (1999), obtendo um grau de concordância muito bom (Kappa= 0.835).

Avaliação Microbiológica das Amostras Peri-implantares

Seleção do Sítio de Coleta

O sítio peri-implantar de maior profundidade de sondagem foi selecionado para a realização da coleta de biofilme subgengival. Caso dois ou mais sítios apresentassem a mesma profundidade de sondagem, o sítio localizado mais anteriormente era selecionado.

Coletas das Amostras

Após remoção da placa supragengival, os implantes foram isolados com rolos de algodão e as superfícies secas com jato de ar. A coleta de amostras do biofilme subgengival foi realizada com auxílio de uma cureta Gracey do tipo mini-five (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA), posicionada na porção mais apical do sulco/bolsa peri-implantar, em movimento único de raspagem no sentido ápico-coronal. As amostras foram imediatamente transferidas para tubos plásticos do tipo Eppendorf de 1,5ml contendo 150 µl de solução de TE (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7,6). A cada tubo contendo a amostra do biofilme subgengival, foi adicionado 100µl de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5M. Posteriormente, os tubos foram armazenados em freezer a - 80°C, até serem analisados por meio da técnica do Checkerboard DNA-DNA Hybridization para as 40 cepas bacterianas, descritas na Tabela 1.

Processamento e Análise da Amostra

O processamento e a análise das amostras foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Odontologia, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade de Guarulhos/São Paulo – Brasil, pelo método “Checkerboard DNA-DNA Hybridization” descrito por Socransky et al. (1994) e modificado por Haffajee et al. (1997). Nesse, as suspensões contidas nos tubos plásticos foram fervidas por dez minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de acetato de amônia a 5 Molar. Cada suspensão, contendo o DNA livre das bactérias presentes, foi depositada em uma das canaletas do aparelho Minislot 30 (Immunectis, Cambridge, MA, USA), ficando o DNA concentrado em uma membrana de nylon (15 X 15 cm) com carga positiva (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN, USA). As duas últimas canaletas horizontais foram ocupadas por controles contendo uma mistura do DNA das espécies de microrganismos investigadas, nas concentrações 10^5 e 10^6 células bacterianas (Socransky et al. 1994; Haffajee et al. 1997). Posteriormente, o DNA depositado na membrana foi fixado por intermédio de aquecimento em forno a 120°C , por 20 minutos.

Pré-Hibridização e Hibridização DNA-DNA

As membranas foram pré-hibridizadas a 42°C por 1 hora e em seguida posicionadas sob a placa acrílica do “Miniblotter 45” (Immunetics, Cambridge, MA, USA) com as linhas de DNA perpendiculares às canaletas do aparato.

As sondas de DNA foram confeccionadas usando o “random primer digoxigen in labeling Kit” (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA), como descrito por Feinberg & Vogelstein (1983). Sondas de DNA específicas para 40 espécies, selecionadas devido à sua associação com diferentes tipos de doenças e saúde periodontais/peri-implantares, foram utilizadas nesse estudo (Haffajee & Socransky 1994). Anteriormente as sondas foram testadas com uma mistura controle contendo as espécies investigadas, numa concentração de 10^4 células bacterianas, sendo as concentrações ajustadas para que as intensidades dos sinais de todas as sondas fossem semelhantes. As sondas hibridizaram o material localizado perpendicularmente às linhas que contém o DNA bacteriano fixado. Para

hibridização das membranas com as sondas aguardou-se um período de 20 horas, a 42°C.

Detecção das Espécies

As membranas foram removidas do Miniblotter 45 e submetidas a duas lavagens de 20 minutos, a 65°C, numa solução adstringente (0,1 X SSC, 0,1% SDS). Em seguida, foram imersas, por uma hora, em uma solução contendo 1% de ácido maléico, 3 M NaCl, 0,2 M NaOH, 0,3% Tween 20, 0,5% caseína, pH 8,0, e posteriormente por 30 minutos, na mesma solução, contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) em uma diluição de 1/10.000. As membranas foram lavadas duas vezes por 20 minutos em uma solução de 0,1 M de ácido maléico, 3 M de NaCl, 0,2 M de NaOH, 0,3% Tween 20, pH 8,0, e uma vez, por cinco minutos, em uma solução de 0,1 M de Tris HCL e 0,1 M de NaCl, 50 mM MgCl₂, pH 9,5.

As membranas foram incubadas em uma solução detectora à base de fosfatase alcalina, CDP- StarTM Detection Reagent (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra), por 45 minutos a 37°C e colocadas em um cassete sob chassi radiográfico 30 X 40 cm (Konex, São Paulo, SP, Brasil) sobre um filme radiográfico Kodak X-Omat de 18 X 24 cm (Kodak Brasileira Com. e Ind. Ltda, São José dos Campos, SP, BR) por 40 minutos. O filme foi revelado manualmente, pelo método convencional tempo-temperatura.

Dessa forma, foi obtido um filme radiográfico com os sinais de quimioluminescência, sendo a leitura realizada por examinador único, treinado e cego em relação ao tipo de conexão protética e o objetivo do estudo. O sinal produzido por uma sonda na amostra de biofilme foi comparado, em intensidade, ao sinal produzido pela mesma sonda nos controles contendo 10⁵ e 10⁶ bactérias. Esses registros foram utilizados para determinar a contagem (x10⁶) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas analisadas nas amostras de biofilme subgengival.

Análise Estatística

O perfil dos pacientes foi obtido a partir de análise descritiva dos seguintes dados: idade, sexo e tipo de conexão protética. Para as variáveis Índice de Placa, Índice de Sangramento Gengival, Sangramento à Sondagem e Supuração foram utilizados o teste Exato de Fisher. O teste Kruskal-Wallis foi aplicado à variável Profundidade de Sondagem. A contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas avaliadas nas amostras de biofilme subgengival foi analisada pelo teste de Kruskal-Wallis para os implantes com diferentes conexões. As análises estatísticas foram realizadas no programa IBM SPSS Statistics 24 e a significância estatística foi estabelecida em 5%.

Os itens presentes na lista de verificação STROBE foram incluídos nesse estudo.

Resultados

No total, 30 implantes presentes em 16 indivíduos (4 homens e 12 mulheres) foram incluídos nesse estudo e divididos em três grupos de acordo com o tipo de conexão protética: Grupo A - Hexágono Externo ($n=14$), Grupo B - Canal Triplo ($n=9$) e Grupo C - Cone Morse ($n=7$). Nove participantes apresentavam dois ou mais implantes unitários instalados e em função, sendo que quatro desses indivíduos apresentavam simultaneamente conexões tipo hexágono externo e canal triplo. A idade média dos participantes do estudo foi de 60.3 ± 12.3 anos e o tempo médio de instalação dos implantes foi de 10 ± 3.57 anos.

A Tabela 2 apresenta a relação entre o tipo de conexão protética, o gênero e a localização do implante. No total, 20 dos trinta implantes (66.6%) estavam presentes em indivíduos do gênero feminino, além disso 18 (60%) dos trinta implantes estavam instalados em região posterior. Nos Grupos A (Hexágono Externo) e C (Cone Morse) os implantes estavam presentes em maior percentual em indivíduos do gênero feminino, 71.4% e 100% respectivamente, diferente do Grupo B (Canal Triplo) em que 66.6% dos implantes encontravam-se instalados em indivíduos do gênero masculino. Ao avaliar a localização, os implantes dos Grupos A e C estavam presentes em maior percentual em região posterior, 71.4% e 85.7%

respectivamente, diferente do Grupo B presente em maior percentual, 77.7%, em região anterior. A análise dos dados obtidos na avaliação clínica dos 30 implantes (Apêndice C), de acordo com o grupo, está presente na Tabela 3.

A média da profundidade de sondagem peri-implantar do Grupo A foi 3.57 ± 2.59 mm, do Grupo B 4.78 ± 1.2 mm e do Grupo C 3.57 ± 1.72 mm, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0.05$). O parâmetro clínico sangramento à sondagem peri-implantar apresentou elevado percentual em todos os tipos de conexões, com destaque para a conexão tipo Cone Morse que apresentou 85.7% dos implantes com pelo menos um sítio com sangramento a sondagem. Todos os tipos de conexões apresentaram elevado percentual para a variável índice de placa ($p > 0.05$) e o parâmetro clínico supuração não foi observado em nenhum implante dos grupos A, B e C.

Em relação à avaliação microbiológica, a Figura 1 contém a contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas analisadas nas amostras de biofilme subgingival. As bactérias *Treponema denticola* (1.4×10^6) do complexo vermelho e *Fusobacterium nucleatum* (sp. *vincentii*) (1.2×10^6), *Prevotella nigrescens* (2.8×10^6), *Prevotella intermédia* (1.3×10^6) do complexo laranja estão presentes em níveis elevados no grupo A ($p < 0.05$). Duas das três espécies bacterianas do complexo vermelho: *Porphyromonas gingivalis* (1.0×10^6) e *Tannerella forsythia* (1.1×10^6) estão presentes em níveis elevados no grupo B, assim como a espécie *Fusobacterium periodonticum* (1.3×10^6) que pertence ao complexo laranja ($p < 0.05$). O grupo C apresentou baixa contagem de bactérias patogênicas (complexo vermelho e laranja) quando comparada aos demais grupos, sendo essa diferença estatisticamente significativa.

Discussão

O sucesso dos implantes osseointegrados ampliou as suas indicações, na Odontologia, não apenas no desdentado total, assim como no desdentado parcial, tornando necessário o desenvolvimento de novos sistemas que pudessem suprir as limitações estéticas, mecânicas e biológicas (García-Bellosta et al. 2010; Michalakis et al. 2014).

Os sistemas de implantes diferem, entre outros, pelas características da interface implante/intermediário protético, com diferenças particulares entre as conexões cônicas e não cônicas (internas e externas), destacando-se a formação de um microgap na interface implante/intermediário, assim como a estabilidade mecânica dos diferentes sistemas (Schmitt et al. 2014; Michalakis et al. 2014), condições que podem influenciar os parâmetros clínicos, radiográficos e microbiológicos.

Neste estudo, a média da profundidade de sondagem dos implantes do Grupo A foi 3.57 ± 2.59 mm, do Grupo B 4.78 ± 1.2 mm e do Grupo C 3.57 ± 1.72 mm, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Apesar da profundidade de sondagem ser um excelente parâmetro para avaliar a saúde periodontal dos dentes naturais, apresenta um menor valor diagnóstico em implantes, devendo estar associada a outros parâmetros, como o sangramento à sondagem (Coli et al. 2017). Essa condição decorre da diferença na disposição das fibras periodontais e das fibras peri-implantares (Belibasakis 2014), do nível ósseo de instalação do implante, bem como do tipo e comprimento do intermediário protético utilizado (Boynuegri et al. 2012).

O índice de placa apresentou elevado percentual para todos os tipos de conexões, com destaque para o Grupo A, podendo indivíduos que perderam elementos dentários apresentarem uma maior negligência das medidas de higiene bucal, favorecendo o desenvolvimento de doenças inflamatórias peri-implantares (Marrone et al. 2013). Alécio et al. (2014) destacaram relação direta entre a presença de placa bacteriana e o desenvolvimento de mucosite, não sendo observado relevância estatística em relação à peri-implantite. Konstantinidis et al. (2015) observaram associação estatisticamente significativa entre um alto índice de placa e a presença de mucosite. Já Canullo et al. (2016) associaram o inadequado controle de placa e o sangramento à sondagem, em pacientes com implantes dentários, a uma maior prevalência de peri-implantite.

Heitz-Mayfield & Lang (2010) destacam que embora a resposta inicial do hospedeiro ao desafio bacteriano observado na mucosite seja semelhante ao encontrado na gengivite, o acúmulo persistente da placa bacteriana pode gerar uma resposta inflamatória mais pronunciada na mucosa peri-implantar quando comparado aos elementos dentários. Casado et al. (2011) sugerem que a mucosa peri-implantar

pode ser mais sensível às forças de sondagem quando comparada a mucosa em torno dos dentes, favorecendo o sangramento à sondagem.

O sangramento à sondagem consiste em um importante parâmetro clínico no diagnóstico da saúde/doença peri-implantar (Jepsen et al. 2015). Farina et al. (2017) associaram a maior probabilidade de sangramento à sondagem nos sítios peri-implantares com uma maior profundidade de sondagem, sendo o sangramento à sondagem observado em 27% dos sítios com profundidade de sondagem igual a 4mm, enquanto sítios com 5 e 6 mm apresentaram 37% e 48% respectivamente. Os autores destacaram que 85.7% dos implantes apresentaram pelo menos um sítio com sangramento à sondagem, resultado semelhante ao observado nesse estudo, no qual os grupos A, B e C apresentaram respectivamente 77.7%, 64.2% e 85.7% dos implantes com pelo menos um sítio com sangramento. Tenenbaum et al. (2017) observaram sangramento à sondagem em 60.2% dos implantes e 73% dos pacientes.

A maior prevalência de doenças peri-implantares, identificadas através da presença de sangramento à sondagem, com ou sem perda óssea, também tem sido associada ao gênero feminino (Ferreira et al. 2015; Farina et al. 2017), condição que pode ser influenciada por fatores hormonais (Farina et al. 2013). No presente estudo 66.6% (n=20) dos implantes estavam instalados em mulheres. O sangramento à sondagem pode ser influenciado ainda pela localização do implante. Farina et al. (2017) destacaram uma maior probabilidade de sangramento a sondagem para implantes localizados em região anterior. Essa condição se apresenta contrária ao observado em dentes naturais em que a probabilidade de sangramento a sondagem é maior nos sítios localizados em região posterior (Farina et al. 2013). No entanto, em estudo recente realizado por Abduljabbar et al. (2017) a localização do implante, não foi associada a maior probabilidade de sangramento à sondagem. No presente estudo 60% (n=18) dos implantes estavam instalados em região posterior.

O parâmetro clínico sangramento à sondagem peri-implantar está presente em maior porcentagem nas conexões tipo Cone Morse (85.7%), no entanto, em virtude a maior estabilidade mecânica e a menor infiltração na interface implante/intermediário das conexões cônicas (Maeda et al. 2006; Tesmer et al. 2009; Do Nascimento et al. 2012; Schmitt et al. 2014; Koutouzis et al. 2014) era esperado

melhor resultado para o grupo C, em relação aos grupos A e B, condição que pode ter sido favorecida em virtude a 100% da amostra do Grupo C estar presente em mulheres.

Muitos estudos têm demonstrado a ocorrência de infiltração bacteriana através da interface implante/intermediário nos diferentes sistemas de implantes (Covani et al. 2006; Do Nascimento et al. 2012; Koutouzis et al. 2016), sendo o biofilme formado na superfície do implante, principalmente na região do microgap, de difícil controle e relacionado diretamente ao desenvolvimento da peri-implantite (Zitzmann et al. 2002).

Todos os tipos de conexões estão sujeitas a infiltração bacteriana, não sendo nenhum sistema de implante, de dois passos, capaz de fornecer o vedamento completo da interface implante/intermediário protético (Do Nascimento et al. 2012; Schmitt et al. 2014; Tallarico et al. 2017). No entanto, muitos estudos, concluem que a conexão cônica, em virtude da menor largura do microgap, apresenta uma menor infiltração bacteriana na interface implante/intermediário (Dibart et al. 2005; Tesmer et al. 2009; Do Nascimento et al. 2012; Koutouzis et al. 2014).

A microbiota associada aos tecidos peri-implantares saudáveis caracteriza-se pela presença de cocos gram positivos anaeróbios facultativos e bastonetes (Furst et al. 2007), no entanto, bastonetes gram negativos anaeróbios podem ser encontrados, em condições de saúde em alguns implantes, em pequenos números e baixas proporções (Heitz-Mayfield & Lang 2010). A mucosite está associada ao aumento de cocos, bacilos móveis e espiroquetas. Na presença de peri-implantite a microbiota caracteriza-se por elevadas contagens e proporções de bactérias anaeróbicas gram negativas, com destaque as bactérias associadas a patogênese da doença periodontal, complexo vermelho e laranja, conforme descrito por Socransky et al. (1998). A presença de *A. actinomycetemcomitans* também foi observada em sítios com peri-implantite em diversos estudos (Tabanella et al. 2009; Mombelli & Décaillot 2011; Preethanath et al. 2017).

A microbiota peri-implantar pode ser influenciada pelas características dos diferentes sistemas de implantes (Papaspolidakos et al. 2012), não sendo, no entanto, diversos

estudos capazes de correlacionar a presença de microrganismos específicos com os diferentes tipos de conexões (Renvert et al. 2008; Tabanella et al. 2009).

No presente estudo a conexão tipo Cone Morse apresentou baixa contagem de bactérias periodontopatogênicas quando comparada aos demais grupos, o que está em concordância ao descrito por Canullo et al. (2015) que observaram contagem bacteriana total significativamente menor no biofilme subgingival peri-implantar nas conexões interna e cônica, podendo esse resultado estar relacionado à menor microinfiltração bacteriana na interface implante/intermediário protético da conexão tipo Cone Morse, em condições de carregamento e não carregamento (Tesmer et al. 2009; Do Nascimento et al. 2012; Koutouzis et al. 2014).

A maior contagem de bactérias, principalmente do complexo vermelho e laranja, nas conexões tipo Hexágono Externo (*T. denticola*, *F. nucleatum. sp. vincentii*, *P. nigrescens*, *P. intermédia*) e Canal Triplo (*P. gingivalis*, *T. forsythia* e *F. periodonticum*) pode estar relacionada à maior largura do microgap (Tsuge et al. 2008; Do Nascimento et al. 2011; Do Nascimento et al. 2012). Essas bactérias apresentam grande potencial patogênico (Socransky & Haffajee 2005) e tem sido relacionadas com formas destrutivas da doença periodontal e peri-implantar (Shibli et al. 2008).

Em meta-análise recente realizada por Tallarico et al. (2017) os autores destacaram que contagens bacterianas significativamente maiores para bactérias periodontopatogênicas foram observadas na interface implante/intermediário de pacientes com peri-implantite, no entanto, essa correlação não foi analisada neste estudo.

A inter-relação entre a doença periodontal e a doença peri-implantar é comprovada cientificamente, podendo um elemento dentário com comprometimento periodontal atuar como reservatório para transmissão de periodontopatógenos aos sítios peri-implantares (Agerbaek et al. 2006; Dalago et al. 2017). Essa condição é observada principalmente em sulcos periodontais com profundidade de sondagem maior que cinco milímetros (Mombelli et al. 1995). Desta forma, neste estudo, indivíduos com doença periodontal crônica moderada e severa, e com doença periodontal agressiva, foram excluídos da pesquisa.

No presente estudo, todos os implantes avaliados apresentaram prótese instalada e em função por um período mínimo de cinco anos, período sugerido por outros autores (Zangrado et al. 2015; Sgolastra et al. 2015), permitindo que as alterações observadas sejam consequências da interação entre a microbiota e a resposta imune-inflamatória do hospedeiro. A inclusão de pacientes reabilitados por uma equipe e não por um único profissional, se apresenta como uma limitação desse estudo, podendo haver variações como o posicionamento do implante.

Em conclusão, no presente estudo, o tipo de conexão protética não influenciou os parâmetros clínicos peri-implantares, porém influenciou a colonização bacteriana do biofilme subgingival, sendo a maior contagem de bactérias periodontopatogênicas observada nas conexões tipo Hexágono Externo e Canal Triplo. A conexão tipo Cone Morse apresentou baixa contagem de bactérias periodontopatogênicas.

Referências

Abduljabbar, T., Jave, F., Malignaggi, V.R., Vohra, F. & Kellesarian, S.V. (2017) Influence of implant location in patients with and without type 2 diabetes mellitus: 2-year follow-up. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **46**: 1188-1192.

Agerbaek, M.R., Lang, N.P., Persson, G.R. (2006) Comparison of bacterial patterns presence at implant and tooth sites in subjects on supportive periodontal therapy. *Clinical Oral Implants Research* **17**: 18-24.

Alécio, A.B., Cianchini, M.A., Schildt Filho, G. Dalago, H.R. & Oliveira, J.G. (2014) Relationship between modified plaque index and the prevalence of peri-implants diseases around osseointegrated implants. [Full dentistry in science](#) **8**: 264-268.

Belibasakis, G.N. (2014) Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Archives of Oral Biology* **59**: 66-72.

Berglundh, T., Persson, L. & Klinge, B. (2002) A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective

longitudinal studies of at least 5 years. *Journal of Clinical Periodontology* **29**: 197-219.

Boynueđri, A., Yalim, M., Nemli, S., Ergüder, B. & Gökalp, P. (2012) Effect of different localizations of microgap on clinical parameters and inflammatory cytokines in peri-implant crevicular fluid: a prospective comparative study. *Clinical Oral Investigations* **16**: 353-361.

Brägger, U., Aeschlimann, S., Bürgin, W., Hämmerle, C. & Lang, N. (2001) Biological and technical complications and failures with fixed partial dentures (FPD) on implants and teeth after four to five years of function. *Clinical Oral Implants Research* **12**: 26-34.

Broggini, N., Mcmanus, L.M., Hermann, J.S., Medina, R.U., Oates, T.W., Schenk, R.K., Buser, D., Mellonig, J.T. & Cochran, D.L. (2003) Persistent Acute Inflammation at the Implant-Abutment Interface. *Journal of Dental Research* **82**: 232-237.

Canullo, L., Penarrocha-Oltra, Covani, U., Botticelli, D., Serino, G. & Penarrocha M. (2016) Clinical and microbiological findings in patients with peri-implantitis: a cross-sectional study. *Clinical Oral Implants Research* **27**: 376-382.

Canullo, L., Penarrocha-Oltra, D., Soldini, C., Mazzocco, F., Penarrocha, M. & Covani, U. (2015) Microbiological assessment of the implant-abutment interface in different connections: cross-sectional study after 5 years of functional loading. *Clinical Oral Implants Research* **26**: 426-434.

Casado, P.L., Otazu, I.B., Balduino, A., Mello, W., Barboza, E.P. & Duarte, M. (2011) Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Implant Dentistry* **20**: 226-35.

Coli, P., Christiaens, V., Sennerby, L. & DE BRUYN, H. (2017) Reliability of periodontal diagnostic tools for monitoring peri-implant health and disease. *Periodontology 2000* **73**: 203-217.

Conover, W. (1999) *Practical Nonparametric Statistics* (3rd ed.) New York: John Wiley and Sons.

Covani, U., Marconcini, S., Crespi, R. & Barone, A. (2006) Bacterial plaque colonization around dental implant surfaces. *Implant Dentistry* **15**: 298-304.

Dalago, H.R., Schuldt Filho, G., Rodrigues, M.A., Renvert, S. & Bianchin, M.A. (2017) Risk indicators for peri-implantitis. A cross-sectional study with 916 implants. *Clinical Oral Implants Research* **28**: 144-147.

Dibart, S., Warbington, M., Su, M.F. & Skobe, Z. (2005) In Vitro Evaluation of the Implant-Abutment Bacterial Seal: The Locking Taper System. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **20**: 732-737.

Do Nascimento, C., Miani, P.K., Pedrazzi, V., Muller, K. & de Albuquerque, R.F. Jr. (2012) Bacterial leakage along the implant-abutment interface: culture and DNA Checkerboard hybridization analyses. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **27**: 551-560.

Do Nascimento, C., Miani, P.K., Watanabe, E., Pedrazzi, V. & De Albuquerque, R.F. (2011) *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **26**: 1168-1172.

Farina, R., Filippi, M., Brazzioli, J., Tomasi, C. & Trombelli, L. (2017) Bleeding on probing around dental implants: a retrospective study of associated factor. *Journal of Clinical Periodontology* **23**: 199-206.

Farina, R., Tomasi, C. & Trombelli, L. (2013) The bleeding site: a multi-level analysis of associated factors. *Journal of Clinical Periodontology* **40**: 735-742.

Feinberg, A.P. & Vogelstein, B. (1983) A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Analytical Biochemistry* **132**: 6-13.

Ferreira, C. F., Buttendorf, A. R., de Souza, J. G., Dalago, H., Guenther, S. F. & Bianchini, M. A. (2015) Prevalence of peri-implant diseases: analyses of associated factors. *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry* **23**: 199-206.

Furst, M.M., Salvi, G.E., Lang, N.P. & Persson, G.R. (2007) Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clinical Oral Implants Research* **18**: 501-508.

García-Bellosta, S., Bravo, M., Subirá, C. & Echeverría, J.J. (2010) Retrospective study of the long-term survival of 980 implants placed in a periodontal practice. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **25**: 613-619.

Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Dibart, S., Smith, C., Kent, R.L. & Socransky, S.S. (1997) The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* **24**: 324-334.

Haffajee, A.D. & Socransky, S.S. (1994) Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology 2000* **5**: 78-111.

Heitz-Mayfield, L.J. & Lang, N.P. (2010) Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. *Periodontology 2000* **53**: 167–181.

Hermann, J.S., Schoolfield, J. D., Schenk, R.K., Buser, D. & Cochran, D.L. (2000) Influence of the size of the Microgap on Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology* **72**: 1372–1383.

Holm-Pedersen, P., Lang, N.P. & Muller, F. (2007) What are the longevities of teeth and oral implants? *Clin Oral Implant Res* **18**: 15-19.

Jepsen, S., Berglundh, T., Genco, R., Aass, A.M., Demirel, K., Derks, J., Figuero, E., Giovannoli, J.L., Goldstein, M., Lambert, F., Ortiz-Vigon, A., Polyzois, I., Salvi, G.E., Schwarz, F., Serino, G., Tomasi, C. & Zitzmann, N.U. (2015) Primary prevention of periimplantitis: managing peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Periodontology* **42**: 152– 157.

Konstantinidis, I.K., Kotsakis, G.A., Gerdes, S. & Walter, M.H. (2015) Cross-sectional study on the prevalence and risk indicators of peri-implant disease. [European Journal of Oral Implantology](#) **8**: 75-88.

Koutouzis, T., Gadalla, H. & Lundgren, T. (2016) Bacterial Colonization of the Implant-Abutment Interface (IAI) of Dental Implants with a Sloped Marginal Design: An in vitro study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **18**: 161-167.

Koutouzis, T., Mesia, R., Calderon, N., Wong, F. & Wallet, S. (2014) The Effect of Dynamic Loading on Bacterial Colonization of the Dental Implant Fixture-Abutment Interface: An In Vitro Study. *Journal of Oral Implantology* **40**: 432-437.

Maeda, Y., Satoh, T. & Sogo, M. (2006) In vitro differences of stress concentrations for internal and external hex implant-abutment connections: a short communication. *Journal of Oral Rehabilitation* **33**: 75–78.

Marrone, A., Lasserre, J., Bercy, P. & Brex, M. C. (2013) Prevalence and risk factors for peri-implant disease in Belgian adults. *Clinical Oral Implants Research* **24**, 934–940.

Michalakis, K.X., Calvani, P.L., Muftu, S., Pissiotis, A. & Hirayama, H. (2014) The effect of different Implant-Abutment Connections on Screw Joint Stability. *Journal of Oral Implantology* **22**: 124-130.

Mombelli, A. & Décaillet, F. (2011) The characteristics of biofilms in periimplant disease. *Journal of Clinical Periodontology* **38** (Suppl. 11): 203–213.

[Mombelli, A.](#), [Marxer, M.](#), [Gaberthüel, T.](#), [Grunder, U.](#) & [Lang N.](#) (1995) The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **22**: 124-130.

Papaspyridakos, P., Chen, C.J., Chuang, S.K., Weber, H.P. & Gallucci, G.O. (2012) A systematic review of biologic and technical complications with fixed implant rehabilitations for edentulous patients. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **27**: 102–110.

Preethanath, R.S., Alnahas, N.W., Bin Huraib, S.M., Al-Balbeesi, H.O., Almalik, N.K., Dalati, M.H. & Divakar, D.D. (2017) Microbiome of dental implants and its clinical aspect. *Microbial Pathogenesis* **106**: 20-24.

Renvert, S., Lindahl, C., Renvert, H. & Persson, G.R. (2008) Clinical and microbiological analysis of subjects treated with Branemark or AstraTech implants: a 7-year follow-up study. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 342–347.

Shibli, J.A., Melo, L., Ferrari, D.S., Figueiredo, L.C., Faveri, M. & Magda, F. (2008) Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implant. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 975-982.

Schmitt, C.M., Nogueira-Filho, G., Tenenbaum, H.C., Lai, J.Y., Brito, C., Döring, H. & Nonhoff, J. (2014) Performance of conical abutment (Morse Taper) connection implants: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research* **102a**: 552-574.

Sgolastra, F., Petrucci, A., Severino, M., Gatto, R. & Monaco, A. (2015) Periodontitis, implant loss and peri-implantitis: A meta-analysis. *Clinical Oral Implants Research* **26a**: 8-16.

Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Smith, C. & Kent, R.L., Jr. (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology* **25**: 134–144.

Socransky, S.S. & Haffajee, A.D. (2005) Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000* **28**: 135-187.

Socransky, S.S., Smith, C., Martin, L., Paster, B.J., Dewhirst, F.E. & Levin, A.E. (1994) “Checkerboard” DNA–DNA hybridization. *Biotechniques* **17**: 788–792.

Tabanella, G., Nowzari, H. & Slots, J. (2009) Clinical and microbiological determinants of failing dental implants. *Clinical Implant Dentistry & Related Research* **11**: 24-36.

Tallarico, M., Canullo, L., Caneva, M. & Özcan, M. (2017) Microbial colonization at the implant-abutment interface and its possible influence on periimplantitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Prosthodontic Research* **63**: 233-241.

Teixeira, W., Ribeiro, R.F., Sato, S. & Pedrazzi, V. (2011) Microleakage into and from two-stage implants: an in vitro comparative study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **26**: 56-62.

Tenenbaum, H., Bogen, O., Séverac, F., Elkaim, R., Davideau, J.L. & Huck, O. (2017) Long-term prospective cohort study on dental implants: clinical and microbiological parameters. *Clinical Oral Implants Research* **28**: 86-94.

Tesmer, M., Wallet, S., Koutouzis, T. & Lundgren, T. (2009) Bacterial colonization of the dental implant fixture-abutment interface: an in vitro study. *Journal of Periodontology* **80**: 1991–1997.

Tsuge, T., Hagiwara, H. & Matsumura, H. (2008) Marginal Fit and Microgaps of Implant-abutment Interface with Internal Anti-rotation Configuration. *Dental Materials Journal* **27**: 29-34.

Zangrando, M.S., Damante, A.C., Santana, A.C., Rezende, L.R., Greggi, S.L. & Chambrone, L. (2015) Long-Term Evaluation of Periodontal Parameters and Implant Outcomes in Periodontally Compromised Patients: A Systematic Review. *Journal of Periodontology* **86**: 201-221.

Zitzmann, N.U., Abrahamsson, I., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2002) Soft tissue reactions to plaque formation at implants abutments with different surface topography: An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **29**: 456-461.

TABELAS

Tabela 1. Relação das cepas empregadas para a confecção das sondas de DNA.

Espécies	Cepas	Espécies	Cepas
Complexo Azul		Complexo Laranja (cont.)	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp. Nucleatum	25586a
<i>Actinomyces israelii</i>	12102a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp. polymorphum	10953a
<i>Actinomyces naeslundii</i> I	12104a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp. vincentii	49256a
<i>Actinomyces naeslundii</i> II	43146a	<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693a
Complexo Roxo		<i>Parvimonas micra</i>	33270a
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929a	<i>Prevotella intermedia</i>	25611a
<i>Veillonella parvula</i>	10790a	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563a
Complexo Amarelo		<i>Streptococcus constellatus</i>	27823a
<i>Streptococcus gordonii</i>	10558a	Complexo Vermelho	
<i>Streptococcus intermedius</i>	27335a	<i>Tannerella forsythia</i>	43037a
<i>Streptococcus mitis</i>	49456a	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277a
<i>Streptococcus oralis</i>	35037a	<i>Treponema denticola</i>	B1b
<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556a	Outras Espécies	
Complexo Verde		<i>Eubacterium saburreum</i>	33271a
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> a + b	29523a	<i>Gemella morbillorum</i>	27824a
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624a	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201a
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596a	<i>Neisseria mucosa</i>	19696a
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612a	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845a
<i>Eikenella corrodens</i>	23834a	<i>Propionibacterium acnes</i> I + II	11827a
Complexo Laranja			11828a
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236a	<i>Selenomonas noxia</i>	43541a
<i>Campylobacter rectus</i>	33238a	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397a
<i>Campylobacter showae</i>	51146a	<i>Treponema socranskii</i>	S1b
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099a		

As espécies foram agrupadas por complexos bacterianos (SOCRANSKY et al., 1998)

a ATCC (American Type Culture Collection)

b Forsyth Institute

Tabela 2. Relação entre o tipo de conexão protética, o gênero e a localização do

	Total de Implantes	Gênero	Localização do Implante
Hexágono Externo (Grupo A)	14	Feminino: 10 (71,4%)	Anterior: 4 (28,6%)
		Masculino: 4 (28,6%)	Posterior: 10 (71,4%)
Canal Triplo (Grupo B)	9	Feminino: 3 (33,3%)	Anterior: 7 (77,7%)
		Masculino: 6 (66,6%)	Posterior: 2 (22,2%)
Cone Morse (Grupo C)	7	Feminino: 7 (100%)	Anterior: 1 (14,3%)
		Masculino: 0 (0%)	Posterior: 6 (85,7%)

Tabela 3. Dados Clínicos da Amostra.

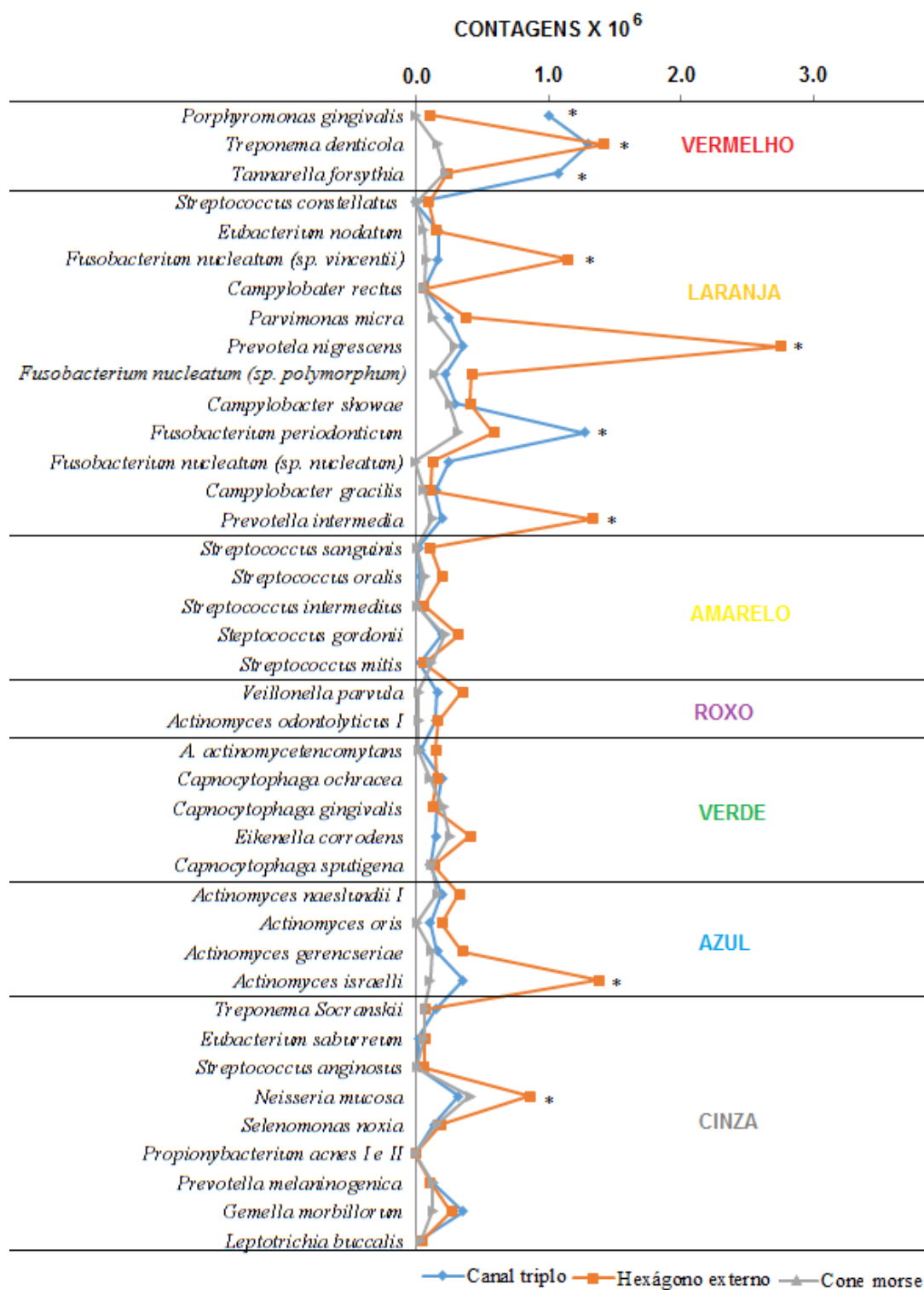
	Conexão			Valor p
	Hexágono Externo n=14	Cana Triplo n=9	Cone Morse n=7	
Índice de Placa	10 (71,4%)	6 (66,6%)	3 (42,8%)	0.548*
Índice de Sangramento Gengival Marginal	6 (42,8%)	2 (22,2%)	4 (57,1%)	0.353*
Profundidade de Sondagem (mm)	3,57±2,59	4,78±1,2	3,57±1,72	0.442**
Sangramento à Sondagem	9 (64,2%)	7 (77,7%)	6 (85,7%)	0.660*
Supuração	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-

*. Teste Exato de Fisher; **. Teste de Kruskal-Wallis

(-) Estatística não computada porque não houve casos

FIGURAS

Figura 1: Contagem ($\times 10^6$) das sondas de DNA das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival peri-implantar dos implantes.



ANEXO A – AUTORIZAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação clínica, radiográfica e microbiológica de Implantes com diferentes tipos de conexões protéticas

Pesquisador: BIANCA SCOPEL COSTA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 45991715.5.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.358.225

Apresentação do Projeto:

Estudo Clínico em pacientes submetidos entre 2000/2010 reabilitação com implantes unitários pela mesma equipe e selecionados através da avaliação de prontuários, serão submetidos a avaliação clínica, radiográfica e microbiológica. O exame perimplantar será realizado por avaliador único. Os dados serão tabulados em planilhas do programa Excel for Windows sendo, a princípio, tratados de forma separada. Nos pacientes selecionados serão coletadas, em prontuário, informações relativas: Tipo de conexão protética, marca comercial, data da instalação do implante, nível ósseo da plataforma do implante, torque de instalação, data da reabilitação protética, tipo de prótese (parafusada ou cimentada). Os pacientes serão submetidos à avaliação clínica e mensuração dos parâmetros perimplantares em consultório odontológico, por um único

examinador calibrado, especialista em periodontia e não envolvido na fase cirúrgica e/ou protética da reabilitação do paciente.

Objetivo da Pesquisa:

- Avaliar clínica, microbiológica e radiograficamente Implantes com diferentes tipos de conexão protética.
- Avaliar as consequências da infiltração de microorganismos na interface entre pilar e implante de

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES

Município: VITÓRIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep@ccs.ufes.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES**



Continuação do Parecer: 1.358.225

conexões protéticas externas e Internas;

- Avaliar através de parâmetros clínicos se Implantes de conexão externa apresentam um maior comprometimento perimplantar;
- Relacionar a micro-fenda existente entre o Implante/conector com a perda óssea ao redor de Implantes;
- Mensurar perda óssea, a longo prazo, de Implantes com diferentes conexões protéticas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequados conforme a resolução CNS 466/12

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Espera-se relacionar a presença de um maior gap presente nos implantes de conexão externa com uma maior concentração de periodontopatógenos no sulco perimplantar e consequente maior comprometimento do periodonto ao redor desses implantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de Rosto adequada

TCLE de acordo

Cronograma com datas de acordo com datas após aprovação projeto CEP

Orçamento detalhado e de custeio do pesquisador

Recomendações:

Sem

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto e TCLE reestruturado atendendo as solicitações

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_511744.pdf	02/12/2015 00:21:39		Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Escarecido.pdf	02/12/2015 00:16:21	BIANCA SCOPEL COSTA	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura	Projeto_Detalhado.pdf	02/12/2015 00:14:38	BIANCA SCOPEL COSTA	Acelto

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

UF: ES

Telefone: (27)3335-7211

Município: VITÓRIA

CEP: 29.040-091

E-mail: cep@ccs.ufes.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE/UFES**



Continuação do Parecer: 1.358.225

Investigador	Projeto_Detalhado.pdf	02/12/2015 00:14:38	BIANCA SCOPEL COSTA	Acelto
Outros	Carta Resposta.pdf	14/08/2015 10:19:22		Acelto
Outros	Ata Regulamento Biorrepositário.pdf	14/08/2015 09:25:07		Acelto
Outros	Regulamento Biorrepositário.pdf	14/08/2015 09:24:18		Acelto
Folha de Rosto	Folha de Rosto.pdf	13/08/2015 10:44:53		Acelto
Outros	Termo de Sigilo e Confidencialidade.pdf	13/08/2015 10:44:28		Acelto
Outros	Autorização Uso de Laboratório.pdf	13/08/2015 10:43:39		Acelto
Outros	Autorização Avaliação Clínica.pdf	13/08/2015 10:43:03		Acelto
Outros	Instrumento de Coleta de Dados.pdf	13/08/2015 10:42:39		Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VITORIA, 09 de Dezembro de 2015

Assinado por:
Cíntia Furst Leroy Gomes Bueloni
(Coordenador)