CAROLINE BOSQUÊ KEEDI

Análise do efeito do dimetacrilato contra a infiltração bacteriana pela interface implante/componente protético através da PCR Real Time: um estudo *in vivo*

São Paulo

2014

CAROLINE BOSQUÊ KEEDI

Análise do efeito do dimetacrilato contra a infiltração bacteriana pela interface implante/componente protético através da PCR Real Time: um estudo *in vivo*

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Prótese Dentária

Orientador: Prof. Dr. Pedro Tortamano Neto

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Keedi, Caroline Bosquê.

Análise do efeito do dimetacrilato contra a infiltração bacteriana pela interface implante/componente protético através da PCR Real Time: um estudo *in vivo* / Caroline Bosquê Keedi; orientador Pedro Tortamano Neto. -- São Paulo, 2014.

81 p. : il. : fig., tab., graf. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Prótese Dentária. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida.

1. Implantes dentários. 2. Infiltração dentária. 3. Reação em Cadeia por Polimerase. 4. Bacteriologia - Quantificação. I. Tortamano Neto, Pedro. II. Título.

Keedi CB. Análise do efeito do dimetacrilato contra a infiltração bacteriana pela interface implante/componente protético através da PCR Real Time: um estudo *in vivo*. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: /   /2015

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

A ELE, Pai de todos nós, cuja generosidade sempre me cercou, fazendo-me sentir constantemente amparada, dando-me serenidade para enfrentar as adversidades, e colocando “anjos” em meu caminho, que me ajudaram a fazer o que eu não poderia ter feito sozinha.

Aos MEUS PAIS, Eliane Bosquê Keedi e Samir Keedi, fontes inspiradoras de fé e de coragem, exemplos de vida e modelos de persistência. Sem os valores que vocês me ensinaram, eu certamente teria tido mais dificuldades para atingir meus objetivos, ou talvez não os atingisse. E também à minha IRMÃ, Ana Luiza Bosquê Keedi Canever, grande incentivadora dos meus sonhos, e que sempre arrumou palavras de força para me dizer nas horas difíceis. Que bom que pude contar com vocês, no choro e no riso, no desespero e na alegria das conquistas desta caminhada...

Ao AMOR DA MINHA VIDA, Álvaro, por me apoiar incondicionalmente, sabendo da importância da realização pessoal e profissional que este projeto me traria. Por compreender os meus “nãos”, por cuidar diariamente de mim e por me provocar sorrisos e gargalhadas em meio às crises de cansaço.

Aos FAMILIARES e AMIGOS, que muitas vezes me encorajaram a persistir, além de compreender as ausências.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A você que acreditou em mim, ainda antes de eu completar a minha graduação, meu querido orientador Pedro Tortamano Neto. Através de sua didática impecável e receptividade ímpar, tive a oportunidade de vivenciar incríveis experiências profissionais, sempre baseadas na ética e na ciência, com bom humor e amizade.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo, representada pelo Reitor Prof. Marco Antônio Zago. À Faculdade de Odontologia desta Universidade, na pessoa do diretor Prof. Dr. Waldir Antônio Jorge e da chefe do Departamento de Prótese Profa. Dra. Dalva Cruz Laganá.

Ao grande parceiro desta jornada, André Duarte Azevedo Marques, que tantas vezes me ajudou a superar os obstáculos, e tantas outras pareceu ser o irmão mais velho que eu não tive.

Ao admirável Professor Doutor Mario Julio Avila Campos, que generosamente abriu as portas de seu laboratório para o desenvolvimento deste trabalho, em favor da ciência. Não apenas a sua competência, mas também a sua humanidade me ensinaram coisas que jamais poderei esquecer.

Ao grande anjo deste trabalho, Viviane Arenas Rogrigues. Uma pessoa rara e contagiante, que parece não pertencer a este mundo. Quero que você se lembre sempre que não aprendi apenas as técnicas... aprendi muito mais que microbiologia, porque a convivência com você é mágica. Obrigada, minha amiga, também por me lembrar que a nossa fé pode mesmo mover montanhas.

À minha amiga e assistente, Carine, por toda a força e companheirismo, por cuidar de mim e dos contratempos do dia a dia profissional, e por rir comigo dentro e fora do expediente de trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto Chaib Stegun, por quem tenho grande respeito e admiração, e a quem recorri em muitas ocasiões, desde a minha graduação, pedindo conselhos, sempre concedidos com paciência e boa vontade.

À amiga Patrícia Spada Gimenez, por ser uma colaboradora natural, presente em todas as etapas deste trabalho, estimulando e participando de tudo que estive ao seu alcance.

À amiga Cíntia Martins Siqueira, por todas as suas ações realizadas na intenção de colaborar e impulsionar os projetos da nossa equipe, e de vencer as dificuldades que são inerentes às pesquisas clínicas.

A todos os funcionários do Departamento de Prótese da FOUSP, pela prestatividade, e em especial à Coraci, à Sandra e à Marlete.

À Estatística Rosana Duarte Prisco, do Serviço de Informática e Análise de Dados do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB III), pelo excelente trabalho e prontidão na resposta às minhas dúvidas, em todas as vezes que precisei esclarecê-las.

Às Bibliotecárias Glauci Elaine Damasio Fidelis (FOUSP) e Renata Maria dos Santos (ICB III), por sua paciência e carinho na fundamental participação que tiveram na elaboração e correção desta dissertação.

À amiga Luciana Kfourir Siriani, por sua delicadeza e amizade, prontificando-se a dividir comigo um pouco da sua experiência, e revisando a leitura deste trabalho.

Aos pacientes voluntários, que consentiram em participar deste estudo clínico, com todos os desafios e prazos que os protocolos de pesquisa clínica envolvem.

*“A pedra
O distraído, nela tropeçou.
O bruto a usou como projétil.
O empreendedor, usando-a construiu.
O campônio, cansado da lida, dela fez assento.
Para os meninos foi brinquedo.
Drummond a poetizou.
Daví matou Golias...
Por fim,
o artista concebeu a mais bela escultura.
Em todos os casos, a diferença não estava na pedra,
Mas no homem.”*

Antônio Pereira Dias Neto

RESUMO

Keedi CB. Análise do efeito do dimetacrilato contra a infiltração bacteriana pela interface implante/componente protético através da PCR Real Time: um estudo *in vivo* [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Corrigida.

A interface do implante com o componente protético geralmente apresenta lacunas que servem de nichos para a colonização bacteriana. A proposta deste estudo é verificar a eficácia do dimetacrilato na vedação desta interface. Foram utilizados 20 implantes ósseos Bone Level® Straumann, indicados para reabilitação protética unitária cimentada. Os pilares protéticos foram instalados nos grupos controle e experimental, adicionando-se o dimetacrilato à interface da conexão protética. Foram realizadas uma coleta inicial e uma coleta ao final do período de 90 dias no interior de cada implante, e através da técnica de PCR quantitativo foi analisada a infiltração e a detecção das espécies bacterianas *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*. No Grupo Controle, todas as amostras apresentaram quantificação de microrganismos, confirmando infiltração bacteriana. No Grupo Experimental, apenas 30% das amostras apresentou quantificação após o período estudado. Assim, a ausência de bactérias no Grupo Experimental foi associada ao tratamento com o dimetacrilato para o período. Quando considerada a presença de pelo menos uma das bactérias específicas estudadas nas amostras, a diferença também foi estatisticamente significativa. Entretanto, mais estudos devem ser desenvolvidos a fim de verificar se a vedação será eficiente por períodos mais longos.

Palavras-chave: Implantes dentários. Infiltração. Reação em Cadeia por Polimerase. Bacteriologia - Quantificação

ABSTRACT

Keedi CB. Assessment of dimethacrylate as a sealant at the implant/abutment interface against bacterial leakage through Real Time PCR: an *in vivo* study [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2014. Versão Corrigida.

The implant/prosthetic component interface often has gaps that serve as niches for bacterial colonization. The purpose of this study is to verify the effectiveness sealing this interface with dimethacrylate. Twenty two Straumann® Bone Level implants was installed in areas with indication for single cemented prosthetic rehabilitation. The prosthetic components were installed in the control and experimental groups following the fabricant instructions, and adding the dimethacrylate in the interface of the experimental group. An initial collection and a second collection at the end of 90 days within each implant were performed, and after that, the technique of quantitative PCR was developed to analyze whether there was infiltration and detection of four bacterial species: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*. In the control group, all samples showed quantification of microorganisms, confirming bacterial percolation. In the control group, only 30% of the samples submitted quantification after the study period. Thus, the absence of bacteria in the experimental group was associated with the treatment for the period dimethacrylate. Considering the presence of at least one specific bacteria in the samples studied, the difference was also statistically significant. However, more studies should be conducted to verify that the seal will be effective for longer periods.

Keywords: Dental Implants. Infiltration. Polimerase Chain Reaction. Bacteriology – Quantification.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 5.1 - Composição do adesivo industrial.....	34
Quadro 5.2 - Características do adesivo industrial (Catálogo Henkel®)	34
Quadro 5.3 - Desempenho do <i>Loctite</i> ® 277 em Resistência. Produto curado após 24 horas em 22°C (37)	35
Quadro 5.4 - Informação Toxicológica do <i>Loctite</i> ® 277	37
Quadro 5.5 - Avaliação da carcinogenicidade dos componentes do <i>Loctite</i> ® 277 ...	38
Quadro 5.6 - Avaliação do controle de exposição / necessidade de proteção pessoal.....	39
Figura 6.1 - Implante <i>Bone Level</i> ® <i>Straumann</i>	40
Figura 6.2 - Marques, André. Radiografia periapical no dia 0, com o parafuso de cicatrização	41
Figura 6.3 - Marques, André; Keedi, Caroline. Implante no dia 0, sem o parafuso de cicatrização	42
Figura 6.4 - Marques, André; Keedi, Caroline. Transferente de moldagem empregado na desinfecção e lavagem da porção interna do implante .	42
Figura 6.5 - Marques, André; Keedi, Caroline. Desinfecção e lavagem da porção interna do implante.....	42

Figura 6.6 - Marques, André; Keedi, Caroline. Pilar protético esterilizado previamente à instalação	43
Figura 6.7 - Marques, André; Keedi, Caroline. Aplicação do adesivo na porção facetada do pilar protético.....	43
Figura 6.8 - Marques, André; Keedi, Caroline. Aplicação do adesivo na porção facetada do pilar protético.....	44
Figura 6.9 - Marques, André; Keedi, Caroline. Aplicação do torque segundo a recomendação do fabricante	44
Figura 6.10 - Marques, André. Radiografia periapical no dia 0	45
Figura 6.11 - Marques, André; Keedi, Caroline. Primeira coleta – dia 0	45
Figura 6.12 - Marques, André; Keedi, Caroline. Desinfecção da entrada do parafuso após a aplicação do torque.....	46
Figura 6.13 - Marques, André; Keedi, Caroline. Proteção da entrada do parafuso com fita de politetrafluoretileno	46
Figura 6.14 - Marques, André; Keedi, Caroline. Aplicação do Alloy Primer	47
Figura 6.15 - Marques, André; Keedi, Caroline. Colocação do Panavia no topo do pilar	47
Figura 6.16 - Marques, André. Coroa definitiva cimentada sobre o pilar protético....	48
Figura 6.17 - Marques, André; Keedi, Caroline. Armazenamento das amostras em tubos plásticos de 2µl.....	50
Figura 6.18 - Extração de DNA com kit comercial.....	51
Figura 6.19 - Análise do DNA pela PCR Real Time	52

Gráfico 7.1 - Dispersão do número de cópias em função do tempo conforme o iniciador utilizado.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Distribuição das amostras.....	33
Tabela 6.1 - Iniciadores usados para amplificação em Real Time	53
Tabela 7.1 - Resultados em número de cópias de DNA.....	54
Tabela 7.2 - Quantificações pelo iniciador Universal	57
Tabela 7.3 - Quantificações de <i>Porphyromonas gingivalis</i>	58
Tabela 7.4 - Quantificações de <i>Tannerella forsythia</i>	59
Tabela 7.5 - Quantificações de <i>Treponema denticola</i>	60
Tabela 7.6 - Quantificações de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	60
Tabela 7.7 - Quantificações dos microrganismos específicos em 90 dias	61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Infiltração na interface implante/componente protético	18
2.2 Vedação de outras vias de infiltração	21
2.3 Estudos comparativos de selamento da interface das diversas conexões	23
2.4 Tentativas prévias de vedação da interface.....	26
3 PROPOSIÇÃO	31
4 CASUÍSTICA.....	32
4.1 Seleção dos Pacientes	32
4.2 Critérios de Inclusão e Exclusão.....	32
4.3 Divisão dos Grupos	33
5 ADESIVO.....	34
5.1 Descrição do Produto.....	34
5.2 Aplicação.....	35
5.3 Biocompatibilidade.....	36
6 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
6.1 Obtenção das Amostras.....	48
6.2 Transporte e Armazenamento das Amostras	49
6.3 Extração de DNA	50
6.4 Análise através do PCR Real Time	51
7 RESULTADOS	54
7.1 Análise Estatística	55
7.1.1 Iniciador Universal	57
7.1.2 Iniciador específico para <i>Porphyromonas gingivalis</i>	57
7.1.3 Iniciador específico para <i>Tannerella forsythia</i>	58
7.1.4 Iniciador específico para <i>Treponema denticola</i>	59
7.1.5 Iniciador específico para <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	60
7.1.6 Avaliação Geral de <i>Porphyromonas gingivalis</i> / <i>Treponema</i> <i>denticola</i> / <i>Tannerella forsythia</i> / <i>Agregatibacter actinomycetemcomitans</i>	61
8 DISCUSSÃO	62
9 CONCLUSÃO.....	71

REFERÊNCIAS	72
APÊNDICE	77
ANEXOS	79

1 INTRODUÇÃO

A longevidade dos implantes osseointegrados tem sido demonstrada em estudos clínicos bem documentados, com acompanhamento a longo prazo que incluem um grande número de pacientes tratados consecutivamente(1, 2).

Entretanto, implantes de dois estágios inevitavelmente geram lacunas e cavidades entre o implante e o componente protético, podendo servir de nichos para a colonização bacteriana. A relevância clínica destas lacunas tem sido negligenciada pelos fabricantes e pelos clínicos(3).

O sucesso da reabilitação com implantes depende da boa integração entre os tecidos ósseo, conjuntivo e epitelial. Os estudos publicados até então têm focado mais no tecido ósseo do que no tecido mole. Alguns autores estudaram as dimensões da junção implantogengival, fazendo a correlação das mesmas com tecidos saudáveis de implantes não submersos em diversas situações: com carga e sem carga, com plataformas de diâmetros coincidentes e não coincidentes(4)(5).

Em 1988, foi publicado um estudo que acompanhou a perda óssea marginal em implantes osseointegrados. Em um período de acompanhamento de 4 anos, foram realizadas radiografias sequenciais, mostrando que, em média, ocorre uma perda de 0.5mm no primeiro ano e depois de 0.06 a 0.08mm a cada ano, do osso marginal periimplantar. Os autores também detectaram uma forte associação entre uma pobre higienização e o aumento desta perda óssea(6), o que foi possível através de uma classificação do padrão de higiene de cada paciente que foi acompanhado.

Em 1995, Ericsson et al.(7) estudaram histologicamente o que ocorre ao redor de implantes que receberam controle de biofilme diariamente, e implantes que não receberam este controle, durante um período de exposição à formação de biofilme de 9 meses, em cães, após a instalação dos pilares. Além de ser constatada a presença do espaço na interface da conexão, foi encontrada a presença de infiltrado de células inflamatórias em ambos os grupos, o que levou a crer que se trata de uma tentativa do organismo de proteger os tecidos da ação das bactérias presentes

na interface da conexão, e que este infiltrado pode ser o responsável pela perda óssea detectada ao longo do período, de 1 a 1.5mm no primeiro ano.

O termo saucerização surgiu na literatura como uma denominação para este mecanismo de perda óssea marginal inicial que ocorre em implantes osseointegrados. A sua ocorrência parece ser inerente à integração dos implantes com o epitélio e o tecido conjuntivo, e alguns fatores são apontados, na literatura, como possíveis responsáveis por esta perda óssea. Um deles é o Fator de Crescimento Epitelial ou Fator de Crescimento Epidérmico (EGF), uma substância produzida pelas células e que possui as funções regulatória e estimulatória de crescimento, proliferação e diferenciação, principalmente das células epiteliais. O EGF está presente no epitélio juncional e tem relevante papel nos processos reparativos, mas também está associado à indução de atividade de reabsorção óssea, e o processo cirúrgico que promove uma aproximação entre o epitélio juncional e o tecido ósseo acaba por propiciar a reabsorção óssea cervical. Após algumas semanas ou meses, estabelecida uma distância biológica estável entre o osso e o epitélio juncional, estabiliza-se esta saucerização e um equilíbrio é encontrado. O EGF, além deste efeito autócrino, também tem efeito parácrino, ou seja, atua também em células de linhagens diferentes da sua. A espessura do tecido gengival, também pode influenciar no grau de perda óssea, pois quanto mais espesso for o tecido gengival, maior será o distanciamento entre o epitélio juncional e a crista óssea, minimizando a ação do EGF e diminuindo o efeito da saucerização. Tal reabsorção óssea faz com que a crista óssea marginal forme um ângulo aberto com a superfície do implante, e assuma a forma de um pires raso, daí a origem do termo saucerização (em inglês, pires = saucer)(8).

Entretanto, o fluxo bidirecional bacteriano via microfenda – na interface do pilar protético com a plataforma do implante – é o fator mais estudado na literatura, uma vez que influencia a condição de saúde do tecido mole, provoca mal odor e pode evoluir para tal perda óssea marginal^{(2), (9-11)}.

Traversy et al. realizaram um estudo *in vitro*, reportando que o fluxo de fluido e a transmissão de *Streptococcus sanguinis* ao longo da união implante/pilar ocorrem de modo bidirecional, através de testes realizados nos dois sentidos(12).

Diversos autores desenvolveram estudos subsequentes que entraram em concordância com esta constatação, encontrando variados tipos de microrganismos no interior e ao redor de implantes osseointegrados^{(13); (14), (15), (9, 10), (16), (17, 18)}.

É importante ressaltar que todo este processo não implica necessariamente em uma evolução para uma perda óssea patológica, como no caso da periimplantite. Geralmente um equilíbrio é estabelecido entre as bactérias que vivem na interface implante/pilar e o hospedeiro(11).

Apesar do desenvolvimento de novos desenhos de conexões entre o implante e o componente protético, estudos mostraram que nenhum desenho de conexão proposto até os dias de hoje foi totalmente efetivo na tentativa de impedir o fluxo de bactérias para o interior dos implantes de dois estágios através da junção implante/pilar, e nem mesmo os elementos de vedação utilizados até hoje conseguiram atingir o objetivo de bloquear por completo a infiltração de microrganismos, apesar de alguns terem trazido considerável melhora do selamento (19, 20)^{(21),(22)}. O presente estudo busca uma nova solução, através do uso do dimetacrilato, um material que ainda não foi testado com relação ao seu poder de vedação.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Infiltração na interface implante/componente protético

A investigação da colonização bacteriana da região periimplantar iniciou-se concomitantemente à disseminação dos implantes osseointegrados como ferramenta de reabilitação oral, na década de 1980.

O sucesso do tratamento reabilitador com implantes depende de uma integração estável entre os tecidos ósseo, conjuntivo e epitelial. O espaço biológico formado ao redor de implantes de estágio único, em que a interface implante/componente situa-se distante do osso no sentido vertical, foi avaliado em um estudo com 69 implantes, e mostrou-se que, tanto nos implantes que já estavam em função por um período de 12 meses, quanto nos implantes que ainda não haviam sido carregados, a formação do espaço biológico ocorreu de modo que as dimensões e o relacionamento dos tecidos epitelial e conjuntivo foram semelhantes aos que temos em dentes naturais. Ao redor dos implantes, fibras circulares foram identificadas no tecido conjuntivo, e o epitélio juncional mostrou-se mais longo e sempre migrando para um nível abaixo da junção implante/pilar, não havendo diferença entre os implantes com carga e sem carga(5).

Estes mesmos autores repetiram o estudo alguns anos depois, utilizando-se, nesta ocasião, de implantes do tipo *platform switching*, instalando-os bilateralmente em cães, de três maneiras: ao nível da crista óssea, 1 mm apicalmente à crista e 1 mm acima da crista, com técnica submersa de um lado e com técnica não submersa do outro. Foi dimensionado o espaço biológico, e constatou-se que não houve diferença entre os submersos e os não submersos, e quanto ao posicionamento cérvico-apical, o mesmo não influenciou na dimensão do tecido conjuntivo especificamente, mas influenciou na altura total do espaço biológico e também do epitélio juncional, os quais foram significativamente maiores quando o implante foi posicionado ao nível da crista ou 1 mm abaixo da crista. Os autores afirmam que a constatação mais importante deste estudo é o fato de o tecido conjuntivo ficar em contato direto com a interface da conexão, o que não ocorre em implantes de plataforma coincidente. Eles especulam que este selamento serviria de barreira à

colonização bacteriana, prevenindo assim a inflamação do tecido mole adjacente que estes microrganismos ocasionam, e consequentemente a saucerização do osso(4).

Um estudo histológico desenvolvido em animais mostrou que o infiltrado inflamatório (ICT) está presente mesmo em tecidos clinicamente saudáveis, na altura da junção pilar/implante. O ICT mostrou-se presente mesmo nos implantes que receberam controle de placa(7).

Outro estudo histológico realizado em cães avaliou a distribuição e a densidade do infiltrado inflamatório circundante aos implantes segundo a altura em que foi estabelecida a interface de conexão (subcrestal, crestal ou supracrestal), e constatou que as células inflamatórias (neutrófilos, macrófagos, linfócitos, monócitos) se concentram em uma altura coincidente ou imediatamente coronal à interface. O dado mais relevante fornecido por este estudo é que o posicionamento da junção em relação à crista óssea influenciou significativamente a qualidade do acumulado inflamatório; quanto mais profunda estiver localizada a interface, mais aumenta progressivamente o número de neutrófilos. Paralelamente, a dimensão ápico-coronal do tecido conjuntivo também se expande, quanto mais profunda está localizada a interface. Os autores afirmam, ainda, que o acúmulo de células inflamatórias abaixo da crista óssea original está diretamente relacionado com a perda óssea média de 1mm que foi observada neste estudo(11).

Pacientes parcialmente edêntulos, que foram reabilitados com próteses fixas implantossuportadas do sistema Branemark®, foram incluídos em um estudo que avaliou a microbiota da superfície dos componentes que estavam em função por um período mínimo de 1 ano, através de microscopia, imunoquímica e métodos de cultura. Os microrganismos encontrados no grupo periodontalmente saudável foram predominantemente células cocóides, enquanto que no grupo dos implantes que apresentavam sítios de insucesso foi possível observar uma maior diversidade morfológica dos microrganismos, como espiroquetas, bactérias fusiformes, bem como células móveis e bacilos curvos, em proporções substancialmente maiores do que no grupo saudável. A quantidade de bactérias Gram-negativas anaeróbias também foi bastante superior no grupo de sítios de insucesso. Os autores

concluíram que os mesmos microrganismos associados com sítios de doença periodontal estão presentes também em sítios de doença periimplantar(13).

Em 1993, mais um estudo foi publicado pelo mesmo grupo de autores salientando que as bactérias envolvidas em processos de doença periimplantar são as mesmas encontradas em processos de doença periodontal, e que diversos fatores podem afetar as condições de saúde dos tecidos adjacentes aos implantes na fase inicial de osseointegração, podendo a colonização bacteriana ocorrer como um fenômeno secundário quando a osseointegração não é conseguida ou é perdida por motivos não microbiológicos(14).

Em 1993, um estudo *in vivo* foi realizado a fim de investigar a presença de microrganismos na porção interna de implantes osseointegrados, em 9 voluntários que já possuíam implantes em função há pelo menos 2 anos, sem histórico de perda óssea marginal, e com boa saúde geral. A parte apical do parafuso de retenção de pilares protéticos, os quais foram instalados em condições livres de microrganismos e permaneceram 3 meses em função, foi examinada através de microscopia diferencial de contraste de fases. Todos os parafusos apresentaram uma significativa quantidade de microrganismos, principalmente células com morfologia de cocos (86,2%), além de bacilos não móveis, microrganismos móveis e espiroquetas, levando à conclusão de que provavelmente se originaram de uma penetração de fluido entre o pilar e a plataforma do implante. Quirynen et al. considera que a contaminação por sangue ou fluido crevicular é possível mas foi reduzida ao mínimo através de uma seleção de pacientes sem problemas periodontais, de irrigação do compartimento com digluconato de clorexidina a 2%, e de ótima sucção. Além disso, os autores afirmaram que, em microbiologia, é geralmente aceito que o fechamento hermético de um compartimento pequeno automaticamente levaria à morte de todos os microrganismos, especialmente após um período de meses(10).

O mesmo autor, um ano depois, publicou um estudo *in vitro*, que afastou a possibilidade de estes microrganismos serem oriundos de contaminação no ato da instalação do pilar protético, além de comprovar que as duas vias - a interface e o parafuso de retenção - permitem a penetração dos microrganismos. Foi demonstrado, em 32 conjuntos implante/pilar unidos com torque de 10N em

condições totalmente estéreis, que a inserção em meio contaminado por sete dias em condições de anaerobiose culminou com a presença de infiltrado bacteriano na porção interna do implante em todos eles. Os 32 conjuntos haviam sido divididos em um grupo parcialmente imerso (apenas a interface entre pilar e implante) e outro grupo totalmente imerso (incluindo a interface entre pilar e implante, e o parafuso de retenção do pilar), sendo que cada grupo foi ainda subdividido, metade com a porção interna molhada e metade com a porção interna seca, totalizando 4 grupos. Com essa subdivisão, o autor mostrou ainda que quando há umidade, a proliferação bacteriana no interior do implante é maior. Foi sugerido, ainda, que talvez um melhor desenho de pilar poderia prevenir a infiltração microbiana, como por exemplo o pilar de conexão cônica do sistema de implante da Astra®(9).

Dez pacientes com próteses do sistema Branemark em função por um período entre 1 a 8 anos e mucosa periimplantar com aspecto de saúde em sua maioria, foram examinados e após a soltura do componente foram realizadas coletas da porção interior de 28 implantes, com o objetivo de se investigar os microrganismos presentes no local. Amostras duplicadas foram incubadas em anaerobiose por 7-8 dias e também em aerobiose por 3-5 dias. Baseado no número de UFCs (unidades formadoras de colônia) nas amostras, o crescimento foi classificado em esparso, moderado, pesado e muito pesado. Em todas as amostras microbiológicas da superfície interna dos implantes, o crescimento foi pesado ou muito pesado, e a microbiota foi composta principalmente de anaeróbios e facultativos, gram-positivos e gram-negativos, com grande variação entre os indivíduos. Não foi verificada nenhuma relação entre o tempo de função, o tipo e comprimento do pilar, estabilidade do pilar, e o tipo e número dos microrganismos, e a perda óssea marginal(2).

2.2 Vedação de outras vias de infiltração

Uma vez comprovado que existem as duas vias de penetração, a importância de se promover também uma vedação sobre o acesso do parafuso passante do pilar, após a aplicação do torque do mesmo, ganhou importância.

Um estudo publicado em 2012 discutiu este assunto, através da comparação *in vitro* de quatro diferentes materiais de selamento, e com ciclagem mecânica. Os materiais experimentados foram: bolinha de algodão (Richmond Dental, Charlotte, NC), material à base de silicone (EZ Seal, MegaGen, Kiungsan, Korea), vinilpolisiloxano (Regisil Rigid, Dentsply Caulk, Milford, Del), e guta-percha (Dia-Pro, DiaDent, Cheongju, Korea). Os materiais mais efetivos na redução da infiltração por esta via foram a guta-percha e o vinilpolisiloxano, respectivamente, e sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Os outros dois materiais mostraram um desempenho inferior, sendo a bolinha de algodão o pior deles. Nenhum dos quatro materiais foi capaz de impedir a penetração dos microrganismos(23).

O uso da fita de politetrafluoretileno (PTFE) foi descrito em um protocolo publicado em 2010, em que os autores defendem o uso do material para a vedação desta mesma via de penetração, devido à vantagens como: 1) a capacidade de ser esterilizado, enquanto os outros descritos em literatura não podem ser; 2) sua facilidade de manipulação; 3) sua facilidade de remoção; 4) sua facilidade de condensação; 5) boa proteção e selamento do acesso do parafuso(24).

Um estudo avaliou a importância do uso da clorexidina a 0,2% previamente à instalação do pilar, e constatou que, embora tenha um papel interessante no que diz respeito ao impedimento da colonização imediata, não consegue impedir uma colonização secundária, decorrente do fluxo bidirecional que fatalmente ocorre na interface da conexão pilar/implante(25).

Piattelli et al.(26) compararam a penetração de fluido e microrganismos nos dois diferentes sistemas, de próteses unitárias cimentadas e parafusadas, utilizando-se de 24 implantes divididos nos dois grupos igualmente, e avaliando os resultados em três passos: microscopia eletrônica de varredura, análise da penetração de fluidos, e análise da infiltração de microrganismos. Na microscopia, 4 pontos distintos foram medidos nas respectivas interfaces, e a média foi calculada para cada implante. Na análise de penetração de fluido, após imersão dos conjuntos em recipiente de vidro contendo azul de toluidina a 37°C por 30 horas, e lavagem por 10 minutos em água corrente, foi pesquisada a presença do corante na porção interna do implante. Na análise da infiltração de microrganismos, foi selecionada a espécie *Pseudomonas aeruginosa* para a pesquisa, e os conjuntos foram imersos

em solução nutritiva contendo a bactéria, em um agitador de 60 ciclos por minuto a 37°C por 72 horas, e posteriormente a cultura foi realizada para a contagem de UFCs (unidades formadoras de colônias). O estudo concluiu que nas próteses cimentadas a penetração é significativamente inferior à penetração nas próteses parafusadas, quando não existe dissolução do cimento. Os autores reforçam que, estudos *in vivo* devem ser realizados a fim de verificar se, com a dissolução do cimento os nichos resultantes serão colonizados, igualando os dois tipos em longo prazo.

2.3 Estudos comparativos de selamento da interface das diversas conexões

Um experimento realizado por Jansen et al.¹⁷, envolvendo 13 diferentes combinações de interface implante/pilar de nove marcas comerciais (Astra, Ankylos, Bonelit, Branemark, Calcitek, Frialit-2, Ha-Ti, IMZ e Semados) estudou a infiltração bacteriana, bem com as dimensões da fenda implante/pilar através de microscopia eletrônica. Na primeira etapa do estudo, 0.5µl de uma suspensão de *Escherichia coli* foi inoculada no interior de cada implante antes do assentamento do pilar, sendo todo o processo efetuado sob condições estéreis, e colocando-se então cada conjunto em um tubo teste contendo solução nutritiva, e armazenando-os a 37°C. O acompanhamento das possíveis infiltrações bacterianas foi examinado nos dias 1, 3, 5, 7, 10 e 14, sendo que todas as amostras apresentaram contaminação já no primeiro dia, inclusive os conjuntos de interface cônica, com exceção do Frialit-2, de interface hexagonal com um anel de silicone, que apresentou contaminação a partir do 5º dia. A proporção de amostras infiltradas variou de 38% a 100% nos 12 demais grupos, enquanto no grupo do Frialit-2 com o anel de silicone apenas 16% das amostras teve contaminação ao final do período de 14 dias. Os resultados evidenciaram que nenhum sistema poderia prevenir seguramente a infiltração microbiana, ressaltando uma necessidade de se aprimorar o selamento da interface de união do implante com o componente protético. Na segunda etapa do estudo, em que foram mensuradas as microfendas da conexão, as medidas variaram de 1 a 12µm, sendo a média de todos os sistemas analisados inferior a 5µm.

A geometria da conexão passou a ser apontada como um fator que influencia o grau da colonização bacteriana, e muitos estudos foram desenvolvidos com o intuito de comparar a infiltração em diversos sistemas, com diferentes metodologias.

Mais um estudo que se propôs a fazer uma comparação entre 3 diferentes grupos de implantes com conexão interna reforçou a afirmação de que a geometria da conexão pode refletir nos riscos potenciais de infiltração na interface implante/pilar. Com o uso de 30 implantes divididos igualmente em 3 grupos, os conjuntos conectados com o torque recomendado pelo fabricante foram mergulhados em uma solução contendo *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* sob condições estéreis e anaeróbias, incubadas a 37C°, por 5 dias. Após a soltura dos conjuntos, as amostras foram coletadas das roscas dos pilares com um *swab* e plaqueadas para o cultivo durante 7 dias (para *A.aActinomycetemcomitans*) e 2 dias (para *P. gingivalis*), também incubadas a 37C°. O grupo 1 (de conexão cônica) teve melhor desempenho com nenhum implante contaminado por *P. gingivalis* e apenas 3 contaminados por *A. actinomycetemcomitans*. O grupo 2 (de igual conexão, em que foi produzido um sulco com broca na porção cônica) teve todos os implantes contaminados por ambas as bactérias, e o grupo 3 (de conexão interna com 3 canais), teve 9 de 10 implantes contaminados por ambas as bactérias estudadas(27).

Assenza et al.(28) com uma metodologia muito semelhante e utilizando também 30 implantes, compararam três tipos de conexões, sendo uma parafusada trilobulada, uma cimentada, e uma cônica. Foram utilizadas duas bactérias com tamanhos distintos: *P. aeruginosa* e *A. actinomycetemcomitans*, que foram inoculadas no interior do implante antes de serem conectados os pilares. Foram então imersos em solução nutritiva por 28 dias, e a turbidez da solução foi observada, sendo feito o cultivo das amostras que apresentaram tal característica. Não foi detectada contaminação nenhuma no grupo de conexão cimentada, enquanto seis de dez amostras foram contaminadas no grupo de conexão parafusada trilobulada, e uma de de amostras foi contaminada no grupo de conexão cônica, sendo que este último aconteceu de maneira mais tardia (no 22º dia do estudo).

Em 2010, um estudo *in vitro* confrontou dois sistemas de conexão cônica (Bicon, Bicon Dental Implant e Ankylos, Dentsply-Friadent), com seus respectivos pilares manufaturados esterilizados, com torques de 25N e também os recomendados pelos fabricantes. Os vinte conjuntos foram inoculados com suspensão de *S. sanguinis*, bactéria conhecida por aderir mais ao titânio do que as outras bactérias orais, e imersos em solução nutritiva a 37°C em condições anaeróbicas durante 14 dias. Completado o período, amostras da solução foram cultivadas por 48 horas em anaerobiose, e 20% das amostras de cada grupo mostrou ter sido contaminada pelo fluxo via interface. Isso aponta um baixo nível de infiltração em ambos os sistemas de conexão cônica(29).

Jaworski et al.(30) realizaram um experimento *in vitro* com 12 implantes de hexágono externo e 12 implantes de conexão cônica que também demonstrou a superioridade do selamento da conexão cônica. Todos os implantes foram perfurados na porção apical até que se atingisse a câmara interna, e os pilares foram instalados de acordo com a recomendação do fabricante. Os conjuntos foram fixados à tampa de silicone de um tubo de vidro, dentro do qual foi colocada BHI (*brain-heart infusion*), o orifício foi fechado com camada tripla de resina e o conjunto todo foi esterilizado. Pelo orifício apical foi inoculada a mesma infusão contendo *E. coli*, e o conjunto foi incubado a 37°C e observado durante 28 dias. Após abertos os conjuntos, as amostras foram obtidas com um *swab* esterilizado e postas em meio de cultura apropriado. O grupo de hexágono externo demonstrou maior crescimento bacteriano (6 de 10 amostras), enquanto o de conexão cônica demonstrou menor crescimento (3 de 10 amostras), e mais dias de demora para o turvamento do líquido BHI. Embora não tenha resultado em diferença estatisticamente significativa entre os grupos, os autores deixam claro que a conexão cônica apresenta um melhor selamento e uma capacidade de adiar e/ ou minimizar a infiltração dos microorganismo.

Em 2013, publicou-se mais um importante estudo onde foi analisada a ocorrência de infiltração, tanto do interior para o exterior, como do exterior para o interior do implante, de três espécies bacterianas (*Streptococcus sanguinis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinomyces odontolyticus*), e também de duas espécies de fungos (*Candida albicans* e *Candida glabrata*) em implantes osseointegrados com diferentes geometrias de interface implante/pilar, e

subdivididos em dois diferentes torques aplicados. Na primeira fase, de cada uma das 7 marcas de implantes, todas de conexão cônica, duas unidades foram conectadas aos pilares com torque recomendado pelo fabricante em condições estéreis, e mais 2 unidades foram conectados aos pilares com torque de 5N também em condições estéreis, e todos eles foram mergulhados em solução nutritiva contendo os microrganismos por sete dias. O mesmo foi feito com 6 implantes de hexágono externo, sendo 2 de cada uma das 3 marcas conectados com torque recomendado pelo fabricante, e 2 de cada uma das 3 marcas conectados com torque de 5N. Todos os implantes e pilares foram desconectados e as amostras cultivadas. Na segunda fase, a parte interna de cada implante foi inoculada com 0,1 mL de solução contendo bactérias e depois conectados com seus respectivos pilares, seguindo a mesma divisão em subgrupos de diferentes torques, e todos foram mergulhadas em solução nutritiva, incubados a 37°C por 7 dias. Após o cultivo, notou-se que os grupos de conexão cônica foram mais resistentes à colonização que os grupos de conexão hexagonal, e que mesmo a *C. albicans* e a *C. glabrata* conseguem colonizar o interior dos implantes. Em congruência com os trabalhos citados anteriormente, concluiu-se que a geometria da interface implante/pilar influencia na colonização bacteriana nos implantes, bem como o valor do torque usado para conectar os pilares aos implantes(31).

A superioridade das conexões cônicas foi evidenciada nos referidos trabalhos. Entretanto, nem as conexões cônicas se mostram capazes de impedir o trânsito de microrganismos. E até mesmo quando comparadas conexões cônicas de marcas comerciais distintas, resultados significativamente diferentes de infiltração são encontrados, como por exemplo no modelo experimental com ciclagem mecânica em que Koutouzis et al estudaram a infiltração de *E. Coli* via interface de implantes de conexão cônica sem indexador e conexão cônica com indexador(32).

2.4 Tentativas prévias de vedação da interface implante/componente protético

Em paralelo aos estudos que comparavam marcas e desenhos de conexões implante/pilar, estudos de tentativa de vedação começaram a ser também

desenvolvidos, na esperança de se conseguir um bloqueio completo do trânsito bilateral de microrganismos por meio da associação de materiais variados.

Rimondini et al.(22) conduziram um estudo clínico com o objetivo de tentar vedar a interface de implantes Frialite-2, utilizando-se de 17 implantes que foram instalados em 7 pacientes, e foram divididos entre grupo controle (sem vedação) e grupo experimental (com um anel de silicone interposto na interface). Foi aplicado um torque de 20N, e feito um acompanhamento de 2 meses com uma coroa acrílica temporária em função, e então foram removidos os parafusos de retenção do pilar de todos os implantes, e substituídos por novos parafusos. Os parafusos retirados foram fixados, desidratados e submetidos a uma análise em microscopia eletrônica, segundo uma divisão em 3 porções (apical, média e coronal), e com uma subdivisão em 5 campos para cada porção, avaliando-se a presença e ausência de microrganismos. Houve uma diferença significativa entre os grupos no número de microrganismos observados, com 7 parafusos contaminados de um total de 9 no grupo controle, e 2 de um total de 8 no grupo experimental. Mesmo com coroas cimentadas provisoriamente sobre os pilares, a infiltração não foi bloqueada(22).

Um método de vedação com guta-percha interposta na conexão pilar/implante no ato da instalação do pilar foi avaliada por Proff et al.(21) em um experimento que utilizou de 12 implantes, 6 com vedação e 6 sem vedação, que foram mergulhados em solução nutritiva contendo *P. gingivalis*, e de cada grupo, 3 conjuntos foram desconectados após decorridas 24 horas, e outros 3 foram desconectados após decorridas 72 horas. Todos os grupos de amostras coletadas e cultivadas em agar Schaedler com 5% de sangue de carneiro, e apresentaram crescimento das colônias da bactéria. Após 72 horas o crescimento foi mais intenso do que com 24 horas, mostrando que o selamento com guta-percha não é seguro.

Um experimento compreendido por duas tentativas de vedação foi desenvolvido com três grupos, de 15 implantes cada, todos idênticos. As amostras foram subdivididas, sendo uma sem vedação, outra com interposição de um O-ring na conexão e outro com a interposição de um gel de vedação antibacteriano denominado GapSeal na conexão, em condições totalmente estéreis, e foram mergulhados em solução nutritiva contendo enterococos durante 5 dias. Após este período, os conjuntos foram colocados em hipoclorito de sódio a 2% durante 30

minutos, e lavados em solução salina por 5 minutos antes de serem abertos. As amostras coletadas do interior dos implantes foram cultivadas em placas e incubadas por 24 horas, e as UFCs (unidades formadoras de colônia) foram contadas com aparelho digital de contagem. Colônias cresceram nos três grupos, sendo o grupo do Gapseal o que teve o melhor desempenho, com menor proliferação, seguido do grupo do O-ring e do grupo sem vedação, respectivamente⁽²⁰⁾.

A eficácia da interposição de uma placa de silicone, empregada em medicina, na tentativa de vedar a interface pilar/implante foi avaliada através de um estudo publicado em 2014. Pimentel et al. selecionaram 22 implantes de hexágono externo de 14 pacientes que já possuíam a prótese aparafusada em função entre 2 a 36 meses. Foram realizadas coletas antes, 30 dias após e 90 dias após a instalação desta membrana. As amostras foram submetidas à técnica do PCR convencional, com iniciadores específicos para quatro patógenos periodontais: *P. gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. No dia 0, 48% das amostras apresentou pelo menos uma das bactérias pesquisadas; no dia 30, 33% das amostras apresentou pelo menos uma das bactérias; no dia 90, 27% das amostras apresentou pelo menos uma das bactéria. Através da análise de positividade e negatividade nas amostras, os autores constataram que a membrana de silicone promoveu uma redução da penetração dos microrganismos, mas não conseguiu impedir tal infiltração⁽¹⁹⁾.

O sucesso do tratamento reabilitador com implantes depende de uma integração estável entre os tecidos ósseo, conjuntivo e epitelial. O espaço biológico formado ao redor de implantes de estágio único, em que a interface implante/componente situa-se distante do osso no sentido vertical, foi avaliado por Cochran et al., em um experimento com 69 implantes, em que demonstraram que, tanto nos implantes que já estavam em função por um período de 12 meses, quanto nos implantes que ainda não haviam sido carregados, a formação do espaço biológico ocorre de modo que as dimensões e o relacionamento dos tecidos epitelial e conjuntivo são semelhantes aos que temos em dentes naturais. Ao redor dos implantes, fibras circulares foram identificadas no tecido conjuntivo, e o epitélio juncional mostrou-se mais longo e sempre migrando para um nível abaixo da junção implante/componente, não havendo diferença entre os implantes com carga e sem carga⁽⁵⁾.

Estes mesmos autores repetiram o estudo alguns anos depois, utilizando-se, nesta ocasião, de implantes do tipo *platform switching*, instalando-os bilateralmente em cães, de três maneiras: ao nível da crista óssea, 1 mm apicalmente à crista e 1 mm acima da crista, com técnica submersa de um lado e com técnica não submersa do outro. Foi dimensionado o espaço biológico, e constatou-se que não houve diferença entre os submersos e os não submersos, e quanto ao posicionamento cervico-apical, o mesmo não influenciou na dimensão do tecido conjuntivo especificamente, mas influenciou na altura total do espaço biológico e também do epitélio juncional, os quais foram significativamente maiores quando o implante foi posicionado ao nível da crista ou 1 mm abaixo da crista. Os autores afirmam que a constatação mais importante deste estudo é o fato de o tecido conjuntivo ficar em contato direto com a interface da conexão, o que não ocorre em implantes de plataforma coincidente. Eles especulam que este selamento serviria de barreira à colonização bacteriana, prevenindo assim a inflamação do tecido mole adjacente que estes microrganismos ocasionam, e consequentemente a saucerização do osso(4).

Em 2001, foi publicado um estudo em que se comparou três métodos de detecção de microrganismos, sendo eles o PCR Real Time, o PCR convencional e a cultura, para as seguintes espécies coletadas da saliva e da placa subgengival: *A. actinomycetemcomitans*, *B. forsythia* (atualmente denominada de *T. forsythia*), *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. socranskii*. Os autores encontraram boa concordância entre os resultados do PCR Real Time e do PCR convencional para todas as amostras analisadas; entretanto o tempo foi reduzido de 4 horas para 40 minutos com o uso da técnica de PCR Real Time, e a sua quantificação foi completada dentro do mesmo intervalo, revelando a sua superioridade(33).

A técnica de PCR Real Time passou a ser considerada altamente sensível por ser capaz de detectar rapidamente, em tempo real, quantidades muito pequenas de DNA, tanto de microrganismos viáveis como de microrganismos não viáveis. O limite de detecção da técnica é de aproximadamente 10^2 cópias de DNA, o que a torna mais precisa e mais adequada que os outros métodos disponíveis(34)(35)(36).

Diante das diversas tentativas já descritas na literatura, e que não obtiveram sucesso pleno de vedação, foi escolhido, para o presente estudo, um material ainda não experimentado em odontologia, mas que contém todas as características necessárias e requisitos apropriados para um novo experimento. O dimetacrilato é um adesivo industrial para pequenas superfícies roscadas, e o protocolo criado neste estudo para o melhor aproveitamento do material encontra-se descrito adiante.

3 PROPOSIÇÃO

Considerando que a literatura não oferece métodos eficazes no bloqueio da infiltração na interface de união do pilar protético com o implante, o objetivo deste estudo *in vivo* foi analisar se o dimetacrilato, adesivo industrial indicado para o travamento das superfícies roscadas seria capaz de promover uma vedação completa, através da determinação da presença ou ausência de bactérias na porção interna do implante, após colocar-se a prótese em função por 90 dias.

A hipótese alternativa foi que o vedante proposto neste estudo fosse capaz de impedir a infiltração bacteriana pela interface de união implante/componente protético.

4 CASUÍSTICA

4.1 Seleção dos Pacientes

Após obtida a aprovação deste estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, que ocorreu em 29/06/2012, registrada no Parecer de número 47826, foram selecionados 20 pacientes que tiveram um ou mais implantes *plataform switching* instalados ao nível ósseo em mandíbula ou maxila. Os pacientes estiveram cientes do experimento e assinaram voluntariamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

4.2 Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos na pesquisa pacientes de ambos os sexos, com implantes Bone Level® Straumann já instalados, e com indicação para restauração protética cimentada.

Foram excluídos da pesquisa pacientes que apresentaram no momento pré-protético:

- Doença periodontal ativa em qualquer região da boca;
- Condições sistêmicas que afetam a microbiota oral ou provoquem xerostomia, tal como síndromes ou patologias locais das glândulas salivares.

4.3 Divisão dos Grupos

O total de pacientes selecionados foi dividido igualmente em dois grupos, da seguinte forma:

- Grupo Controle: 10 pacientes receberam o pilar cimentável pré-selecionado, com o torque recomendado pelo fabricante, de 35N.
- Grupo Experimental: 10 pacientes receberam o pilar cimentável pré-selecionado, com o torque recomendado pelo fabricante, de 35N, adicionado do dimetacrilato na interface de união do implante com o pilar.

Tabela 4.1 - Distribuição das amostras

GRUPO	AMOSTRA	GÊNERO	REGIÃO	IMPLANTE
CONTROLE (SEM ADESIVO)	C1	M	47	RC 4.1x10
	C2	H	46	RC 4.8x12
	C3	M	46	RC 4.1x8
	C4	M	35	NC 3.3x10
	C5	M	24	RC 4.1x10
	C6	M	15	RC 4.1x10
	C7	H	15	RC 4.1x12
	C8	H	11	NC 3.3x12
	C9	M	24	NC 3.3x12
	C10	M	14	NC 3.3x10
EXPERIMENTAL (SEM ADESIVO)	E1	M	45	RC 4.8x10
	E2	M	16	RC 4.8x8
	E3	M	14	RC 4.1x12
	E4	M	46	RC 4.8x8
	E5	H	14	RC 4.1x10
	E6	H	12	RC 4.8x10
	E7	M	35	NC 3.3x12
	E8	H	24	NC 3.3x10
	E9	M	24	RC 4.1x12
	E10	M	26	RC 4.1x8

5 ADESIVO

5.1 Descrição do Produto

A escolha do produto *LOCTITE® 277*(37) para este estudo foi realizada a partir de uma investigação sobre adesivos industriais, sendo este o mais indicado para o uso em uma conexão bastante pequena com parafusos de 2 mm, com a capacidade de manter a eficiência desta conexão após cura e torque de aperto(37).

O adesivo possui em sua composição quatro substâncias, em proporções descritas no quadro 5.1.

Hazardous components	CAS NUMBER	%
Polyglycol dimethacrylate	25852-47-5	30 - 60
Bisphenol A fumarate resin	39382-25-7	30 - 60
Cumene hydroperoxide	80-15-9	1 - 5
Saccharin	81-07-2	1 - 5

Quadro 5.1 – Composição do adesivo industrial(37)

No quadro 5.2 observam-se suas características físicas e químicas.

Tecnologia	Acrílica
Base Química	Éster Dimetacrilato
Aparência (não curado)	Líquido Vermelho
Fluorescência	Positiva sob luz U.V.
Componentes	Monocomponente – não requer mistura
Viscosidade	Média
Cura	Anaeróbica
Cura Secundária	Ativador
Aplicação	Trava Roscas
Resistência	Alta

Quadro 5.2 - Características do adesivo industrial(37)

A *Loctite*® 277 é indicada para o travamento e vedação permanente de superfícies rosqueadas. É um produto monocomponente de alta viscosidade e que apresenta alta resistência à desmontagem ou contratorque. O produto cura quando confinado entre superfícies metálicas e na ausência de oxigênio, e evita o afrouxamento e vazamento originados por impacto e vibração, ambiente este encontrado nas conexões cone morse de implantes odontológicos.

A *LOCTITE*® 277 é testada de acordo com os requisitos da Norma Militar Mil-S-46163A., ASTM D5363 e apresenta os seguintes desempenhos no quadro 5.3:

Torque de Quebra, ISO 10964	Porcas e parafusos M10: 32 N.m
Torque Residual, ISO 10964	Porcas e parafusos M10: 32 N.m
Torque de Quebra, ISO 10964	Pré-Torque de 5 N.m: porcas e parafusos M10: 38 N.m
Máximo Torque Residual, ISO 10964	Pré-Torque de 5 N.m: porcas e parafusos M10: 40 N.m
Resistência Axial, ISO 10123	Pinos e colares de aço N.mm2 $\geq 9\text{LMS (psi)}$ (≥ 1300)

Quadro 5.3 - Desempenho do *Loctite*® 277 em Resistência. Produto curado após 24 horas em 22°C(37)

5.2 Aplicação

Especialmente indicado para aplicações de travamento e vedação de parafusos e prisioneiros (M25 e menores).

5.3 Biocompatibilidade

Para verificar se o paciente estaria em segurança durante o uso do material, foi feita uma investigação detalhada de suas propriedades químicas e toxicológicas, a partir do MSDS (Material Safety Data Sheet)⁽³⁸⁾, conhecido no Brasil como FIPSQ (Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico), um formulário contendo dados relativos às propriedades de uma determinada substância. Este documento é um importante componente da segurança do trabalho que fornece a trabalhadores e pessoal de emergência os procedimentos para a manipulação de substâncias de maneira segura, e inclui informações como dados físicos (exemplo: ponto de fusão, ponto de ebulição), toxicidade, efeitos sobre a saúde, primeiros socorros, reatividade, armazenamento, eliminação, equipamento de proteção, manipulação e descarte⁽³⁹⁾.

O FIPSQ do produto *Loctite 277®* foi também comparado ao FIPSQ do pó e do líquido da resina acrílica *Alike®*, uma resina amplamente utilizada na odontologia há muitos anos, em contato direto com os tecidos da cavidade oral, uma vez que ambos os produtos são metacrilatos. Neste comparativo, foi constatado que o adesivo apresenta características de toxicidade similares ao desta resina acrílica. A identificação de potenciais riscos, precauções de manuseio e armazenamento, medidas de controle de exposição e recomendação de proteção pessoal dos dois produtos se assemelham.

Além disto os dois principais componentes do produto, o poliglicol dimetacrilato e a resina de Fumarato de Bisphenol A (BPA), foram investigados individualmente.

O poliglicol dimetacrilato é um polímero de adição, formado por uma cadeia polimérica gigante em que tecnicamente todas as unidades monoméricas repetitivas se unem. É um material quimicamente estável devido à sua estrutura tridimensional⁽⁴⁰⁾.

A maioria das resinas empregadas em odontologia é polimerizada segundo este mesmo princípio de adição de monômeros, e os processos de polimerização são ativados por três fontes de energia: calor, química e luz.

Com relação ao BPA, a exposição aos tecidos vivos vêm sendo avaliada com foco principal na ingestão, através do revestimento de resina usado em embalagens de alimentos enlatados, garrafas de polycarbonato, filmes de PVC; entretanto outros focos como a absorção através da pele e a inalação, tanto ocupacional, como no ar comum, como nos filtros de cigarro (em que o BPA pode estar presente com até 25% de participação na composição) também são estudados, uma vez que foi encontrado BPA em papel higiênico, em rolos de papel de bobinas de impressão, na água (devido ao uso de resina epóxi no forro de encanamentos), entre outras fontes. É conhecido que o BPA é rapidamente excretado na urina, e é através deste exame que se mede a concentração nos indivíduos, embora este não seja um método capaz de mensurar os efeitos cumulativos no corpo humano. Embora o BPA esteja presente em vários polímeros usados rotineiramente em variadas aplicações, os autores ressaltam que nem todas as fontes de BPA são identificadas, e nem todos os tipos de exposição estão sendo estudados ainda, e sugerem que mais estudos sejam feitos acerca dos diversos tipos de exposição(41).

Atualmente, a tolerância diária de ingestão de BPA (Bisphenol A Fumarate Resins) é de 0.05 g de BPA/kg de massa corporal(42).

As informações toxicológicas contidas na FIPSQ do *Loctite 277®* demonstram que seria necessária uma quantidade muito superior à que será utilizada na metodologia deste estudo, para que existissem os riscos citados. Isto foi constatado a partir de testes na cavidade oral de ratos, e também a partir de testes na derme de coelhos, conforme pode ser observado abaixo, no quadro 5.4.

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION	
Acute oral product toxicity:	LD50 (rat) > 5,000 mg/kg (Estimated)
Acute dermal product toxicity:	LD50 (rabbit) > 2,000 mg/kg (Estimated)
Toxicologically synergistic products:	Not available

Quadro 5.4 - Informação Toxicológica do *Loctite® 277*(38)

É possível verificar, no quadro 5.5, que nenhum dos componentes do produto tem ação carcinogênica.

Componentes perigosos Loctite® 277	Programa nacional de Toxicologia (NTP-EUA)	Agência Internacional de Pesquisa ao Câncer (IARC-EUA)	Administração da segurança e saúde ocupacional (OSHA- EUA)
Poliglicol dimetacrilato, 30-60%	Não	Não	Não
Resina de fumarato de bisfenol A, 30-60%	Não	Não	Não
Hidropéroxido de cumeno, 1-5%	Não	Não	Não
Sacarina, 1-5%	Não	Não	Não

Quadro 5.5 - Avaliação da carcinogenicidade dos componentes do *Loctite® 277*(38)

No quadro 5.6, observa-se que tanto a *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) como a *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA), consideram que não é necessário o uso de nenhum equipamento de proteção para manusear nenhum dos quatro componentes do adesivo. Apenas a *American Industrial Hygiene Association®* (AIHA) considera que, acima de 1ppm (6mg/m³) existe a necessidade do uso de equipamento de proteção.

Hazardous components	ACGIH TLV	OSHA PEL	AIHA WEEL	OTHER
Polyglycol dimethacrylate	None	None	None	None
Bisphenol A fumarate resin	None	None	None	None
Cumene hydroperoxide	None	None	1 ppm (6 mg/m ³) TWA (SKIN)	None
Saccharin	None	None	None	None

Quadro 5.6 - Avaliação do controle de exposição / necessidade de proteção pessoal(38)

Deve ser ressaltado que o produto foi aplicado na porção indexadora do componente protético, que se situa na porção mais apical e que se conecta no interior do implante, e não diretamente nos tecidos da cavidade oral, seguindo um protocolo que minimizou ao máximo a chance de ocorrer extravasamentos para os tecidos periimplantares. E ainda que tenha ocorrido um mínimo extravasamento, esta quantidade foi certamente muitas vezes inferior à quantidade necessária para despertar os riscos de irritação e reação alérgica a estes tecidos.

6 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo recebeu a aprovação do Comitê de Ética, que foi gerado através da Plataforma Brasil (ANEXO A), e foi desenvolvido na clínica da FFO-FUNDECTO USP, de acordo com a autorização da diretoria da instituição (ANEXO B).

Todos os pacientes selecionados receberam a instalação do mesmo tipo de implante de conexão cônica com indexador de 4 faces (Bone Level® Straumann, Institut Straumann AG – Waldenburg – Suíça), de acordo com o desenho da figura 6.1 de diâmetro regular (4.1mm), largo (4.8) ou estreito (3.3mm), e de comprimento variável entre 8 e 12 mm.

O mesmo operador realizou a instalação dos implantes ao nível da crista óssea, e também dos pilares protéticos em todos os pacientes.

Figura 6.1 – Implante *Bone Level® Straumann*

Esses pacientes receberam uma restauração provisória sobre o pilar protético cimentável de altura pré-selecionada, instalado com torque de 35N, após decorrido o período de osseointegração (mínimo de seis semanas).

Após a constatação da ausência de sinais e sintomas de patologias nos tecidos periodontais e confirmação da osseointegração, foi realizado em todos os pacientes: uma radiografia periapical com técnica do paralelismo, exemplificada na

figura 6.2, e a reabertura gengival nos casos em que o parafuso de cobertura estava submerso; o pilar de altura e diâmetro apropriados foi selecionado com o uso do kit adequado de seleção de componentes. A figura 6.3 ilustra o implante osseointegrado após a remoção do parafuso de cicatrização.

Figura 6.2 – Marques, André. Radiografia periapical no dia 0, com o parafuso de cicatrização

Previamente à instalação do componente protético, foi feita assepsia intra-oral com bochecho de clorexidina a 0,12% durante 1 minuto, e também da porção interna do implante com clorexidina gel a 2% durante 2 minutos, utilizando-se isolamento relativo e aspirador cirúrgico descartável. Este procedimento foi realizado sempre com um transferente de moldagem, sem o respectivo parafuso passante, conforme a figura 6.4, acoplado ao implante, com a intenção de promover um bloqueio à interferência do sangue e de fluido crevicular, conforme a figura 6.5.

Figura 6.3 – Marques, André; Keedi, Caroline. Implante no dia 0, sem o parafuso de cicatrização

Figura 6.4 – Marques, André; Keedi, Caroline. Transferente de moldagem empregado na desinfecção e lavagem da porção interna do implante

Figura 6.5 – Marques, André; Keedi, Caroline. Desinfecção e lavagem da porção interna do implante

O pilar cimentável foi previamente esterilizado (Figura 6.6), e instalado com torque de 35N em todos os implantes de todos os pacientes, conforme mostrado nas figuras 6.8 e 6.9, sendo que nos dez pacientes do grupo experimental foi feita a associação do pincelamento do travador de parafusos e prisioneiros - *Loctite 277®* - *Henkel*. O produto foi aplicado na porção facetada indexadora do pilar protético, como ilustrado na figura 6.7, situada apicalmente ao pescoço cônico, de modo que, e porventura fosse ocasionado algum extravasamento por excesso, o mesmo ocorreria no sentido do interior do implante, e não no sentido da porção cervical.

Figura 6.6 – Marques, André; Keedi, Caroline. Pilar protético esterilizado previamente à instalação

Figura 6.7 – Marques, André; Keedi, Caroline. Aplicação do adesivo na porção facetada do pilar protético

Figura 6.8 – Marques, André; Keedi, Caroline. Instalação
do pilar protético

Figura 6.9 – Marques, André; Keedi, Caroline. Aplicação do torque
segundo a recomendação do fabricante

A figura 6.10 ilustra a imagem radiográfica do pilar protético instalado no implante.

Figura 6.10 – Marques, André. Radiografia periapical no dia 0

Uma coleta inicial foi realizada, com o intuito de constatar a ausência ou a reduzida quantidade de bactérias patógenas no interior do implante no momento prévio ao assentamento do componente protético, conforme a figura 6.11.

Figura 6.11 – Marques, André; Keedi, Caroline. Primeira coleta – dia 0

Após o assentamento do parafuso de retenção e a aplicação do torque, foi feita nova antissepsia com clorexidina gel 2% (Figura 6.12) e foi escolhida a fita de politetrafluoretileno, que foi esterilizada e condensada sobre o parafuso (Figura 6.13), para proteção do mesmo, e para auxiliar no bloqueio da infiltração por esta via, condensando-a com uma espátula.

No topo do pilar, para promover o melhor bloqueio desta via de entrada de microrganismos, foi feito o uso de cimento Dual Panavia F®, conforme as Figuras 6.14 e 6.15, por ser um material caracterizado que promove uma forte adesão devido à presença de um monômero fosfatado, e que por isso é indicado também para a cimentação de peças de metal.

Figura 6.12 – Marques, André; Keedi, Caroline. Desinfecção da entrada do parafuso após a aplicação do torque

Figura 6.13 – Marques, André; Keedi, Caroline. Proteção da entrada do parafuso com fita de politetrafluoretileno

Este material foi escolhido por ser o único cimento resinoso que promove a união mecânica e química forte usando o sistema de silanização da Kuraray (fábrica de produtos químicos). Este procedimento aumentou a segurança de que a infiltração bacteriana, quando detectada na análise do material coletado, ocorreu apenas pela via da interface componente protético/implante.

Figura 6.14 – Marques, André; Keedi, Caroline. Aplicação do Alloy Primer

Figura 6.15 – Marques, André; Keedi, Caroline. Colocação do Panavia no topo do pilar

Na mesma sessão de instalação do pilar, foi cimentada uma restauração protética temporária de resina acrílica, com o uso de cimento temporário sem eugenol, evitando assim uma possível interferência na cura do Panavia F®.

A segunda coleta no interior do implante foi realizada após um intervalo de 90 dias, através da soltura da coroa provisória e da remoção apenas do parafuso passante, sem desconectar o pilar protético do implante, o que foi possível com o uso de um dispositivo de resina duralay confeccionado manualmente sobre o pilar no modelo de trabalho, que travou nos dentes adjacentes.

No mesmo dia da segunda coleta, a coroa definitiva metalocerâmica foi provada e instalada. A figura 6.16 mostra a radiografia periapical realizada após o término do tratamento.

Figura 6.16 – Marques, André. Coroa definitiva
cimentada sobre o pilar protético

6.1 Obtenção das Amostras

Imediatamente após a desinfecção com clorexidina gel a 2%, seguida de lavagem com água para injeção estéril e sucção, feitas através do funil promovido pelo acoplamento do transferente ao implante, foram introduzidos cones de papel

absorvente estéreis nº 30 (Dentsply, Brasil), esfregando-se um de cada vez nas paredes internas do implante por 40 segundos. Os cones foram armazenados em tubos plásticos de 2µl esterilizados, e mantidos em solução tampão TE, a uma temperatura de -20°C.

Um período de três meses foi aguardado com a coroa temporária em função. Passados este período, foi realizada a segunda coleta, a qual foi diferenciada da primeira por ser feita removendo-se apenas o parafuso passante do componente protético. Para conseguir a imobilidade do pilar durante o contratorque e a coleta, em todos os modelos de trabalho foi confeccionada uma peça em resina acrílica de rápida polimerização (Duralay), que abraçou todas as paredes axiais do pilar protético e com extensões para dentes vizinhos como forma de travar o conjunto. Sem deslocar do componente de sua posição, e utilizando-se assim do próprio pilar para prevenir a interferência do fluido crevicular e sangue, a segunda coleta seguiu o mesmo protocolo da primeira.

As coletas foram realizadas em quadruplicatas em todos os implantes envolvidos neste estudo.

Após o término da segunda coleta, a coroa definitiva foi instalada normalmente, sobre o mesmo pilar protético.

6.2 Transporte e Armazenamento das Amostras

Os cones de papel foram colocados em tubos tipo *ependorf*, conforme a figura 6.17, e estocados a uma temperatura mínima de -20°C. Em seguida, estas amostras foram transportadas e armazenadas no Laboratório de Anaeróbios do Instituto de Ciências Biomédicas, onde foi feito o processamento e análise das amostras coletadas.

O transporte dos tubos contendo as amostras seguiu as orientações da Resolução 420 de 12 de fevereiro de 2004 da ANTT e a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) no. 01/2008 da Anvisa, respeitando-se as exigências sanitárias obrigatórias no que se refere aos padrões de embalagem, transporte e armazenagem.

Figura 6.17 - Marques, André; Keedi, Caroline. Armazenamento das amostras em tubos plásticos de 2µl

6.3 Extração de DNA

As amostras foram colocadas em tubos plásticos de 2µl contendo 100µl de solução tampão TE (tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, com pH 8,0; tris = hidroximetilaminometano). Para a extração de DNA genômico foi utilizada a matriz comercial de purificação *Illustra Bacterial GenomicPrep Mini Spin Kit* (GE Healthcare), seguindo o protocolo determinado pelo fabricante, conforme ilustrado na figura 6.18. A concentração dos DNAs bacterianos foram determinadas por espectrofotômetro (Beckman, Modelo DU-640; $A_{260\text{ nm}} = 0,8$) correspondendo à concentração final de 1 ng. Também, 10µl de cada DNA foram analisados em gel de agarose (1%) para a confirmação de sua integridade, e sua quantificação foi confirmada através do uso do equipamento Thermo Scientific NanoDrop 2000 Spectrophotometer. Em seguida, o DNA foi mantido a -80°C até o momento do uso.

Figura 6.18 – Extração de DNA com kit comercial

6.4 Processamento através da PCR Real Time

Na realização da curva padrão para quantificar os microrganismos deste estudo, foram utilizadas as seguintes cepas de referência: *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523, *T. denticola* ATCC 33520, *T. forsythia* ATCC 43037 e *P. gingivalis* ATCC 33277. A inclinação da curva-padrão para cada DNA das cepas de referência foi calculada por regressão linear segundo as diluições seriadas para cada microrganismo pelo programa presente no sistema de detecção *Rotor Gene 6000* (*Rotor Gene Series Software 1.7*). Em todas as reações de amplificação foi usada a água ultra-pura MiliQ esterilizada como controles negativos em vez de DNA. As curvas-padrão foram usadas para determinar os limites de detecção bacteriana e o número de cópias amplificado de DNA em cada uma das amostras.

Foi utilizado o corante *SYBR Green*, e a reação de amplificação foi realizada no equipamento *Rotor Gene 6000* (Corbett Research). O iniciador Universal foi

utilizado na primeira reação de amplificação, para que fosse confirmada a presença ou ausência de DNA nas amostras. Em seguida, foram realizadas as reações de amplificação com os iniciadores específicos para a região 16S ribossomal das quatro espécies bacterianas escolhidas.

O volume final da reação foi de 20µl e a reação foi realizada em duplicata contendo 2 x PCR Master Mix (Promega). Como controle negativo foi utilizado água em vez de DNA e os iniciadores na concentração de 100 mM. Os iniciadores são mencionados na tabela 6.1. As reações foram realizadas em duplicata, no termociclador *Rotor Gene 6000* (Corbett Life Science, Mortlake, New South Wales, Australia), segundo o esquema ilustrado na figura 6.19.

Figura 6.19 – Processamento do DNA pela PCR Real Time

O protocolo para o iniciador Universal incluiu uma desnaturação inicial em 95°C por 10 minutos (*Hold*), 40 ciclos a 95°C (15 segundos), 58°C (60 segundos) e 72°C (20 segundos), e temperatura de *Melting* de 58°C. Para cada microrganismo pesquisado foi realizado um protocolo específico. Assim, para *P. gingivalis*, foram incluídos: uma desnaturação inicial em 95°C por 2 minutos (*Hold*), 40 ciclos de PCR

a 95°C por 45 segundos, 60°C por 60 segundos, e extensão a 60°C (*Melting*). Para *A. actinomycetemcomitans* as reações foram realizadas nas seguintes condições: desnaturação inicial em 95°C por 2 minutos (*Hold*), 40 ciclos de 95°C (45 segundos), 60°C (120 segundos), e extensão a 60°C (*Melting*). Para *Treponema denticola*, foram incluídos: uma desnaturação inicial em 95°C por 10 minutos (*Hold*), 45 ciclos de PCR a 95°C (15 segundos), 57°C por 60 segundos, e extensão a 60°C (*Melting*). Para *Tannerella forsythia*, foram incluídos: uma desnaturação inicial em 95°C por 10 minutos (*Hold*), 45 ciclos de PCR a 95°C (15 segundos), 57°C (60 segundos), e extensão a 59°C (*Melting*).

Tabela 6.1 - Iniciadores usados para amplificação em Real Time

Iniciadores	Seqüência (5'→ 3')	Referências
Universal		
Forward	TCC TAC GGG AGG CAG CAG T	Kuboniwa et al.,(34)
Reverse	GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC CTG TT	
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>		
Forward	CAA GTG TGA TTA GGT AGT TGG TGG G	Nonnenmacher et al.,(43)
Reverse	CCT TCC TCA TCA CCG AAA GAA	
<i>Treponema denticola</i>		
Forward	CCG AAT GTG CTC ATT TAC ATA AAG GT	Kuboniwa et al., (34)
Reverse	GAT ACC CAT CGT TGC CTT GGT	
<i>Tannerella forsythia</i>		
Foward	AGC GAT GGT AGC AAT ACC TGT C	Kuboniwa et al., (34)
Reverse	TTC GCC GGG TTA TCC CTC	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>		
Foward	ACC TTA CCC GGG ATT GAA ATG	Bedran et al., (44)
Reverse	CAA CCA TGC AGC ACC TAC ATA GAA	

O iniciador universal indicou a presença de DNA nas amostras tanto do grupo Controle como no grupo Experimental, demonstrando que as etapas iniciais da pesquisa como coleta das amostras e extração de DNA foram satisfatórias. Sendo que, a finalidade do iniciador universal é verificar a presença de DNA na amostra sem especificar o microrganismo. Neste estudo foram usados iniciadores específicos na detecção de *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*.

7.1 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística no Instituto de Ciências Biomédicas.

Para verificar se houve diferença significativa no número de cópias entre os grupos experimental e controle em 0 dias e 90 dias empregou-se Análise de Variância com dois fatores, grupo (controle e experimental) e tempo (0 e 90 dias), sendo o tempo um fator de medida repetida. Para realização da análise os dados foram $\log_{10}$ transformados. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

Somente a bactéria *T. denticola* e *T. forsythia* apresentaram diferença significativa entre os grupos Experimental e Controle independente do tempo, $p < 0,001$ e $p = 0,032$ respectivamente. Para o iniciador universal e para os outros microrganismos pesquisados, não foram detectadas diferenças significantes.

O gráfico 7.1 abaixo representa a distribuição dos resultados detectados em função do período estudado para cada iniciador utilizado.

Gráfico 7.1 – Dispersão do número de cópias em função do tempo conforme o iniciador utilizado

Observou-se na tabela 7.1, em 90 dias, 10 de 10 amostras do Grupo Controle foram positivas, enquanto no Grupo Experimental apenas 3 de 10 amostras foram positivas para o iniciador universal. Quando observada a presença de pelo menos um dos quatro microrganismos específicos, 9 de 10 amostras do Grupo Controle foram positivas, enquanto no Grupo Experimental somente 2 de 10 amostras foram positivas. *T. forsythia* foi a bactéria que apresentou maior quantificação em 90 dias tanto no Grupo Controle ($4,49E+05$), quanto no Grupo Experimental ($1,40E+02$). *P. gingivalis* apresentou quantificação em 3 amostras do Grupo Controle e em 1 amostra do Grupo Experimental. *T. denticola* apresentou quantificação em 7 amostras do Grupo Controle e em nenhuma amostra do Grupo Experimental. *T. forsythia* apresentou quantificação em 6 amostras do Grupo Controle e em 2 amostra do Grupo Experimental. *A. Actinomycetemcomitans* foi o microrganismo que menos apresentou quantificação, apenas quantificando em uma das amostras do grupo controle, tanto no dia 0, como no dia 90 para esta amostra. No dia 0 para o iniciador universal houve uma grande variação, entre 0 - $1,01E+09$ cópias de DNA/ μ l, o que se deve à impossibilidade de esterilização completa do interior do implante previamente ao procedimento da primeira coleta, na cavidade oral. No grupo Controle, 8 amostras quantificaram positivamente, e no grupo Experimental, 7 quantificaram positivamente. Desta forma, empregou-se o teste de qui-quadrado com correção de Yates para comparar a presença e ausência de bactérias nas

amostras entre os grupos experimental e controle após 90 dias, para o iniciador universal e para cada iniciador específico.

7.1.1 Iniciador Universal

No grupo Controle, 10 (100%) das amostras apresentaram quantificação positiva ao final de 90 dias, mostrando que não houve selamento perfeito em nenhuma delas. A detecção dos microrganismos em ambos os grupos com o iniciador universal demonstrou a viabilidade da coleta das amostras e da extração do DNA. Desta forma, as amostras estão descritas tabela 7.2. No grupo Experimental, 3 (30%) das amostras apresentaram quantificação positiva ao final de 90 dias, mostrando que houve selamento perfeito em 70% delas.

O teste de qui-quadrado com a correção de Yates verificou-se que a ausência de bactérias em 90 dias está associada ao uso do vedante ($p=0,005$).

Tabela 7.2 – Quantificações pelo iniciador Universal

	AMOSTRA	0 d	90 d		AMOSTRA	0 d	90 d
CONTROLE	C1	0	1,03E+03	EXPERIMENTAL	E1	1,97E+05	2,81E+05
	C2	0	1,55E+02		E2	1,09E+02	0
	C3	2,76E+01	2,70E+01		E3	4,14E+04	8,56E+04
	C4	3,78E+04	2,80E+07		E4	6,24E+00	0
	C5	4,08E+04	3,49E+04		E5	0	0
	C6	6,82E+03	3,44E+03		E6	3,64E+01	0
	C7	9,76E+04	2,80E+04		E7	5,56E+05	0
	C8	6,33E+03	2,32E+01		E8	0	1,38E+00
	C9	1,01E+09	3,07E+06		E9	6,80E+04	0
	C10	8,93E+00	2,99E+01		E10	0	0

7.1.2 Iniciador específico para *Porphyromonas gingivalis*

No grupo Controle, 3 (30%) das amostras apresentaram quantificação positiva ao final de 90 dias. No grupo Experimental, 1 (10%) das amostras

apresentaram quantificação positiva ao final de 90 dias, conforme descrito na tabela 7.3.

O teste de qui-quadrado com a correção de Yates verificou-se que a ausência de bactérias em 90 dias não está associada ao uso do vedante para esta bactéria ($p=0,576$).

Tabela 7.3 – Quantificações de *Porphyromonas gingivalis*

	AMOSTRA	0 d	90 d		AMOSTRA	0 d	90 d
CONTROLE	C1	0	0	EXPERIMENTAL	E1	0	1,43E+01
	C2	0	0		E2	0	0
	C3	0	0		E3	0	0
	C4	0	1,51E+02		E4	0	0
	C5	5,29E+00	3,78E+01		E5	0	0
	C6	0	0		E6	0	0
	C7	0	0		E7	0	0
	C8	0	0		E8	0	0
	C9	5,40E+00	8,63E+00		E9	6,22E+01	0
	C10	2,63E+00	0		E10	0	0

7.1.3 Iniciador específico para *Tannerella forsythia*

No grupo Controle, 6 (60%) das amostras apresentaram quantificação positiva ao final de 90 dias. No grupo Experimental, 2 (20%) das amostras apresentaram quantificação positiva ao final de 90 dias, conforme descrito na tabela 7.4.

O teste de qui-quadrado com a correção de Yates verificou-se que a ausência de bactérias em 90 dias não está associada ao uso do vedante para esta bactéria ($p=0,171$).

Tabela 7.4 - Quantificações de *Tannerella forsythia*

	AMOSTRA	0 d	90 d		AMOSTRA	0 d	90 d
CONTROLE	C1	0	0	EXPERIMENTAL	E1	0	1,40E+02
	C2	0	4,49E+05		E2	0	0
	C3	0	0		E3	0	4,36E+01
	C4	0	2,28E+01		E4	0	0
	C5	0	4,62E+02		E5	0	0
	C6	0	1,40E+02		E6	0	0
	C7	0	0		E7	4,69E+01	0
	C8	3,80E+03	0		E8	0	0
	C9	2,24E+02	2,46E+03		E9	1,76E+02	0
	C10	2,21E+02	1,71E+03		E10	0	0

7.1.4 Iniciador específico para *Treponema denticola*

No grupo Controle, 7 (70%) das amostras apresentaram quantificação positiva ao final de 90 dias. No grupo Experimental, nenhuma das amostras apresentou quantificação positiva ao final de 90 dias, conforme descrito na tabela 7.5.

O teste de qui-quadrado com a correção de Yates verificou-se que a ausência de bactérias em 90 dias está associada ao uso do vedante para esta bactéria ($p=0,005$).

Tabela 7.5 – Quantificações de *Treponema denticola*

	AMOSTRA	0 d	90 d		AMOSTRA	0 d	90 d
CONTROLE	C1	0	0	EXPERIMENTAL	E1	0	0
	C2	0	6,09E+04		E2	0	0
	C3	2,19E+04	2,45E+02		E3	0	0
	C4	2,97E+06	1,81E+05		E4	0	0
	C5	8,87E+03	8,80E+04		E5	0	0
	C6	1,43E+05	0		E6	0	0
	C7	1,56E+05	5,80E+04		E7	8,97E+02	0
	C8	0	5,25E+04		E8	0	0
	C9	7,66E+05	2,09E+04		E9	0	0
	C10	0	0		E10	0	0

7.1.5 Iniciador específico para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Para este iniciador, apenas uma das amostras do grupo Controle, a C7, 1,24E+04 no dia 0 e 9,43E+03 no dia 90, apresentou quantificação positiva ao final de 90 dias, conforme descrito na tabela 7.6.

O teste de qui-quadrado com a correção de Yates verificou-se que a ausência de bactérias em 90 dias não está associada ao uso do vedante para esta bactéria ($p=1,000$).

Tabela 7.6 – Quantificações de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

	AMOSTRA	0 d	90 d		AMOSTRA	0 d	90 d
CONTROLE	C1	0	0	EXPERIMENTAL	E1	0	0
	C2	0	0		E2	0	0
	C3	0	0		E3	0	0
	C4	0	0		E4	0	0
	C5	0	0		E5	0	0
	C6	0	0		E6	0	0
	C7	1,24E+04	9,43E+03		E7	0	0
	C8	0	0		E8	0	0
	C9	0	0		E9	0	0
	C10	0	0		E10	0	0

7.1.6 Avaliação Geral de *Porphyromonas gingivalis* / *Treponema denticola* / *Tannerella forsythia* / *Agregatibacter actinomycetemcomitans*

Como uma análise adicional, foram também verificadas as situações em que pelo menos um ou mais dos quatro microrganismos específicos estudados em cada uma das amostras foram detectados. No grupo Controle, 9 (90%) das amostras apresentaram pelo menos uma das quatro bactérias pesquisadas. No grupo Experimental, 2 (20%) das amostras apresentaram pelo menos uma das quatro bactérias pesquisadas. A tabela 7.7 evidencia as amostras que quantificaram em 90 dias com os iniciadores específicos.

O teste de qui-quadrado com a correção de Yates verificou-se que a ausência de bactérias em 90 dias está associada ao uso do vedante para as bactérias estudadas ($p=0,007$).

Tabela 7.7 – Quantificações dos microrganismos específicos em 90 dias

GRUPO	AMOSTRA	<i>Porphyromonas Gingivalis</i>		<i>Treponema Denticola</i>		<i>Tannerella Forsythia</i>		<i>Agregatibacter actinomycetemcomitans</i>	
		0 d	90 d	0 d	90 d	0 d	90 d	0 d	90 d
CONTROLE	C1	0	0	0	0	0	0	0	0
	C2	0	0	0	6,09E+04	0	4,49E+05	0	0
	C3	0	0	2,19E+04	2,45E+02	0	0	0	0
	C4	0	1,51E+02	2,97E+06	1,81E+05	0	2,28E+01	0	0
	C5	5,29E+00	3,78E+01	8,87E+03	8,80E+04	0	4,62E+02	0	0
	C6	0	0	1,43E+05	0	0	1,40E+02	0	0
	C7	0	0	1,56E+05	5,80E+04	0	0	1,24E+04	9,43E+03
	C8	0	0	0	5,25E+04	3,80E+03	0	0	0
	C9	5,40E+00	8,63E+00	7,66E+05	2,09E+04	2,24E+02	2,46E+03	0	0
	C10	2,63E+00	0	0	0	2,21E+02	1,71E+03	0	0
EXPERIMENTAL	E1	0	1,43E+01	0	0	0	1,40E+02	0	0
	E2	0	0	0	0	0	0	0	0
	E3	0	0	0	0	0	4,36E+01	0	0
	E4	0	0	0	0	0	0	0	0
	E5	0	0	0	0	0	0	0	0
	E6	0	0	0	0	0	0	0	0
	E7	0	0	8,97E+02	0	4,69E+01	0	0	0
	E8	0	0	0	0	0	0	0	0
	E9	6,22E+01	0	0	0	1,76E+02	0	0	0
	E10	0	0	0	0	0	0	0	0

8 DISCUSSÃO

A preocupação com os efeitos da colonização bacteriana da região periimplantar surgiu quase simultaneamente à disseminação dos implantes osseointegrados como ferramenta de reabilitação oral, uma vez que rapidamente ela foi associada a saucerização ao redor dos implantes do tipo Branemark.

Alguns fatores são apontados, na literatura, como possíveis contribuintes para o mecanismo da saucerização. A ação do EGF é um destes fatores, e a espessura do tecido gengival também pode influenciar no grau de perda óssea marginal. Quanto mais espesso o tecido gengival, maior é o distanciamento entre o epitélio juncional e a crista óssea, minimizando a ação do EGF e diminuindo o efeito da saucerização. Além disso, é sugerido que, devido ao fato de a ligação do epitélio juncional ao implante ser mais fraca do que ao dente, a entrada e ação do EGF presente na saliva pode ser constante. Isto explicaria o fato de, quanto mais vezes removido e devolvido o cicatrizador, o provisório e até mesmo o pilar definitivo em posição, maior é a estimulação da perda óssea marginal, dada pelo rompimento dos pontos de união entre estes e o epitélio juncional (os hemidesmossomos)(8). Mas não se sabe o quanto isso é relevante clinicamente ao longo do tempo.

Por outro lado, a presença da lacuna na interface do implante com o pilar protético é um fator mais relevante, e portanto mais estudado pela implantodontia que, a fim de minimizar a saucerização, constantemente vem mudando a macroscopia e o design das conexões dos implantes osseointegrados.

A potencial colonização bacteriana da interface implante/pilar está ligada a múltiplos fatores, como por exemplo: a precisão de adaptação entre as duas peças, o torque aplicado, e as cargas às quais o conjunto será submetido^{(28),(27)}. Ela pode ter início no ato cirúrgico, no ato da instalação do pilar ou tardiamente à instalação do pilar, sendo duas as vias possíveis de contaminação: a microfenda da conexão e o parafuso de retenção do pilar, e pode constituir um risco à inflamação dos tecidos moles e até à perda óssea marginal(2, 7), embora o ICT (infiltrado de células inflamatórias) normalmente se mantenha estável entre as bactérias e seu hospedeiro(2).

A correlação entre a inflamação dos tecidos gengivais e a perda óssea marginal com a qualidade da higiene foi seguida por uma diversidade imensa de estudos acerca do fluxo de fluidos e microrganismos que ocorre via microfenda. Entretanto, nenhum estudo até hoje demonstrou a correlação verdadeira entre este fluxo bidirecional e a ocorrência de periimplantite. Portanto, não se pode afirmar que a periimplantite seja causada pela colonização da interface da conexão. O que se sabe é que o biofilme acumulado na porção cervical, assim como as bactérias que adentram o interior do conjunto implante/pilar via interface, podem atuar como uma reserva de microrganismos que, a médio e longo prazo, pode favorecer o aumento da saucerização(21). A detecção das espécies de *Candida* misturadas ao biofilme mostra que não apenas bactérias, mas também fungos são capazes de integrar a microbiota que se instala na junção pilar/implante(31).

Diversos estudos demonstraram que a microbiota encontrada em sítios com diagnóstico de periimplantite apresenta padrões similares àqueles encontrados em sítios com periodontite(13)(14). As bactérias específicas pesquisadas foram eleitas para este estudo por serem frequentemente encontradas nos referidos sítios e possuírem papel importante na instalação das patologias periimplantares. É importante destacar que a presença destes patógenos na interface e no interior dos implantes não leva necessariamente à instalação da doença. Apesar da pesquisa específica de microrganismos com a técnica do PCR Real Time, o resultado mais relevante deste estudo se deu através do iniciador universal, cuja capacidade de identificar qualquer espécie bacteriana pela região 16S do DNAr bacteriano, presente em todas elas, já nos esclarece se houve a ocorrência de infiltração via microfenda ou não.

De acordo com os estudos incluídos nesta revisão, considera-se duas vias de penetração de fluidos e microrganismos: a interface implante/pilar protético e o acesso do parafuso de retenção do pilar. Fica evidente a obrigatoriedade de se vedar o acesso do parafuso oclusal em experimentos que buscam comparar o selamento das conexões ou avaliar a capacidade de vedação de diferentes materiais na interface implante/pilar protético. Desta forma, neste estudo foi programada a vedação desta via de penetração a fim de se eliminar este viés. Por isso o politetrafluoretileno condensado sobre o parafuso e o cimento Panavia foram utilizados neste experimento em ambos os grupos, conforme descrito em Material e

Método, além de uma restauração provisória cimentada, uma vez que este tipo de prótese apresenta melhor desempenho de selamento, quando comparada à prótese parafusada. Nas próteses cimentadas, o cimento preenche e veda o espaço entre a coroa e o pilar protético, conforme foi observado em microscopia eletrônica de varredura, onde não foram encontrados nem fluido e nem penetração bacteriana⁽²⁶⁾. Todavia, autores chamam a atenção para o fato de que o excesso do cimento não removido adequadamente pode favorecer o processo da perda óssea e até gerar um processo de periimplantite, até mais do que a colonização bacteriana da microfenda que serve de reserva bacteriana para o desenvolvimento do mesmo^{(26),(28)}.

Os resultados encontrados na literatura a respeito da hermeticidade dos conjuntos cimentados são convergentes, mostrando que são resistentes à infiltração quando comparados com os conjuntos parafusados^{(28),(26)}. Também existe uma concordância entre os resultados encontrados a respeito do desempenho dos variados desenhos de conexões frente à infiltração bacteriana. As conexões cônicas são as que apresentam o melhor desempenho quando comparadas às demais conexões, e as conexões hexagonais se mostram mais permeáveis aos microrganismos. As conexões hexagonais permitem que a infiltração ocorra já nas primeiras horas/dias dos experimentos, possivelmente devido à maior micromovimentação entre as peças, dada por um maior espaço existente na interface, enquanto as cônicas demoram mais para permitir a entrada dos microrganismos, e revelam menor número de bactérias nas análises, sejam elas feitas por microscopia eletrônica ou por contagem de UFCs^(17, 18, 27, 28)⁽³⁰⁾.

Nas comparações realizadas entre conexões cônicas, também foram encontradas diferenças de desempenho de selamento significativas⁽³²⁾. O seguimento das recomendações de instalação e dos protocolos de torque dos fabricantes também é um ponto relevante do ponto de vista do grau de infiltração nesta microfenda. Mesmo assim, o trânsito bacteriano ainda ocorre, devido à inexistência de um selamento absoluto da interface.

Embora outros autores tenham constatado um bloqueio total de microrganismos em um ensaio laboratorial realizado com implantes de conexão cônica, nas duas direções possíveis, tal estudo apresenta limitações, como por

exemplo a ausência de simulação mecânica da função mastigatória, e também ao período de exposição que foi muito curto, variando entre 24 e 72 horas, apenas(45). Estas mesmas limitações são colocadas em discussão por Koutouzis et al.(32), que empregou em seu estudo um simulador de desgaste feito com um polímero de tetrafluoretileno, e seus 500.000 ciclos simularam 2 anos de vida clínica das conexões implante/pilar utilizadas. Mesmo assim, sugerem que a ciclagem mecânica também teve suas limitações no que diz respeito ao material de que é feito (rápido desgaste na mimetização das forças mastigatórias), pouca força aplicada (15N) e número limitado de ciclos. Tesmer et al.(27) também usou um modelo experimental estático, e em sua discussão sugeriu que seria importante repetí-lo adicionando-se a ciclagem mecânica, uma vez que o grupo de conexão morse em seu estudo mostrou desprezível infiltração de microrganismos em modelo estático, porém pode não ter a mesma eficácia quando submetido às cargas funcionais. O modelo experimental de Jansen et al.(17) também foi estático.

Feitas estas considerações, o presente estudo apresenta vantagens sobre os estudos feitos com modelos experimentais laboratoriais, tanto estáticos como dinâmicos com a simulação mecânica, pois tendo sido utilizados em estudos clínicos, os conjuntos implante/pilar foram submetidos às condições mais reais e críticas possíveis, e portanto geram maior confiabilidade nos resultados.

Ensaio *in vitro* foram realizados previamente, com o objetivo de observar o efeito mecânico que este mesmo adesivo industrial e o jateamento com óxido de alumínio poderiam promover no torque de desaperto de conexões cônicas(46, 47). Para este fim, os grupos de ambos os estudos receberam diferentes combinações de tratamentos, com óxido de alumínio combinado ou não ao adesivo, e a força necessária para o contratorque foi aferida em todos eles, revelando, na estatística, que o adesivo foi efetivo no aumento do torque de desaperto quando associado ao óxido de alumínio. A partir destes resultados de sucesso, fez-se necessária a continuidade desta linha de pesquisa, para que se pudesse verificar a eficácia do adesivo também no âmbito biológico, ou seja, o seu poder de vedação na interface implante/pilar. O estudo clínico foi então idealizado, e um protocolo foi criado com o objetivo de se reduzir ao máximo as possibilidades de contaminação durante as etapas clínicas da metodologia.

De acordo com Jansen et al(17), que comparou diversos tipos de conexão de marcas variadas e períodos também variáveis de 1 a 14 dias, todas as microfendas (que variaram de 2 a 12µm no estudo) permitiram que a bactéria *E. coli* (de tamanho médio de até 1.5µm) saíssem do interior do implante para o meio externo. As três conexões cônicas estudadas não foram significativamente melhores do que as hexagonais ao final de 14 dias, porém uma das conexões estudadas destacou-se com um melhor desempenho, mesmo sem um bloqueio absoluto da infiltração: a conexão do Frialit-2 com a associação de um anel de silicone na interface, que teve apenas 16% das amostras contaminadas ao fim dos 14 dias, com o início da contaminação apenas a partir do 5º. dia, enquanto os demais já mostraram contaminação no dia 1, com variação de 38% a 100% de contaminação das amostras ao final do dia 14. Os autores julgaram ser o anel de silicone uma alternativa promissora, na época. Além disso, sugeriram também o uso de revestimentos, feitos de metais dúcteis, interpostos na interface, como uma solução palpável, porém que somente seria efetiva em um primeiro ato de instalação e torque do pilar, e não nos seguintes. Segundo este mesmo autor, estudos de infiltração que verificam a entrada dos microrganismos, do meio externo para o meio interno do implante, apresentam uma limitação: não permitem que seja avaliada de forma longitudinal o desenvolvimento bacteriano; o conjunto implante/pilar é aberto e a avaliação é feita neste único momento, que deve acontecer após um período mínimo. E ainda mais crítico do que isso é o risco de falso-positivo (caso o interior do implante venha a ser contaminado no momento da abertura), e também de falso-negativo (caso o degermante penetre através da microfenda no momento da lavagem de descontaminação da porção externa), no caso de estudos laboratoriais(29)(17).

Além deste, mais estudos chamaram a atenção para a possibilidade de falso-positivo nos resultados(32)(29). Os modelos experimentais e a técnica de coleta tem impacto direto na confiabilidade do que é encontrado. Assim, os autores sugerem que seria interessante fazer uma comparação da eficácia dos estudos que utilizam a via de contaminação de dentro para fora com os que utilizam a via contrária(32).

A possibilidade de falso-positivo nas amostras iniciais (dia 0) não foi afastada no presente estudo, apesar de todos os cuidados tomados e barreiras adotadas para que se evitasse o contato com saliva, fluido crevicular e até mesmo sangue. Em um

modelo experimental *in vitro* perfeito, no dia 0, todas as amostras de ambos os grupos apresentariam uma quantificação nula de DNA, isto é, correspondente a zero, devido à certeza das condições estéreis no interior do implante. Entretanto, em um implante instalado na boca, mesmo com todas as medidas de minimização da quantidade de microrganismos adotadas no protocolo, muitas amostras apresentaram quantificações positivas no dia 0, ou porque não foram completamente descontaminadas com a lavagem de clorexidina, ou ainda porque foram contaminadas com bactérias da saliva ou do fluido crevicular. Por este motivo, a análise da evolução do número de cópias de DNA/ μ l ficou impossibilitada, pois houve muita variação entre as amostras, e esta comparação não se mostrou confiável. Portanto, a quantificação encontrada no dia 90 foi prioritária na análise dos resultados, já que a possibilidade de contaminação nesta segunda coleta, realizada através do próprio corpo do pilar sem que esse fosse deslocado, é muito inferior. Um resultado nulo em número de cópias de DNA no dia 90 representou, portanto, um resultado confiável de vedação, considerando-se que não houveram microrganismos sobreviventes na evolução do dia 0 para o dia 90, no interior do ambiente do implante que caracterizou-se hermético nas referidas amostras, e nem houve contaminação do meio externo durante o período, que pudesse resultar na quantificação.

Foi observada ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos Controle e Experimental, quando realizada a análise estatística segundo o Modelo linear geral, para o iniciador universal. Contudo, a análise de presença e ausência de microrganismos nas amostras resultou em diferença significativa entre os grupos, para o iniciador universal, bem como para duas das bactérias específicas, na avaliação de presença e ausência dos microrganismos estudados. Em uma última situação, na análise estatística, quando foi avaliado se houve a presença de pelo menos um dos microrganismos específicos em cada uma das amostras, a diferença foi, também, estatisticamente significativa.

A técnica *Real Time - Polymerase Chain Reaction* ou PCR quantitativo tem sido amplamente utilizada, por apresentar tais vantagens com relação à sensibilidade e também uma alta especificidade na detecção de bactérias, quando comparada com a técnica de cultura bacteriana(35).

Esta técnica foi eleita, não apenas pela possibilidade de quantificar os microrganismos específicos investigados no estudo, mas principalmente por ser altamente sensível, o que foi extremamente importante para este trabalho, uma vez que a quantidade de material coletada no interior dos implantes foi muito pequena. A técnica é considerada altamente sensível por ser capaz de detectar rapidamente, e em tempo real, quantidades muito pequenas de DNA, tanto de microrganismos viáveis como de microrganismos não viáveis. O limite de detecção da técnica é de aproximadamente 10^2 cópias de DNA, o que a torna mais precisa e mais adequada que os outros métodos disponíveis (34). Assim sendo, a técnica de PCR convencional seria menos eficiente na detecção de microrganismos presentes em baixas quantidades, além de não fazer a quantificação, e por isso o *PCR Real Time* foi escolhido para este estudo.

Apenas a reação com o iniciador universal neste estudo, teoricamente, seria suficiente para trazer a informação da presença ou ausência de microrganismos no interior do implante, uma vez que ele se liga à região 16S do DNA bacteriano, que está presente em todas as espécies bacterianas. Entretanto, as reações feitas com os iniciadores específicos são importantes para que possamos verificar se as bactérias detectadas incluem os patógenos periodontais mais frequentemente encontrados em quadros de periodontite e periimplantite, e sua quantificação após o período de 90 dias da prótese cimentada em função.

Após a perda de viabilidade da bactéria, o DNA bacteriano é degradado lenta e gradualmente, mas a velocidade da degradação é dependente dos fatores do ambiente em que se encontra. Portanto, o DNA de bactérias que já não são viáveis e podem estar presentes na amostra ainda pode participar da quantificação do PCR(36). Se isto ocorrer, o número de cópias de DNA pode estar alterado para cima, ou ainda dado um falso positivo quando já não existem bactérias viáveis, e sim um DNA que ainda não se degradou após a morte celular. Acreditamos que os resultados encontrados neste estudo não tenham sido prejudicados por esta possibilidade, uma vez que o período de 90 dias é um período relativamente longo para que ocorresse a permanência de DNA íntegro até o momento da coleta.

A técnica de *PCR Real Time* e a contagem de bactérias viáveis por cultura normalmente geram resultados distintos. Sendo, A quantificação do DNA é mais

sensível e dependente de menos variáveis. Entretanto, Sakamoto et al encontraram em várias amostras uma contagem inferior de material genético com o uso do PCR Real Time, comparativamente à contagem com o uso da cultura. Os autores supõem que a explicação para isto esteja na pequena quantidade de material recuperado nas suas amostras, e também na perda de parte do DNA durante a etapa de lavagem, uma vez que nem todas as bactérias alvo da amostra eram células intactas. O autor considera que podem haver outras razões desconhecidas para esta discrepância e, ressalta, ainda, que este método viabilizou a detecção e quantificação de bactérias que não tinham a possibilidade ser cultivadas(33).

A escolha do implante que foi utilizado no presente estudo foi baseada, primeiramente, na superioridade das conexões cônicas, evidente na literatura, e já discutida anteriormente. Outro motivo adicional que conduziu a esta opção como a melhor opção existente, foi a especulação feita por Cochran et al. a respeito de um suposto selamento biológico que os implantes do tipo *platform switching* podem constituir em conjunto com o tecido conjuntivo. Foi sugerido que o tecido conjuntivo em contato íntimo e direto com a interface da conexão em implantes do tipo *platform switching*, instalados ao mesmo nível ou abaixo do nível do osso, poderia promover uma eficaz barreira, a ponto de prevenir a invasão de microrganismos. Esta observação foi realizada pelos autores histologicamente, após um período de 6 meses das próteses em função nos cães estudados. O autor explica que em nenhum outro sistema de conexão havia sido detectado antes a posição do tecido conjuntivo sobre a junção do implante com o pilar protético, e que isto poderia significar uma redução da atividade inflamatória no tecido mole e consequentemente a não estimulação da perda óssea marginal que sempre ocorreu ao redor dos implantes. Todavia, nada está comprovado sobre esta suposta capacidade de selamento biológico(4). Tal especulação acerca deste selamento ainda é fraca, e pouco se sabe a respeito das diferenças entre o distanciamento no sentido horizontal e o distanciamento no sentido vertical, da interface em questão em relação ao osso marginal. Esta característica, se porventura for comprovada em estudos futuros, poderia ser atribuída como responsável pelo pequeno número de cópias de DNA encontrado no presente estudo, e também pela superioridade das conexões cônicas na literatura. Contudo, não houve um bloqueio total da infiltração nos implantes do grupo Controle, que foram tratados convencionalmente, com o uso

de implantes ao nível ósseo e seguindo o conceito de plataformas não coincidentes, assim como realizado no estudo histológico de Cochran et al.(4).

No estudo de Rimondini et al.²², na microscopia eletrônica, detritos encontrados no grupo que foi reabilitado com a interposição do anel de silicone fizeram suspeitar que poderiam ser remanescentes da desintegração do mesmo(22). O uso do dimetacrilato, no presente estudo, foi efetivo no bloqueio da infiltração na interface implante/pilar, com diferenças significativas entre grupo controle e grupo experimental, para o período proposto de 90 dias. Entretanto, um questionamento é lançado a respeito do comportamento, a médio e longo prazo, do adesivo durante a função mastigatória e a exposição aos fluidos gengivais. Não é possível saber, dentro da metodologia que foi empregada, se o material sofre algum tipo de efeito imediato no ato do contratorque, no dia da realização da segunda coleta. Embora o pilar tenha sido travado pelo dispositivo confeccionado em duralay para a realização da coleta, não se sabe se a integridade do material foi preservada na interface a partir deste momento. Possivelmente, um estudo *in vitro* poderia responder a essa dúvida, entre outras dúvidas que também necessitam de estudos futuros de continuidade.

Este estudo pode contribuir de maneira relevante para os estudos futuros, *in vitro* ou *in vivo*, com o objetivo de comprovar a eficiência deste adesivo no bloqueio da infiltração por períodos mais longos, ou até mesmo com o objetivo de avaliar o comportamento dos tecidos adjacentes quando submetidos a este protocolo de bloqueio, através da histologia, por exemplo. Os estudos revistos na literatura não haviam ainda revelado uma vedação efetiva, e o único estudo que revelou um bloqueio completo da infiltração na interface não envolveu cargas simulatórias(45). Portanto, a evidência científica de vedação neste sistema *in vivo*, com um material que ainda não havia sido testado, amplia os horizontes da implantodontia no combate à saucerização.

9 CONCLUSÃO

A ausência de bactérias no Grupo Experimental foi associada ao tratamento com o dimetacrilato por um período de 90 dias. Quando considerada a presença de pelo menos uma das bactérias específicas estudadas nas amostras, a diferença também foi estatisticamente significativa. Entretanto, mais estudos devem ser desenvolvidos a fim de verificar se a vedação será eficiente por longos períodos.

REFERÊNCIAS¹

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg*. 1981 Dec;10(6):387-416.
2. Persson LG, Lekholm U, Leonhardt A, Dahlén G, Lindhe J. Bacterial colonization on internal surfaces of Branemark System(R) implant components. *Clin Oral Implants Res*. 1996 Jun;7(2):90-5.
3. Listgarten MA, Helldén L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J Clin Periodontol*. 1978 May;5(2):115-32.
4. Cochran DL, Mau LP, Higginbottom FL, Wilson TG, Bosshardt DD, Schoolfield J, et al. Soft and hard tissue histologic dimensions around dental implants in the canine restored with smaller-diameter abutments: a paradigm shift in peri-implant biology. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013 Mar-Apr;28(2):494-502.
5. Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D. Biologic width around titanium implants. A histometric analysis of the implanto-gingival junction around unloaded and loaded nonsubmerged implants in the canine mandible. *J Periodontol*. 1997 Feb;68(2):186-98.
6. Lindquist LW, Rockler B, Carlsson GE. Bone resorption around fixture in edentulous patients treated with mandibular fixed tissue-integrated prosthesis. *J Prosthet Dent*. 1988 Jan;59(1):59-63.
7. Ericsson L, Persson LG, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J, Klinge B. Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. *J Clin Periodontol*. 1995 Mar;22(3):255-61.
8. Consolaro AC, Carvalho RS, Francischone CE Jr., Francischone CE. Mecanismo da saucerização nos implantes osseointegrados. *Dental Press J Periodontia Implantol*. 2010 jan.-mar.;4(1):37-54.
9. Quirynen M, Bollen CM, Eyssen H, van Steenberghe D. Microbial penetration along the implant components of the Branemark system. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res*. 1994 Dec;5(4):239-44.

---

¹ De acordo com o Estilo Vancouver.

10. Quirynen M, van Steenberghe D. Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants. An in vivo study. *Clin Oral Implants Res.* 1993 Sep;4(3):158-61
11. Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, et al. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res.* 2006 May;85(5):473-8.
12. Traversy MC, Birek P. Fluid and microbial leakage of implant– abutment assembly in vitro. *J Dent Res* 1992;71:754–7.
13. Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol.* 1987 Dec;2(4):145-51.
14. Mombelli A. Microbiology of the dental implant. *Adv Dent Res.* 1993 Aug;7(2):202-6.
15. Binon P, Weir D, Watanabe L, Walker L. Implant component compatibility. In: Laney WR, Tolman DE. *Tissue osseointegration in oral, orthopedic and maxillofacial reconstruction.* London: Quintessence; 1992. p. 218-26.
16. Quirynen M, Listgarten MA. Distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Branemark. *Clin Oral Implants Res.* 1990 Dec;1(1):8-12.
17. Jansen VK, Conrads G, Richter EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997 Jul-Aug;12(4):527-40.
18. Steinebrunner L, Wolfart S, Bössmann K, Kern M. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005 Nov-Dec;20(6):875-81.
19. Pimentel AC, Manzi MR, Sartori SG, da Graça Naclério-Homem M, Sendyk WR. In vivo effectiveness of silicone gel sheets as barriers at the inner microgap between a prosthetic abutment and an external-hexagon implant platform. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014 Jan-Feb;29(1):121-6.
20. Nayak AG, Fernandes A, Kulkarni R, Ajantha GS, Lekha K, Nadiger R. Efficacy of antibacterial sealing gel and O-ring to prevent microleakage at the implant abutment interface: an in vitro study. *J Oral Implantol.* 2014 Feb;40(1):11-4.

21. Proff P, Steinmetz I, Bayerlein T, Dietze S, Fanghänel J, Gedrange T. Bacterial colonization of interior implant threads with and without sealing. *Folia Morphol.* 2006 Feb;65(1):75-7.
22. Rimondini L, Marin C, Brunella F, Fini M. Internal contamination of a 2-component implant system after occlusal loading and provisionally luted reconstruction with or without a washer device. *J Periodontol.* 2001 Dec;72(12):1652-7.
23. Park SD, Lee Y, Kim YL, Yu SH, Bae JM, Cho HW. Microleakage of different sealing materials in access holes of internal connection implant systems. *J Prosthet Dent.* 2012 Sep;108(3):173-80.
24. Moraguez OD, Belser UC. The use of polytetrafluoroethylene tape for the management of screw access channels in implant-supported prostheses. *J Prosthet Dent.* 2010 Mar;103(3):189-91.
25. Koutouzis T, Gadalla H, Kettler Z, Elbarasi A, Nonhoff J. The role of chlorhexidine on endotoxin penetration to the Implant-Abutment Interface (IAI). *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013 Sep 23. 2013. [Epub ahead of print].
26. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GC, Di Bonaventura G, et al. Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. *J Periodontol.* 2001 Sep;72(9):1146-50.
27. Tesmer M, Wallet S, Koutouzis T, Lundgren T. Bacterial colonization of the dental implant fixture-abutment interface: an in vitro study. *J Periodontol.* 2009 Dec;80(12):1991-7.
28. Assenza B, Tripodi D, Scarano A, Perrotti V, Piattelli A, Iezzi G, et al. Bacterial leakage in implants with different implant-abutment connections: an in vitro study. *J Periodontol.* 2012 Apr;83(4):491-7.
29. Aloise JP, Curcio R, Laporta MZ, Rossi L, da Silva AM, Rapoport A, et al. Microbial leakage through the implant-abutment interface of Morse taper implants in vitro. *Clin Oral Implants Res.* 2010 Mar;21(3):328-35.
30. Jaworski ME, Melo AC, Picheth CM, Sartori IA. Analysis of the bacterial seal

at the implant-abutment interface in external-hexagon and Morse taper-connection implants: an in vitro study using a new methodology. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012 Sep-Oct;27(5):1091-5.

31. Baggi L, Di Girolamo M, Mirisola C, Calcaterra R. Microbiological evaluation of bacterial and mycotic seal in implant systems with different implant-abutment interfaces and closing torque values. *Implant Dent*. 2013 Aug;22(4):344-50.

32. Koutouzis T, Wallet S, Calderon N, Lundgren T. Bacterial colonization of the implant-abutment interface using an in vitro dynamic loading model. *J Periodontol*. 2011 Apr;82(4):613-8.

33. Sakamoto M, Takeuchi Y, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR. *Microbiol Immunol*. 2001;45(1):39-44.

34. Kuboniwa M, Amano A, Kimura KR, Sekine S, Kato S, Yamamoto Y, Okahashi N, et al. Quantitative detection of periodontal pathogens using real-time polymerase chain reaction with TaqMan probes. *Oral Microbiol Immunol*. 2004 Jun;19(3):168-76.

35. Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. *J Clin Periodontol*. 2006 Jun;33(6):427-33.

36. Loozen G, Boon N, Pauwels M, Quirynen M, Teughels W. Live/dead real-time polymerase chain reaction to assess new therapies against dental plaque-related pathologies. *Mol Oral Microbiol*. 2011 Aug;26(4):253-61.

37. Folha de dados Técnicos Henckel. LOCTITE® 277 [trava prisioneiro]. 2011.

38. MSDS. Wikipedia. A enciclopédia livre. 2012 [citado 23 jun. 2014]. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/msds>.

39. Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico/Material Safety Data Sheet Solutions Center. 2012.

40. Attwood D, Florence A, Rothschild D. *Physicochemical principles of pharmacy*. 3th ed. London: McMillan Press; 2003.

41. Geensa T, Goeyensb L, Covaci A. Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked? *Int J Hyg Environ Health*. 2011 Sep;214(5):339-47.
42. European Food Safety Authority. Scientific Opinion on Bisphenol A: evaluation of a study investigating its neurodevelopmental toxicity, review of recent scientific literature on its toxicity and advice on the Danish risk assessment of Bisphenol A. *EFSA J*. 2010; 8(9):1829.
43. Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, Flores-de-Jacoby L, Mutters R, Heeg K. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients. *J Periodontol*. 2005 Sep;76(9):1542-9.
44. Lombardo Bedran TB, Marcantonio RA, Spin Neto R, Alves Mayer MP, Grenier D, Spolidorio LC, Spolidorio DP. *Porphyromonas endodontalis* in chronic periodontitis: a clinical and microbiological cross-sectional study. *J Oral Microbiol*. 2012;4. doi: 10.3402/jom.v4i0.10123.
45. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. In vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: The locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005 Sep-Oct;20(5):732-7.
46. Hirayama PMA. Efeito do jateamento do óxido de alumínio e uso do adesivo no afrouxamento do parafuso de pilares protéticos cônicos, com indexador de restaurações protéticas implanto suportadas [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012.
47. Tunes FSM. Efeito do jateamento de óxido de alumínio e uso de selante industrial, na superfície de pilares protéticos Cone Morse, de restaurações implanto suportadas sobre a resistência ao contratorque [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2012.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do estudo: Análise da infiltração bacteriana pela interface componente protético/implante.

Pesquisador responsável: Caroline Bosquê Keedi

Orientador: Pedro Tortamano Neto

Currículo Lattes: <http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4782864J6>

Co-orientadora: Renata Cimões Jovino Silveira

Currículo Lattes: <http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4705601D5>

Instituição/Departamento: Faculdade de Odontologia da USP

Telefone para contato: (11) 3031-7371

Local da coleta de dados: FFO - Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia

Prezado(a) Senhor(a):

As informações abaixo são para esclarecer e pedir a sua participação voluntária neste estudo que tem por finalidade avaliar a melhora da conexão entre o implante instalado no osso e o dente confeccionado, com a adição de um produto específico.

Antes de concordar em participar desta pesquisa é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento.

O pesquisador responderá todas as suas dúvidas antes de você tomar a sua decisão em participar.

Este consentimento poderá ser retirado a qualquer momento, sem prejuízos à continuidade do tratamento.

Você tem a garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos benefícios e outros assuntos relacionados com pesquisa. Também os pesquisadores supracitados assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a sua vontade em continuar participando.

Objetivo do estudo: Avaliar se haverá impedimento ou diminuição da entrada de bactérias para dentro do implante, por entre as duas partes – implante e coroa.

Procedimentos: Após o período de espera para a fixação do(s) seu(s) implante(s) no osso, será realizada a seleção de uma peça do tamanho adequado para o dente que será fabricado. Esta peça chamada pilar será esterilizada e conectada no implante em uma condição o mais livre possível de bactérias. Metade dos voluntários do estudo não receberá nenhum tratamento diferente do tradicional, e a outra metade receberá apenas uma pincelada de um adesivo no implante, antes de ser rosqueado o pilar no implante. Todos os incluídos no estudo ficarão por um período de três meses com um dente provisório cimentado. Passados os três meses, será feita uma coleta simples e rápida dentro do seu implante para detectar se houve ou não entrada de bactérias, e depois disso poderá ser colocado o dente definitivo.

Riscos: O procedimento apresenta os mesmos riscos que são próprios dos procedimentos clínicos convencionais de confecção das próteses. Eventuais danos serão resolvidos pelo pesquisador, usando técnicas clínicas disponíveis. Caso algum implante seja perdido, o mesmo será substituído por outro. Caso seja detectada a presença de bactérias no interior do implante, estará caracterizada uma situação convencional, que ocorre em todos os sistemas de implantes atualmente, e portanto não será realizado nenhum procedimento a mais. Esta infiltração ainda é considerada inerente, até que se consiga descobrir uma maneira de bloqueá-la.

Benefícios: Não haverá um benefício direto para você, mas a pesquisa pode melhorar a qualidade no tratamento protético envolvendo próteses com implantes. Este tratamento é de alta qualidade, ou seja, uma prótese de excelência será confeccionada com uma técnica altamente previsível.

Tempo: Não será aumentado o número de consultas em decorrência da participação neste estudo. Você ficará três meses com a coroa provisória antes de poder receber a prótese definitiva.

Custos: Não haverá custo adicional para você além daqueles já previstos no seu planejamento de tratamento.

Sigilo: As informações fornecidas serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Você não será identificado em nenhum momento, mesmo quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer forma.

Você tem o direito de desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade e sem perder os benefícios aos quais tenha direito.

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa entre em contato no endereço Av. Professor Lineu Prestes, 2227, Cidade Universitária (São Paulo, SP).

Após a leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, com as minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pelo pesquisador, concordo em participar de forma voluntária e confirmo que recebi cópia deste termo de consentimento. Autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo no meio científico.

São Paulo, __ de _____ de 20__.

Assinatura: _____

Nome do Voluntário: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ CEP: _____ Telefone para contato: (____) _____

Email: _____

_____
Pesquisadora – Caroline Bosquê Keedi – CROSP 87511

_____
Orientador – Pedro Tortamano Neto – CROSP

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

PROJETO DE PESQUISA

Título: Análise do efeito de produto de vedação contra a infiltração bacteriana pela interface componente protético/implante

Área Temática:**Pesquisador:** Pedro Tortamano Neto**Versão:** 2**Instituição:** Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**CAAE:** 01658312.2.0000.0075**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****Número do Parecer:** 47826**Data da Relatoria:** 29/06/2012**Apresentação do Projeto:**

A longevidade dos implantes osseointegrados de Branemark tem sido demonstrada em estudos clínicos bem documentados, de acompanhamento a longo prazo de um grande número de pacientes tratados consecutivamente. Diversos autores desenvolveram estudos subsequentes, constatando perda óssea marginal em implantes osseointegrados e encontrando diversos tipos de microorganismos no interior de implantes. A colonização bacteriana no interior do implante e a penetração de bactérias, ou de seus produtos via microfenda na interface do pilar protético, com a plataforma do implante pode constituir um risco para a inflamação do tecido mole e perda de suporte ósseo. Implantes de dois estágios, inevitavelmente, resultam em lacunas e cavidades, entre o implante e o componente protético, podendo servir de nichos para a colonização bacteriana. Entretanto, a relevância clínica destas lacunas tem sido negligenciada pelos fabricantes e pelos clínicos. Fica claro, desta maneira, que existe uma necessidade de se aprimorar o selamento da interface de união do implante com o componente protético.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste estudo, in vivo, será analisar, se o produto acrílico indicado para o travamento das superfícies rosçadas, será capaz de promover uma vedação completa da interface de união do pilar protético ao implante, através da determinação da presença ou ausência de bactérias, na porção interna do implante, após colocar-se a prótese em função

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A descrição dos riscos considerou que os riscos são aqueles mesmos próprios dos procedimentos clínicos convencionais da instalação das próteses sobre os implantes. Já que a instalação dos implantes não faz parte da pesquisa e mas sim a instalação das próteses. O pesquisador assumiu que eventuais danos serão resolvidos por ele usando técnicas clínicas disponíveis. Não se explicou o que será feito em caso da presença de bactérias sob as próteses instaladas. Quanto aos benefícios a redação foi re-adequada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Indicar o procedimento, em caso de presença de bactérias, bem como de insucesso do implante;

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

As documentações apresentadas estavam completas e adequadas

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto de pesquisa adequado para aprovação do CEP.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Instituição co-participante

Segundo Carta Nº 0212/CONEP/CNS, de 21 de outubro de 2010, a INSTITUIÇÃO CO-PARTICIPANTE deve emitir declaração que concordar com o parecer ético emitido pelo CEP da instituição proponente, no caso o CEP-FOUSP, conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução CNS 196/96. Declarar que está ciente de suas co-responsabilidades como instituição co-participante do presente projeto de pesquisa, e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infra-estrutura necessária para a garantia de tal segurança e bem estar.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 29 de Junho de 2012

Assinado por:

Marcia Turola Wanderley

ANEXO B - Carta de Autorização – FFO FUNDECTO

fundecto
Fundação para o Desenvolvimento
Científico e Tecnológico da Odontologia

**FUNDAÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO
E TECNOLÓGICO DA ODONTOLOGIA**

**CONVÊNIO FIRMADO COM A
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

Diretoria

Diretor Presidente
Prof. Dr. João Batista de Paiva
Diretor Vice Presidente
Prof. Dr. Leonardo Eloy Rodrigues Filho
Diretora Secretária
Profa. Dra. Miriam Lacalle Turbino
Diretor Tesoureiro
Prof. Dr. Rodolfo Francisco H. Melani
Diretor Vogal
Prof. Dr. Atlas Edson Moleros Nakamae

Gerente Adm. Financeiro
Luiz Carlos Pinto Costa

Secretária
Lella Cristina Maria

Colaboradora
C. D. Letícia Mello Bezinelli

Comissão de Cursos

Presidente Comissão de Cursos
Prof. Dr. José Rino Neto

Membros:
Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Prof. Dr. Edgard Crosato
Prof. Dr. Fernando Ricardo X. da Silveira
Prof. Dr. Glaucio Fioranelli Vieira
Profa. Dra. Regina Tamaki
Prof. Dr. Paulo Eduardo Capel Cardoso

Conselho Curador

Presidente Conselho Curador
Prof. Dr. Giorgio de Micheli

Membros:
Prof. Dr. Carlos Gil
Prof. Dr. Edgard Crosato
Prof. Dr. Igor Studart Medeiros
Prof. Dr. José Rino Neto
Prof. Dr. Manuel Eduardo de L. Machado
Prof. Dr. Michel Nicolau Youssef
Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias
Prof. Dr. Waldyr Antonio Jorge

Expediente Jornal
Diretor Responsável
Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias

Of. n.º 062

São Paulo, 16 de agosto de 2011.

Prezada Professora,

Reportando-nos a sua solicitação datada de 10/08/2011, através da qual nos é solicitada autorização para a aluna do Curso de Extensão Universitária em Implantes Orais como Ferramenta na Reabilitação Oral da FFO-Fundecto, Caroline Bosque Keedi, realizar a estudo clinico com pacientes voluntários, no projeto "Análise da infiltração bacteriana pela interface componente protético/implante", o mesmo foi aprovado, desde que aprovado pelo Comitê de Ética.

Atenciosamente

Prof. Dra. Miriam Lacalle Turbino
Diretor Secretário

Prof. Dr. João Batista de Paiva
Diretor Presidente

Ilm.º Sr.

Prof. Dr. Pedro Tortamano Neto

Coordenador do Curso em Implantes Orais como Ferramenta na Reabilitação Oral