Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Departamento de Materiais Dentários e Prótese

Flávio Henrique Carriço Nogueira Fernandes

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* PELO MÉTODO DNA-CHECKERBOARD DA EFICÁCIA DE UMA
PASTA ANTIMICROBIANA E DA ADIÇÃO DE SAIS DE PRATA EM PILARES PROTÉTICOS,
NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ATRAVÉS DA INTERFACE
IMPLANTE - CONECTOR**

Ribeirão Preto

2012

Flávio Henrique Carriço Nogueira Fernandes

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* PELO MÉTODO DNA-CHECKERBOARD DA EFICÁCIA DE UMA
PASTA ANTIMICROBIANA E DA ADIÇÃO DE SAIS DE PRATA EM PILARES PROTÉTICOS,
NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ATRAVÉS DA INTERFACE
IMPLANTE - CONECTOR**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Odontologia -
Área de Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi

Ribeirão Preto

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DO TEOR TOTAL OU PARCIAL DESTA OBRA POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Fernandes, Flávio Henrique Carriço Nogueira

AVALIAÇÃO *IN VITRO* PELO MÉTODO DNA-CHECKERBOARD DA EFICÁCIA DE UMA PASTA ANTIMICROBIANA E DA ADIÇÃO DE SAIS DE PRATA EM PILARES PROTÉTICOS NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ATRAVÉS DA INTERFACE IMPLANTE-CONECTOR. Ribeirão Preto, 2012.

138p.: Il. ; 30cm.

Orientador: Vinícius Pedrazzi

Tese de Doutor, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP para obtenção do título de Doutor. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

1. DNA-Checkerboard, 2. Implantes osseointegrados, 3. Interface implante/componente protético, 4. Infiltração bacteriana.

Flávio Henrique Carriço Nogueira Fernandes

AVALIAÇÃO *IN VITRO* PELO MÉTODO **DNA-CHECKERBOARD DA EFICÁCIA DE UMA PASTA ANTIMICROBIANA E DA ADIÇÃO DE SAIS DE PRATA EM PILARES PROTÉTICOS NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ATRAVÉS DA INTERFACE IMPLANTE-CONECTOR**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Odontologia – Área de
concentração Reabilitação Oral.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

DEDICATÓRIA

A Deus que tornou tudo isso possível. Por me presentear com uma família perfeita, por me dar saúde, fé e felicidade.

A minha mãe dedico toda minha vida. Sempre estará presente em minhas lembranças e em meu coração. Sou muito feliz por ter convivido e aprendido o que realmente é bondade, carinho e amor.

No dia 16 de maio de 1996 o coração mais forte da nossa família parou.

Nesse dia, o chão se abriu. Nesse dia, Deus não existia mais. Nesse dia, a fé se foi...Surpreendentemente, tudo mudou.

Felizmente, esse coração tinha escrito uma grande história, tinha distribuído carinho, produzido ensinamentos e disseminado o amor.

Por causa desse coração, nossa família se uniu mais e mais, nossas forças aumentaram e a nossa fé se renovou!

Eu acredito em Deus, eu acredito na vida, eu acredito na continuação da vida... Sempre!

Mainha, eu sei que você está feliz, radiante, como sempre, em um lugar mais que especial, em companhia de anjos e de papai do céu... vendo a sua família crescendo cada vez mais unida, agora com três netinhos lindos e maravilhosos, nos frutos dos seus ensinamentos e amor.

Te amo com toda a minha força!! Obrigado por ser a minha mãe!

Ao meu pai e amigo por acreditar em mim, pelo grande esforço de tentar suprir a ausência de minha mãe, dedicando a mim muito amor e atenção. Por tornar possível o meu sonho de estudar fora de meu domicílio.

*Aos meus irmãos **Guga** e **Iquinho** pelo apoio em todas as minhas decisões, pela grande luta vivida em tentarmos superar a ausência de nossa mãe, por desempenharem também papel de pai em minha vida.*

*Aos meus sobrinhos, **Pedrinho**, **Dudinha** e **Clarinha**, que representam a continuação da nossa família e sempre transmitem muita alegria, amor inocente e contagiam a todos nós. Em especial, ao meu sobrinho e afilhado **Pedrinho**, por quem eu tenho uma amizade pura e sincera, e amor incondicional.*

*A **Cienne**, **Claudinha** e **Fabi**, pessoas especiais, por toda atenção, amizade e carinho. Amo vocês!*

*A minha namorada, **Vanessa**, por todos os momentos vividos, especialmente de um ano para cá, por toda ajuda, amor, carinho e compreensão. Te amo!*

Amo muito vocês!

Agradecimentos Especiais

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço em especial ao meu grande mestre, amigo, tutor e exemplo maior de profissional, o meu orientador, o **Professor Dr. Vinícius Pedrazzi**.

Agradeço em especial por todos os momentos em que soube ser amigo e orientador, por toda atenção dedicada a mim, sempre contribuindo o máximo na minha formação profissional e pessoal;

Agradeço também, pela compreensão, calma e companhia.

Agradeço por acreditar em mim e na minha capacidade, sempre, mesmo em momentos de fraquezas, dúvidas e/ou deficiências.

Posso dizer que tenho orgulho de ter participado dessa casa, ter o sobrenome, USP/Ribeirão Preto, e ter sido orientado por tão importante, capaz e excelente profissional e pesquisador.

Prof. Vinícius Pedrazzi, grande MESTRE, exemplo a ser seguido em ambos âmbitos, pessoal e profissional, receba meus sinceros agradecimentos, por toda ajuda profissional a mim desprendida e, principalmente, pela forte amizade sincera.

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, da qual tenho um imenso orgulho, por todo conhecimento adquirido durante todos estes anos que incluem o curso de de mestrado e de doutorado; nas pessoas do Diretor Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros e da Vice-Diretora, a Profª. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva.

Aos professores do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, nas pessoas do chefe do Departamento Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon e da Vice-chefe Profª. Dra. Helena de Freitas Oliveira Paranhos, pelo auxílio no aprendizado e convívio.

À Comissão Coordenadora da Área de Reabilitação Oral da FORP/USP, na pessoa da coordenadora, a Profª. Dra. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza e da vice-coordenadora, a Profª. Dra. Helena de Freitas Oliveira Paranhos.

À Comissão de Pós-Graduação da FORP-USP, na pessoa do Presidente Prof. Dr. Arthur Belém Novaes Júnior e secretárias;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo auxílio financeiro;

À PROSS, DABI-ATLANTE, por fornecer os implantes necessários para essa pesquisa;

Ao Prof. Dr. Mauro Cezar Alvares Cruz, por fornecer a pasta antisséptica (ProHeal Antisséptico® – Juiz de Fora, Minas Gerais – Brasil) que foi empregada nesta pesquisa, bem como a composição da mesma;

Aos **professores membros da banca examinadora**, por aceitarem participar desse momento especial e colaborarem com a melhoria do meu trabalho e crescimento profissional;

Ao **Cássio do Nascimento**, pela enorme contribuição dada a este trabalho, pela dedicação, amizade e toda ajuda;

Aos colegas de trabalho do Labdom, **Cássio do Nascimento**, **Murillo Pita** e **Paulo Calefi**. Obrigado por tudo!

A todos os **colegas** de doutorado e mestrado, obrigado por participarem de toda essa etapa da minha vida;

Aos **funcionários** da FORP-USP; que tornam as atividades clínicas mais simples e prazerosas;

*À **Regiane C. Tirado Damasceno** pela atenção, orientação e ajuda em todo mestrado e doutorado*

*À **Fernanda Talita** por toda paciência, atenção e compreensão;*

*À **Ana Paula Xavier** por todos os favores e orientações;*

*Às secretárias **Isabel Cristina Galino Solá** e **Regiane Cristina Moi Sacilotto** por toda a dedicação, bom humor e disponibilidade.*

*Aos funcionários das clínicas, **seu Zé**, **Silvinha**, e **Verinha** pela grande ajuda nos atendimentos clínico*

*Aos amigos, **Cássio** e **Raphael** pelas horas de descontração e amizade*

Aos colegas e professores da graduação da UFRN, pelas grandes experiências vividas, amizade e aprendizado.

Aos amigos da rua Jaguarari por participarem da minha infância e educação.

Aos meus amigos do Marista por participarem de etapa principal em minha vida.

Aos meus grandes amigos, primos e irmãos, Fernando e Rodriguinho. Muito obrigado! Vocês são meus irmão de verdade! A tia Lucimar por ser sempre especial para mim.

Aos meus amigos do curso de pós graduação por participarem comigo desse aprendizado e luta. Em especial ao pessoal do lendário happy hour da "salinha"

Aos meus Tios, Miltinho e Rejane. Muito obrigado por tudo!

À tia Kaká pelo grande amor, carinho, compreensão e felicidade.

Aos meus tios e tias, primos e primas, pela convivência nas etapas de formação e educação e pela grande amizade e companheirismo.

À vovô Carriço, vovô Dadinha, vovô Milton e Vovô Lurdinha, por todo carinho, amor e ajuda na minha educação.

À todos que torcem por mim e que de alguma forma contribuíram com esse trabalho

Resumo

FERNANDES FHCN. **Avaliação *in vitro* pelo método dna-checkerboard da eficácia de uma pasta antimicrobiana e da adição de sais de prata em pilares protéticos no controle da contaminação bacteriana através da interface implante-conector.** Tese (Doutorado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

RESUMO

A odontologia reabilitadora moderna preconiza cada vez mais o uso de implantes dentais para a substituição de dentes ausentes. É sabido que micro-organismos presentes na cavidade oral, em especial os relacionados à doença periodontal, são responsáveis pelos maiores índices de insucesso dos implantes. Este trabalho estudou a ocorrência de infiltração bacteriana através da interface implante-conector protético de implantes Cone Morse (CM) e Hexágono Interno (HI) após a associação com uma pasta antimicrobiana ou a adição de sais de prata nos pilares. Foram utilizados 72 implantes odontológicos de titânio (PROSS® - Sistema de Implantes, Dabi-Atlante, Ribeirão Preto, Brasil), 36 com conexão do tipo hexágono interno e 36 com conexão do tipo cone-morse, divididos em grupos, da seguinte forma: Grupo Pasta Antimicrobiana- 12 conjuntos implantes HI/conectores protéticos e 12 conjuntos implantes CM/conectores protéticos, Grupo Íons de Prata- 12 conjuntos implantes HI/conectores protéticos e 12 conjuntos implantes CM/conectores protéticos e Grupo Controle- 12 conjuntos implantes HI/conectores protéticos e 12 conjuntos implantes CM/conectores protéticos. Os implantes e os conectores protéticos foram retirados de suas embalagens para aplicação do torque final (20N/cm). Antes disso, em um dos grupos experimentais, uma camada da pasta antimicrobiana foi aplicada sobre a superfície interna dos implantes e conectores protéticos e seus respectivos parafusos. Os conjuntos implantes-conectores foram parcialmente imersos na solução de saliva humana em tubos de ensaio e incubados em estufa bacteriológica a 37°C durante 7 dias. Após esse período, amostras do conteúdo interno dos conjuntos implantes-conectores protéticos dos 3 grupos foram colhidas com o objetivo de detectar e quantificar os micro-organismos presentes, utilizando para isto, a técnica de hibridização com sondas de DNA genômico DNA Checkerboard. Os implantes de conexão do tipo cone morse apresentaram menores valores de contagem de bactérias quando comparados aos implantes hexágono interno no grupo Controle ($p < 0,001$), já para o grupo Íons de prata e Pasta antimicrobiana, foi observado comportamento inverso, maiores valores de contagem de bactérias para os implantes Cone Morse. Comparando-se os implantes de mesma conexão, entre os 03 grupos examinados, as amostras dos implantes Cone Morse dos grupos Controle, Íons de prata e Pasta antimicrobiana apresentaram valor de contagens de micro-organismos em ordem crescente. Os implantes de conexão hexágono interna dos grupos Controle apresentaram maiores valores de contagens de micro-organismos seguidos pelos implantes do grupo Pasta antimicrobiana e Íons de prata, respectivamente. A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que houve a passagem dos 43 micro-organismos analisados *in vitro* através da interface implante/componente protético em ambos os sistemas avaliados. Para ambos os tratamentos (adição de sais de prata às paredes dos pilares protéticos e aplicação da pasta antimicrobiana no interior dos implantes) houve diminuição da infiltração microbiana no interior daqueles sistemas de conexão do tipo Hexágono Interno.

Descritores: Implantes osseointegrados, Interface implante/componente protético, Infiltração microbiana, Técnica de hibridização Dna Checkerboard.

Abstract

FERNANDES FHCN. *In vitro* evaluation by DNA checkerboard method of the efficacy of an antimicrobial paste and addition of silver salts in prosthetic abutments for the control of bacterial contamination at the implant-connector interface. Thesis (Doctoral in Oral Rehabilitation). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

ABSTRACT

The contemporary and modern dentistry has been preconized the use of dental implants for replacement of missing teeth. The micro-organisms presents in oral environment, particularly those related to periodontal disease, are responsible for the highest failure rates of dental implants. This study evaluated the occurrence of bacterial leakage through the abutment-implant interface in Morse Taped (CM) and Hexagon Internal (HI) dental implants after the association with antimicrobial paste or addition of silver salts on the abutments. 72 titanium dental implants (Pross ® - Implant System, Dabi-Atlante, Ribeirão Preto, Brazil), 36 with internal hexagon connection type and 36 with cone-morse connection type, divided into groups as follows: group Antimicrobial Paste -12 implants HI / prosthetic connectors and 12 implants CM / prosthetic connectors, group Ion Silver-12 implants HI / prosthetic connectors and 12 implants CM / prosthetic connectors and Control Group-12 implants HI / prosthetic connectors and 12 implants CM / prosthetic connectors. The implants and prosthetic connectors have been removed from their packaging for applying of final torque (20N/cm). Previously, in one experimental group, a layer of antimicrobial paste was applied on the inner surface of implants and prosthetic connectors. The sets connector/implants were partially immersed in human saliva solution in test tubes and incubated in bacteriological oven at 37 ° C for 7 days. Subsequently, samples of the contents of internal prosthetic sets implant-connectors of the 3 groups were collected to detect and quantify micro-organisms, through the DNA Checkerboard Hybridization Technique. The morse taper implants had significantly lower bacterial count compared to internal hexagon implants in the control group ($p < 0.001$), while for the group of Silver Ion and antimicrobial Paste, we observed an inverse behavior, higher counts of micro-organisms for Morse taper implants. Comparing the same connection implants, among the 03 groups examined, samples of implants Morse Taper Control groups, Antimicrobial Paste and Silver ions exhibited values of counts of micro-organisms in ascending order. The internal hexagon implants of the Control group showed higher counts of microorganisms followed by Antimicrobial Paste and Silver Ions groups, respectively. The 43 species analyzed in vitro infiltrated through the interface implant / abutment in both systems evaluated; For both the treatments (adding silver salts in the abutments walls and applying of the antimicrobial paste within the implants) there was decreased microbial leakage through the interface connection for the internal hexagon dental implants.

Key words: Osseointegrated implants, Implant/abutment interface, micro-organisms leakage, DNA-Checkerboard hybridization.

Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Implantes avaliados (Parafusos de fixação): A) Hexágono interno e B) Cone morse.....	59
Figura 2 –	Implantes avaliados (Parafusos de fixação) e seus respectivos componentes protéticos: A) Hexágono interno e B) Cone morse	60
Figura 3 –	Fluxograma representativo das etapas laboratoriais do presente estudo	61
Figura 4 –	Demonstração da aparência e consistência da Pasta antimicrobiana (ProHeal Antisséptico® - Juiz de Fora, Minas Gerais – Brasil) utilizada no estudo	64
Figura 5 –	Imersão parcial dos conjuntos implantes-conectores na solução de saliva humana, limitando-se a travessia dos micro-organismos através da interface implante-conector, e não por dentro do parafuso de acesso oclusal. A) Hexágono interno e B) Cone morse	64
Figura 6 –	Acomodação das escovas do tipo microbrush, de forma individual, em eppendorfs dispostos em caixa para resfriagem	66
Figura 7 –	Espécies de micro-organismos, descritos na Tabela 1, e selecionados para serem alvo no teste de contaminação através da interface implante-conector.....	68
Figura 8 –	Placa metálica Minislot 30 (Immunetics, EUA)	71
Figura 9 –	Acomodação da membrana de nylon Hybond N+ na placa metálica Minislot 30 para processamento das amostras.....	71
Figura 10 –	Aplicação das amostras e os controles 10^5 e 10^6 em canaletas individuais	72
Figura 11 –	Aparelho Miniblotter 45 (Immunetics, USA) usado para aplicação das sondas dos micro-organismos com membrana acomodada	73
Figura 12 –	Cassete de exposição Hypercassete (GE Healthcare, UK) para revelação e detecção dos sinais de hibridização das membranas estudadas	74

Figura 13 –	Filme radiográfico com os sinais detectados pelas sondas de DNA	75
Figura 14 –	A: Inserção da imagem da membrana digitalizada no software; B: a imagem pode ser convertida para a forma negativa; C: seleção das bandas a serem analisadas; D: marcação dos sinais de hibridização a serem quantificados.....	76
Figura 15 –	Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone-Morse do grupo Controle após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.....	79
Figura 16 –	Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Hexágono Interno do grupo Controle após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.....	80
Figura 17 –	Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone-Morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.....	81
Figura 18 –	Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Hexágono Interno do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.....	82
Figura 19 –	Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse do grupo Íons de prata após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.....	83
Figura 20 –	Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse do grupo Íons de prata após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.....	84

- Figura 21** – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e cone morse do grupo Controle após 07 dias de incubação.(Diferenças significantes entre as contagens detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis; $p < 0,001$ para o grupo cone morse) 86
- Figura 22** – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e cone morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação.(Não houve diferenças significantes entre as contagens detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis; $p > 0,05$) 87
- Figura 23** – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e cone morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação.(Não houve diferenças significantes entre as contagens detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis; $p > 0,05$) 88
- Figura 24** – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de cone morse dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação..... 89
- Figura 25** – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação.... 90
- Figura 26** – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e cone morse do grupo Controle após 07 dias de incubação (Não houve Diferenças significantes detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$) 93
- Figura 27** – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e cone morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação (Houve Diferenças significantes detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) .. 94

- Figura 28** – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes cone morse dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação (Não houve Diferenças significantes detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis, $p>0,05$) 95
- Figura 29** – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes cone morse dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação)..... 96
- Figura 30** – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes cone morse dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação)..... 97

Lista de Tabela

LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Espécies de micro-organismos selecionados para serem alvo no teste de contaminação através da interface implante-conector.....	67
--	----

Sumário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	26
1.1. Origem e História dos Implantes Odontológicos e Osseointegração	30
1.2. Colonização Bacteriana e Doença Peri-implantar	33
1.3. Interface Implante/Componente Protético	44
2. PROPOSIÇÃO	56
3. MATERIAL E MÉTODOS	58
3.1. Implantes utilizados	59
3.2. Aquisição da saliva	62
3.3. Análise da contaminação dos grupos controle, pasta antimicrobiana e íons de prata	63
3.4. Coleta do controle negativo para avaliação pelo método DNA Checkerboard	65
3.5. Coleta das amostras dos grupos experimentais para avaliação pelo método DNA Checkerboard	65
3.6. Reconhecimento e quantificação das bactérias pelo método de hibridização DNA Checkerboard	66
3.7. Seleção dos micro-organismos e extração do DNA para a confecção das sondas dos microrganismos	66
3.8. Purificação e quantificação do DNA	69
3.9. Marcação das sondas	69
3.10. Teste de sensibilidade e especificidade das sondas dos micro-organismos	70
3.11. Processamento das amostras	70
3.12. Aplicação das sondas e reação de hibridização	72
3.13. Verificação dos sinais de hibridização	73
3.14. Interpretação dos sinais	75
3.15. Processo da análise dos dados	76
4. RESULTADOS	77
5. DISCUSSÃO	99
6. CONCLUSÕES	113
REFERÊNCIAS	115
APÊNDICES	130

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

O uso de implantes odontológicos para a substituição de dentes ausentes tem-se tornado uma prática importante na Odontologia moderna. Vários tipos de implantes estão disponíveis para a aplicação em diferentes casos clínicos e um número crescente de Cirurgiões-Dentistas tem adotado essa forma de tratamento.

A busca por uma restauração que substituísse não só as coroas clínicas dos dentes e também suas raízes, oferecendo maior estabilidade e conforto, sempre motivou pesquisas. Segundo Albrektsson et al. (1988), os trabalhos realizados com implantes, na época, demonstravam um resultado pouco previsível, caracterizado por perdas ósseas severas e infecções frequentes. Os implantes dos tipos parafuso intraósseo, agulhado, laminado e subperiosteal, foram considerados responsáveis pela baixa credibilidade e alto índice de insucesso naquele período.

O reconhecimento da implantodontia ocorreu somente a partir do início dos anos 80, com a divulgação dos protocolos de colocação dos chamados implantes osseointegrados, fabricados a partir de cilindros de titânio, um metal com alto grau de biocompatibilidade (Branemark et al., 1985).

O sucesso primário dos implantes se deve a uma perfeita osseointegração. No entanto, caso não ocorra uma perfeita adaptação entre o implante e seus componentes protéticos, a área torna-se favorável à colonização bacteriana, levando ao desenvolvimento de patologia peri-implantar, com comprometimento na manutenção da osseointegração (Jansen et al., 1997).

Atualmente, o tratamento com implantes osseointegrados segue um protocolo muito parecido para a grande maioria dos sistemas de implantes. Na verdade, muitas dúvidas ainda existem quanto aos princípios biomecânicos que regem o funcionamento do conjunto quando a função mastigatória é exercida

(Steinebrunner et al., 2005). Sabe-se, entretanto, que um ponto chave dessa questão é a adaptação entre os componentes. A falta de adaptação pode causar danos mecânicos, como fraturas e desaperto de parafusos, além de danos biológicos, como peri-implantites, relacionados à dificuldade de higienização e retenção de bactérias nos espaços entre os componentes (Quirynen et al., 1994).

A estética deficiente de pacientes edêntulos totais ou parciais influencia negativamente no bem-estar social e autoestima do indivíduo. Configura-se costume, na odontologia atual, o emprego de implantes odontológicos osseointegrados na substituição de dentes perdidos ou ausentes, representando um utensílio restaurador efetivo no suporte de próteses parciais fixas e removíveis.

Várias marcas comerciais de implantes com diferentes tipos de parafusos, tratamentos de superfícies e conectores estão disponíveis para o uso em diferentes situações clínicas e uma quantidade cada vez maior de cirurgiões-dentistas tem escolhido esse tipo de terapia.

A afirmação do uso de implantes seguindo a técnica de Branemark acompanha uma continuidade determinada por protocolos cirúrgicos e protéticos. Primeiramente, segue-se a instalação do implante por meio da preparação de um sítio cirúrgico no tecido ósseo. Posteriormente a instalação do implante e após 4 a 6 meses, tempo essencial para a osseointegração, um novo processo cirúrgico será realizado para possibilitar a acomodação do intermediário ou pilar protético, o qual será fixado na parte interna do implante; e conectado a prótese que irá repor o dente, por meio de um parafuso de fixação ou por agente cimentante.

A partir do processo cirúrgico para fixação do implante e em todo o tempo em função na cavidade oral, podem ser desencadeados processos infecciosos adjacentes à crista óssea alveolar, região na qual se localiza a junção entre implante

e pilar protético, estimulando e acelerando a instalação de inflamações semelhantes à periodontite, as chamadas peri-implantites.

A osseointegração insuficiente é distinguida pela deterioração do osso de suporte, e sintomas como dores espontâneas ou provocadas pelo apertamento das próteses, percussão ou palpação. Inflamações locais, sangramento à sondagem e vermelhidão podem ser identificadas (Mombelli et al., 1988).

O processo de falha óssea pode estar agregado a elementos microbiológicos ou mecânicos (Piattelli et al., 2001; Quirynen et al., 2002).

Considerando-se os fatores microbiológicos foi destacado que, em implantes situados em áreas de formação de bolsas profundas, a microbiota se mostra em seu maior segmento, composta por micro-organismos anaeróbios e preponderantemente Gram-negativos, assimilando-se aos dentes com comprometimento periodontal (Koka et al., 1993; Rimondini et al., 2001).

Atualmente, mudanças na topografia de superfície, no formato e na conexão protética dos implantes são propostas com o intuito de restringir ou erradicar as deficiências das conexões tradicionais dos implantes.

A transmissão e conseqüente incursão de microrganismos em sítios ósseos e no interior de implantes ocorre durante a primeira e segunda fases cirúrgicas da fixação do implante (Quirynen et al., 1994, 2002) e na própria cavidade bucal durante os movimentos funcionais, subsequentemente à instalação da prótese (Rimondini et al. 2001).

Aberturas e cavidades entre componente protético e implante propiciam calabouços que podem abrigar micro-organismos originadores de infecções e reações inflamatórias nos tecidos moles peri-implantares (Guindy et al., 1998; Teixeira et al., 2011).

Quanto maior o grau de desajuste existente na interface implante-componente, maior a quantidade de micro-organismos que poderão se alojar na interface, aumentando-se assim a chance de ocorrer uma inflamação peri-implantar, com insucesso no tratamento protético (Teixeira et al., 2011).

Assim, novos sistemas de implantes, com variados tipos de conexões e tratamentos de superfícies são rotineiramente lançados no mercado, oferecendo novas propriedades, características de superfície e adaptação dos componentes. Ainda, a utilização de agentes antissépticos e/ou antimicrobianos é cada vez mais recomendada e estes podem ser aplicados para impedir ou diminuir a instalação dos processos infecciosos.

1.1. Origem e História dos Implantes Odontológicos e Osseointegração

Aproximadamente em 1960, Brånemark observava a microcirculação sanguínea em ossos de coelho com ajuda de uma câmara em titânio, quando notou que o metal e o osso se integravam perfeitamente, sem haver rejeição. A partir desta observação, desenvolveu cilindros personalizados para serem implantados na tíbia de coelhos e cães, e essa atitude tornou-se mais tarde uma base segura, modificada e otimizada para receber próteses.

Em meados dos anos 60 a reabilitação oral de pacientes edêntulos executada com uso de implantes dentários era precária e pouco eficiente. Tal fato era devido ao grande emprego de implantes laminados, parafuso intraósseo, agulhado e subperiosteal. Durante a década de 70, resultados clínicos de pacientes tratados com implantes Brånemark demonstraram avanços, principalmente, em virtude de mudanças em grande número de parâmetros, tais como aumento do

tamanho e desenho dos implantes, prolongamento do período de cicatrização e alterações de protocolos cirúrgicos e protéticos. (Albrektsson et al., 2005)

Naquela época, um estudo experimental e um caso clínico foram publicados criando e discutindo um termo novo e fundamental para a aplicação e desenvolvimento dos implantes dentários, a osseointegração. (Branemark et al, 1969, 1977). Apesar do avanço indiscutível dos implantes dentais, na primeira metade dessa década, a osseointegração não era amplamente aceita devido aos fracos resultados clínicos apresentados, sendo considerada como impossível de se acontecer por inúmeros profissionais e estudiosos. (Southam et al., 1970)

A definição de osseointegração foi criada a partir dos estudos de Brånemark et al. (1969) que recomendavam a ocorrência de ancoragem direta da estrutura do implante no osso, sem que houvesse a presença de tecido conjuntivo nessa interface. A osseointegração foi então determinada como a relação estrutural, imediata e funcional entre o osso regular, uniforme e sadio com toda extensão da superfície do implante, em nível de microscopia óptica, constante, consistente e com eficácia no suporte das forças mastigatórias (Brånemark et al., 1985; Adell, 1986; Albrektsson, 1988; Albrektsson e Sennerby, 1990; do Nascimento et al., 2011; Teixeira et al., 2011).

Em 1976, após o Swedish Board for Health and Welfare autorizar grupos de pesquisadores suecos a efetuarem revisões clínicas de pacientes tratados com implantes osseointegrados, somados a estudos similares desenvolvidos na Suíça (Schroeder et al., 1978) e Alemanha (Schulte et al., 1976), foi iniciado o processo de entendimento, desmistificação e aprovação dos implantes com ancoragem óssea.

Os três mais importantes passos para a divulgação da mensagem dessa terapia revolucionária, implantes dentais com ancoragem óssea e

biocompatibilidade, que tiveram grande impacto na área da odontologia, foram, respectivamente, a Réplica de Estudos de Toronto, em 1979, a Conferência de Toronto, ocorrida em 1982 e a publicação do estudo Tissue-Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry, em 1985 (Zarb, 1983; Branemark et al., 1985; Bryant, 2001).

Após ser provado por pesquisas clínicas e laboratoriais que a possibilidade do uso dos implantes em função ordenada com o sistema estomatognático é real, o desenvolvimento dessa área gira em torno de melhorias estéticas e funcionais, aprimoramento dos desenhos dos implantes e uso simplificado. Atualmente, há possibilidade de aplicação de carga imediatamente após o processo cirúrgico e instalação dos implantes ou em até 6 dias após tal procedimento, em casos em que os leitos apresentam boa qualidade e quantidade óssea. (Albrektsson et al., 2004)

Até o início dos anos 80, os elementos dentários perdidos em pacientes edêntulos, parcial ou totalmente, eram repostos, principalmente, por meio de próteses parciais fixas, próteses parciais removíveis e totais (Dixon et al., 1995).

O emprego de implantes osseointegrados na prática odontológica tem apresentado um alto índice de sucesso quando corretamente indicado, sendo, portanto, extensivamente pesquisado e relatado na literatura (Bränemark et al., 1985; Albrektsson et al., 1988; Albrektsson et al., 2005). Sendo que o sucesso desse tratamento está ligado de forma íntima com diversos fatores, dentre os quais, destaca-se a ocorrência de uma perfeita osseointegração.

Por sua vez, o êxito da osseointegração depende da forma como o estresse mecânico é transmitido do implante para o osso. Sendo assim, tanto o implante como o osso não devem ser submetidos a forças extremas. (Skalak, 1983) As exigências para que se obtenha uma completa osseointegração são:

biocompatibilidade do material, forma e configuração adequada do implante, aplicação de técnicas cirúrgicas atraumáticas na preparação do leito ósseo e colocação do implante, e um período de cicatrização do tecido ósseo sem submissão de carga (Brånemark et al, 1985).

1.2. Colonização Bacteriana e Doença Peri-implantar

Pesquisas importantes demonstram que além de fatores oclusais desfavoráveis, variados micro-organismos presentes na cavidade oral, em especial os relacionados à doença periodontal, são responsáveis pelos maiores índices de insucesso dos implantes (Ong et al., 1992; Sbordone et al., 1995; Listgarten e Lai, 1999).

Alguns autores encontraram um paralelo entre estado de saúde e de doença para dentes naturais e implantes (Papaioannou et al., 1995; Mombelli et al., 1997; Salcetti et al., 1997). A microbiota envolvida no comprometimento dos tecidos periodontais parece ser a mesma que a encontrada em casos de peri-implantites. Por outro lado, dentes e implantes livres de problemas parecem estar relacionados a um mesmo tipo de microbiota.

Van Steenberghe et al. (1993), avaliando os tecidos de suporte em dentições naturais e em implantes, observaram que índices mais elevados de placa bacteriana estão frequentemente associados à ocorrência de inflamação dos tecidos de suporte em ambos os casos. A presença de bactérias periodontopatogênicas nos sulcos peri-implantares e a presença de dentes com periodontite próximos a implantes dentais são considerados fatores de risco para o sucesso dos implantes (Gouvoussis et al., 1997; Saito et al., 1997).

Sistemas de implantes de dois estágios, Bränemark-compatíveis, embora sejam os mais empregados, inevitavelmente apresentam espaços entre o implante e o conector protético, os quais podem servir de abrigo para microrganismos potencialmente capazes de provocar reações inflamatórias nos tecidos peri-implantares. A instalação de processos inflamatórios relacionados a junção implante-conector protético, mesmo sob meticuloso controle de placa em tecidos gengivais aparentemente saudáveis, foi evidenciada em cães (Ericsson et al., 1995).

Na maioria desses sistemas, a plataforma do implante é posicionada ao nível da crista alveolar, o que expõe o tecido ósseo adjacente ao risco de uma contaminação/infecção microbiana. A presença de espaços entre os componentes de alguns sistemas de implantes pode exercer uma influência negativa sobre os tecidos moles adjacentes (Hertel e Richter, 1988).

A passagem de algumas espécies de bactérias através dos parafusos de fixação dos conectores e próteses, do interior de implantes para o meio externo e em sentido contrário, foi observada em alguns experimentos *in vitro* (Jansen et al., 1997; Guindy et al., 1998; Piatelli et al., 2001; Steinebrunner et al., 2005; do Nascimento et al., 2008).

Jansen et al. (1997) relataram que os sistemas de implantes com dois estágios resultam em fendas e cavidades entre implante e conectores, que podem agir como um alçapão para bactérias, favorecendo o aparecimento de processos inflamatórios no tecido mole peri-implantar. Os autores observaram, *in vitro*, a passagem do microrganismo *Escheria coli* através destas fendas em treze diferentes combinações implantes-conectores protéticos a partir de nove sistemas de implantes (Ankylos, Astra, Bonelit com pilar cônico, Bonelit com pilar octa, Branemark, calcitek, frialit-2 com anel de silicone, frialit-2 com pilar convencional, Há – Ti com coroa, Há –

Ti com pilar telescópico, IMZ com TIE e IMZ com IMC e Semados). A média da extensão da fenda marginal entre o implante e o conector foi menor que 10µm para todos os sistemas. A passagem do micro-organismo através da fenda foi observada em todos os sistemas, ocorrendo uma diminuição significativa quando o implante Frialit-2 foi unido ao conector com um anel de silicone.

A exequibilidade das células bacterianas e sua capacidade de adesão são de fundamental importância para o seu crescimento e posterior colonização (Gibbons e Van Houte, 1971, 1975). Inicialmente, essa colonização ocorre por meio da aderência seletiva dos micro-organismos a distintas superfícies (Gibbons, 1984).

A população bacteriana primitiva nas bolsas peri-implantares é caracterizada por grande quantidade de estreptococos anaeróbios facultativos, portanto gram-positivos. Todavia, foi constatada pequena quantidade de espécies anaeróbias Gram-negativas em colonizações peri-implantares iniciais em casos isolados. Progressivamente com o decurso do tempo, ocorre uma diminuição dos estreptococos facultativos e uma ampliação de gram-negativos anaeróbios estritos (Mombelli et al., 1988; Mombelli e Mericske-Stern, 1990).

Há deposição bacteriana nas superfícies dos implantes, da mesma forma que acontece nos dentes naturais. As características de superfície dessas estruturas podem justificar o menor ou maior acúmulo de biofilme. É relatado que a fixação dos micro-organismos em faces rígidas é influenciada pela rugosidade das mesmas, desta forma, quanto maior a rugosidade maior a intensidade de colônias constituídas (Quirynen et al., 1993).

Edgerton et al. (1996) ao averiguarem a aderência de dissimilares espécies de estreptococos à superfície do titânio descreveram que o *S. sanguinis* e *S. oralis* exibiram maior adesão a essa estrutura. Essas bactérias progridem comumente em

sítios peri-implantares sadios, porém, contribuem com a organização inicial do biofilme bacteriano, podendo propiciar a colonização secundária por tipos de bactérias patogênicas.

Socransky et al. (1998) estudaram, pela técnica de diagnóstico molecular de DNA, a microbiota subgengival de 185 pacientes, e destacaram a existência de interações microbianas, distribuindo-as em distintos complexos. De acordo com os autores, os micro-organismos do complexo vermelho (*P. gingivalis*, *T. Forshytia* e *T. denticola*) estão agregados às bolsas periodontais profundas, e a maior destruição dos tecidos periodontais procede da presença destas bactérias na microbiota gengiva. Os autores mencionaram que estes micro-organismos estão fortemente ligados aos do complexo laranja, que abrange as espécies *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Campylobacter*. Estas informações sugerem um encadeamento na colonização de acordo com os complexos, sendo o laranja antecessor e menos ofensivo que o vermelho.

Leonhardt et al. (1999) efetuaram, pelo método de cultura, uma análise comparativa das transformações qualitativas da microbiota do contorno subgengival de implantes com sinais clínicos de peri-implantites com a microbiota encontrada nos sulcos de implantes saudáveis ou sem peri-implantites. No entorno dos implantes com comprometimento periodontal, ocorreu uma preponderância de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Prevotella nigrescens* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, habitualmente encontrados em sítios dentais acometidos de periodontites. Por outro lado, implantes contornados por tecido sadio evidenciaram uma microbiota associada à saúde periodontal, denotando correlação entre a região peri-implantar e periodontal, evidenciando assim, a necessidade do diagnóstico microbiológico o mais precoce possível, para

servir como guia no tratamento antimicrobiano de sítios peri-implantares ou periodontais comprometidos.

Analisando elementos da literatura vinculados à composição microbiológica entre dentes e implantes, Listgarten e Lai (1999) confrontaram a organização de patógenos periodontais ao redor de implantes falhos e em dentes naturais com periodontite crônica e periodontite refratária. Apurou-se que o micro-organismo *B. forsythia* foi verificado em maiores valores nas amostras dos dentes que dos implantes. Em contrapartida, as espiroquetas, seguidas por *Fusobacterium* e *P. micra* foram mais prevalentes em implantes. Contudo, não se observou diferença significativa do *C. rectus* entre implantes e dentes. Observou-se, portanto, disparidades de espécies de micro-organismos em implantes falhos e dentes com periodontite. Entretanto, a frequência e níveis de micro-organismos achados em periodontite crônicas ou refratárias acontecem de modo semelhante.

Van Winkejhoff et al. (2000) avaliaram em indivíduos desdentados parciais a progressão da colonização de bactérias em bolsas periodontais e peri-implantares. Para isso, amostras para o teste microbiológico foram colhidas em distintos momentos; anteriormente a cirurgia, durante a manobra cirúrgica e nos períodos sugeridos posteriormente a instalação das próteses. No exame preliminar, foi achada prevalência superior dos micro-organismos *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermédia* e *Peptostreptococcus micra*. Após seis meses da instalação das próteses, a maioria das amostras coletadas dos implantes foram espécies microbianas coincidentes às encontradas nos sítios periodontais. Assim, pode ser concluído que, após esse período, já se nota uma similaridade de micro-organismos entre bolsa periodontal e bolsa peri-implantar.

Segundo Mombelli et al. (2001), a periimplantite não é sinônimo de “falha do implante”. Por conseguinte, a presença de uma inflamação nos tecidos peri-implantares não expressa que, obrigatoriamente, haverá um comprometimento da osseointegração e consequente perda do implante.

Quirynen et al. (2005) examinaram microbiológico e clinicamente o comportamento de implantes após uso de 10 anos por 37 pacientes desdentados e reabilitados oralmente com próteses totais superiores convencionais e próteses inferiores retidas por meio de implantes (Branemark System, Nobel Biocare. Para avaliação microbiológica, amostras bacterianas subgengivais foram coletadas de dois implantes de cada paciente, e então, analisadas com uso da técnica de hibridização de DNA Checkerboard. Posteriormente ao tempo de carga (10 anos), a microbiota subgengival dos implantes de todos os grupos foram comparáveis entre si, apresentando baixa frequência de espécies bacterianas, mas alta detecção para os microrganismos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia*.

Gerber et al. (2006) ao ponderarem pela técnica de “*Checkerboard DNA-DNA Hybridization*” a flora e a fauna microscópica de dentes e implantes a partir da coleta de material do fluido crevicular e de placa subgengiva, em um total de 28 indivíduos, observaram que, a constituição bacteriana do fluido gengival de amostras de implantes evidenciou maior número de *T. forsythia* e *T. Denticola*. Além do mais, nenhuma diferença na quantidade de bactérias foi observada na placa subgengival dos dentes remanescentes e no sulco peri-implantar. Desta maneira, evidenciou-se que, a análise conjunta do fluido crevicular e da placa subgengival podem expor informações mais seguras a respeito da situação microbiológica tanto periodontal quanto peri-implantar.

A peri-implantite e a periodontite estão ligadas à presença de vários patógenos-chave. O tratamento destas patologias, portanto, envolve a redução/erradicação destes micróbios. (Quirynen et al., 2006).

do Nascimento et al. (2008) avaliaram, in vitro, a passagem do microrganismo *Fusobacterium nucleatum* através da interface entre implantes e conectores protéticos fundidos e pré-fabricados. Foram avaliados 10 conjuntos para cada tipo de conector. Ao final de 14 dias, somente um conjunto de cada grupo apresentou a passagem do micro-organismo através da interface implante-conector.

Canullo et al. (2010) desenvolveram um estudo microbiológico pelo método de hibridização DNA Checkerboard da microbiota em torno de implantes restaurados convencionalmente e a partir do conceito *Platform Switching*. Para a elaboração desse trabalho, foram usados um total de 48 implantes, sendo 33 restaurados utilizando-se a *Platform Switching* e os outros 15 restaurados da forma convencional que serviram de grupo controle. Os resultados dessa pesquisa evidenciaram que os implantes restaurados pelo método habitual apresentaram maiores valores de contaminação bacteriana em relação aos implantes restaurados em *Platform Switching* e elevados níveis de micro-organismos das espécies *F. nucleatum*, *P. micra* e *P. intermedia*.

do Nascimento et al. (2011), investigaram a infiltração bacteriana através da interface pilar protético e implante pelas técnicas de cultura bacteriana e de hibridização DNA Checkerboard em implantes com conexão do tipo hexágono externo. 30 Implantes e respectivos conectores foram inoculados em saliva humana e incubados em ambiente anaeróbio durante 7 dias. Em seguida, 15 conjuntos implante/pilar protético foram analisados pelo método de cultura bacteriana e os outros 15 pelo DNA Checkerboard. Ambos os procedimentos mostraram sinais

positivos de contaminação bacteriana em 6 das 15 amostras. As bactérias *C. gingivalis* e *S. mutans* exibiram maior prevalência seguidas pela *V. parvula*. Os autores concluíram que a detecção dos micro-organismos apresentou similaridade pelos dois processamentos, cultura bacteriana e DNA Checkerboard. Os autores enalteceram a importância do desenvolvimento de novos estudos, em implantes de outros tipos de sistemas e com outras conexões, a cerca da infiltração bacteriana quando inoculados em saliva humana.

Para impedir que micro-organismos danosos ultrapassem a junção implante/conector, se alojem no interior dos implantes e, possivelmente, desencadeiem peri-implantites, perdas ósseas e dos implantes, as indústrias fabricantes dos implantes e institutos de pesquisa têm objetivado aprimorar desenhos dos pilares e implantes, desenvolver produtos e/ou adicionar substâncias com ação potencial, química ou física, no combate a esses micróbios.

Idealmente os desinfetantes químicos devem ter espectro antimicrobiano o mais amplo possível; ação rápida sobre formas vegetativas e esporos de bactérias e fungos, protozoários e vírus; não ser afetado por fatores físicos, como matéria orgânica (sangue, saliva), outros sabões, detergentes ou substâncias químicas; ser atóxicos aos tecidos; inodoros; econômicos; de fácil utilização; e ao mesmo tempo não promover alterações superficiais que causem danos ao objeto desinfetado (Cottone e Molinari, 1987; Molinari et al., 1988; Molinari e Runnells, 1991; Fernandes et al., 2012).

Um agente químico bastante utilizado na área da saúde em geral e em algumas subáreas da odontologia, como a endodontia, é o iodofórmio. Esse antisséptico contém iodo em concentração 96% e por causa da sua instabilidade química, em contato com secreções ou áreas infectadas, libera iodo (Sturridge,

1924) que dificulta ou impede a atividade, função e proliferação dos micróbios, destruindo-os rapidamente (Prins e Dobbs, 1941).

O iodofórmio é um Composto volátil, cristalino, amarelo, com fórmula química CHI_3 , de cheiro persistente, penetrante, produzido por hidrólise de uma solução alcalina de iodeto metálico em álcool ou acetona e tem largo uso como curativo antisséptico.

O iodofórmio foi divulgado por Serullas (1822), ingressado na terapêutica por Boucharadt (1836) devido ao seu potencial anestésico, antissifilítico e antisséptico (Daniel, 1998).

Walkhoff (1928) desenvolveu uma das primeiras pastas para ser utilizada na endodontia, sendo essa, amplamente difundida e utilizada tempos depois. A sua composição era de 60% de iodofórmio e os 40% restantes de uma combinação de clorofenol, álcool canforado e mentol (Castagnola e Orlay, 1952).

Castagnola e Orlay (1952) aplicaram culturas puras de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus* e culturas mistas de aeróbios e anaeróbios afim de analisar a atividade antisséptica de várias pastas medicamentosas por meio da difusão em ágar. Os melhores resultados foram obtidos pelas pastas iodoformadas.

Maisto (1965) relatou que as pastas à base de iodofórmio têm valor antisséptico relativo, atua em melhores condições desprovidas de oxigênio, em ambientes alcalinos e a sua ação depende da quantidade, concentração das drogas e da sua velocidade em ser reabsorvido.

Wright et al. (1994) indagaram o hipotético efeito antimicrobiano de uma pasta à base de iodofórmio. Para isso, foi equiparado a sua ação antimicrobiana e

citotóxica com o óxido de zinco por meio do método de difusão em ágar, confrontando os halos de inibição formados. Utilizou-se como controle a cepa *Streptococcus faecalis*. Os resultados demonstraram que o óxido de zinco promoveu uma área de inibição consideravelmente maior do que o iodofórmio.

Cruz et al. (2001) testaram a efetividade de uma pasta antimicrobiana à base de iodofórmio no controle da infiltração bacteriana através da interface implante/componente protético. Os autores relataram uma diminuição de 98% dos sintomas avaliados, peri-implantites, abscessos e fístulas nos implantes em que a pasta foi aplicada em relação àqueles do grupo controle, em que a pasta não foi aplicada.

Desde a antiguidade, a prata é reconhecida pela sua função bactericida. Essa substância apresenta propriedades antimicrobianas para um largo espectro de micro-organismos, incluindo bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos (Panácek et al., 2006).

Pesquisadores indianos apontaram que as nanopartículas de prata são efetivas contra bactérias gram-positivas, tais como cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* e também eficazes para o tratamento de algumas espécies gram-negativas, como a *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Admite-se que íons de prata (Ag^+) reage com grupos sulfúricos das membranas dos micro-organismos, promovendo desarranjo celular, alteração de sua permeabilidade e, conseqüentemente, morte da célula microbiana. Os íons de prata podem agir também impedindo a reprodução celular após interação com o DNA do micro-organismo e posterior desarranjo (Damm et al., 2008).

Estudos (Kumar et al., 2005; Dammet al., 2007 Damm et al., 2008) têm avaliado a liberação de íons de prata (Ag^+) provenientes de polímeros poliamida (PA) e caracterizado-os morfologicamente por meio de microscopia eletrônica de transmissão (MET) e de varredura (MEV). Foi destacado que quanto menor o diâmetro das partículas melhor a sua distribuição e a dispersão na massa polimérica (Kumar et al., 2005), a liberação foi superior em polímeros mais hidrofílicos (Damm et al., 2007) e que a liberação de prata era ampliada com o aumento da concentração de íons (Ag^+) adicionada ao polímero com o progredir do tempo de imersão em água (Kumar et al., 2005).

Furno et al. (2004) ao inserirem nanopartículas de prata a um silicone utilizado em implantes médicos, constataram que as taxas de liberação de íons de prata em água deionizada foi 10 vezes inferior ($<0,5$ ppm) à liberação em proteína plasmática (4 ppm) após 5 dias. Os resultados desse estudo designam a afinidade de íons de (Ag^+) por proteínas o que pode prejudicar clinicamente a eficácia de implantes médicos impregnados com essa substância, uma vez que estes aparelhos são cobertos por glicoproteínas, imediatamente após a sua instalação. Diante disso, os autores evidenciaram que é necessário ter uma quantidade suficiente de íons de prata (Ag^+) por tempo determinado para prover àqueles ligados às proteínas.

Yu et al. (2008) examinaram nanopartículas de prata adicionadas ao poli (metil metacrilato) (PMMA) para base de próteses e mencionaram que os íons (Ag^+) foram liberados lentamente em saliva artificial até o 27º dia de imersão. Posteriormente a isso, a velocidade de liberação aumentou rapidamente e em seguida permaneceu lenta até o final do período de 54 dias.

Carreira et al. (2011) Investigaram a eficácia de solução de nanopartículas de prata (NP-Ag) sobre esporos, leveduras e bactérias na descontaminação de limas

endodônticas infectadas por 24hs com suspensões de *S. aureus*, *S. mutans*, *E. faecalis*, *E. coli* e *C. albicans* (10^6 células/ mL) Essas limas foram imersas na solução de NP-Ag e permaneceram em contato com a solução por 5, 10, 15 e 30 min.

Dentre os microrganismos testados, o esporo demonstrou ser o mais resistente. As nanopartículas de prata promoveram redução superior a 90% de UFC/mL sobre as leveduras e demais bactérias testadas. A partir dos resultados obtidos, os autores puderam concluir que a solução de nanopartículas de prata apresentou ação antimicrobiana sobre *S. aureus*, *S. mutans*, *E. faecalis* e *E.coli*, aderidos em limas endodônticas, a solução de nanopartículas de prata apresentou efetiva ação sobre *Candida albicans*, promovendo eliminação total após 5 min, esporos de *B. atrophaeus* foi o microrganismo mais resistente às nanopartículas de prata e a efetividade da solução de nanopartículas de prata está relacionada com o tempo em que a solução permanece em contato com o microrganismo.

A diminuição de contaminação e/ou infiltração de micróbios patógenos no interior de implantes pode ser diminuída também por melhoras nas propriedades mecânicas e desenhos dos conectores. Uma alternativa bastante eficaz e desenvolvida pelas indústrias é a evolução da conexão entre implante-pilar protético.

1.3. Interface Implante/Componente Protético

Implantes de dois estágios são constituídos por dois componentes, o implante endósseo e o componente protético, conectados entre si por meio de uma junção parafusada (Binon, 1996). Ao contrário dos implantes de um estágio, tais dispositivos, permitem a aplicação individualizada de cargas com instalação de diferentes tipos de pilares e formação de uma área de fricção, na área externa ou

conecção de topo ou em superfícies cônicas internas, que garantirá uma conexão estável entre as duas partes (Jansen et al., 1997; Steinebrunner et al., 2005; Broggini et al., 2006; Rack et al., 2010).

Implantes com junções do tipo hexagonal externa apresentam vantagens quanto à fase protética, como, transferência da posição do implante para o modelo de trabalho, facilidade de moldagem do hexágono externo e relativa estabilidade da restauração (Lazzara, 1991). Porém, é sabido que a interface entre o conjunto implante / componente protético nessas articulações apresentam microfendas (Jansen et al., 1997; Coelho et al., 2007) que propiciam a passagem de micro-organismos, permitindo a colonização bacteriana e penetração de endotoxinas nos tecidos circundantes, iniciando um processo fisiopatológico que poderá acarretar na perda óssea e do implante (Jansen et al., 1997; Steinebrunner et al., 2005; Broggini et al., 2006).

Implantes de conexão interna são significativamente mais estáveis do que implantes de conexão externa. Trabalhos devem ser elaborados com intuito de confrontar os diferentes tipos de conexões internas, buscando melhorias e avanços biomecânicos.

A despeito de todo o desenvolvimento técnico-científico dos sistemas de implantes osseointegrados na busca do êxito da reabilitação bucal, a interface implante/componente protético continua sendo um dos elementos mais preocupantes. Segundo Mombelli et al. (1988) e Meffert (1988), a permanência de má adaptação entre o intermediário e o implante auxiliam no desenvolvimento de micro-organismos, contribuindo assim para fracassos na osseointegração.

Quirynen e van Steenberghe (1993) ao investigarem com uso de microscópio de contraste de fases a presença de micro-organismos nas roscas

internas de implantes do sistema Brånemark em nove voluntários, demonstraram que todos os parafusos apresentaram uma quantidade significativa de micro-organismos, principalmente células cocóides (86,2%) e bastonetes imóveis (12,3%). Micro-organismos móveis (1,3%) e espiroquetas (0,1%) foram em quantidades ínfimas. Esses autores relataram que a infiltração microbiana de uma das interfaces pode ser a explicação mais provável para a colonização da parte interna do implante.

Quirynen et al. (1994) realizaram uma análise *in vitro* a cerca da existência de ultrapassagem microbiana através da junção implante/conector do sistema Brånemark de implante. Foram utilizados para isso 32 implantes com seus respectivos componentes protéticos, os quais foram instalados em ambiente estéril, imersos, em pares, em meio de cultura contendo micro-organismos típicos da cavidade bucal, sendo oito pares inseridos de forma parcial no meio de cultura, onde o conjunto foi imerso até a interface implante/conector. O restante dos implantes foi totalmente submerso com o objetivo de quantificar a infiltração bacteriana ao longo do parafuso de cobertura e também na interface implante/conector. Anterior a imersão, a parte interna de um implante em cada par foi preenchida com solução salina e então parafusada, à medida que o outro persistiu com a parte interna do implante seca.

Posterior a sete dias de inoculação nos meios de cultura os conjuntos foram removidos, as amostras foram coletadas da região interna dos implantes e identificadas pela técnica de cultura bacteriana. Os implantes parcialmente imersos com a superfície interna previamente seca evidenciaram a penetração de um número menor de micro-organismos que os dos grupos totalmente submersos. Esse achado pode fortalecer, além da aptidão de penetração bacteriana por meio da interface implante/conector, a possibilidade de infecção interna através de outras causas.

Dixon et al. (1995) ao analisarem o desajuste e micromovimentação entre coroa / implante / pilar em três sistemas de implantes com diferentes tipos de conectores, hexágono externo (Minimatic), hexágono interno (Spectra-System) e octógono interno (Calcitek Omniloc) observaram que os implantes do tipo hexágono interno apresentaram rotação e deflexão significativamente maior em relação aos implantes do outros grupos.

Persson et al. (1996) ao investigarem pelo método de cultura bacteriana tradicional a mucosa peri-implantar de pacientes que receberam implantes do sistema Brånemark, constataram que apesar dos tecidos moles ao redor do abutment de titânio apresentarem-se clinicamente saudáveis na maioria dos casos, e a deficiência óssea em torno das próteses após a conexão dos abutments ter sido pequena, as amostras microbiológicas das superfícies internas de todos os implantes mostraram um crescimento bacteriano intenso. A flora consistiu principalmente de estreptococos anaeróbios e facultativos, bastonetes Gram⁺, anaeróbios (espécies: *Propionibacterium*, *Eubacterium* e *Actinomyces*) e bastonetes Gram⁻ anaeróbios (espécies: *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Porphyromonas*). A análise desses resultados revelou a passagem dos microrganismos pelos *microgaps* existentes entre os implantes e os respectivos pilares.

Guindy et al. (1998) ao desenvolverem um estudo, *in vitro*, com o objetivo de verificar a contaminação bacteriana no interior dos implantes da marca Ha-ti e a saída de bactérias do seu interior, relacionaram que houve a penetração microbiana em 9 de 10 amostras de cada grupo estudado em um período de 24 a 48 horas, quando estes estavam submersos em solução esterilizada de Trypticase Soy broth (TSb). Ao decorrer de um período de 24 a 120 horas, a totalidade das amostras contiveram bactérias em seu interior. Quando o inóculo foi injetado no interior dos

implantes e imerso em um meio de cultura esterilizado, ocorreu a passagem de bactérias em todas as amostras analisadas. Com esse trabalho possibilitou-se destacar que, mesmo em um sistema de implantes considerado de alto grau de estabilidade mecânica, não é possível assegurar que o selamento contra micro-organismos, nas interfaces marginais, acontecerá de forma absoluta.

Besimo et al. (1999) averiguaram a infiltração da bactéria *Staphylococcus aureus* na interface implante/componente protético em 30 conjuntos implante/intermediários, do sistema Ha-Ti (Mathys Corporation, Suíça). Foi considerada a infiltração bacteriana nos dois sentidos, tanto do interior para a parte externa, quanto da parte externa para o interior dos implantes. A fim de determinar a passagem dos micro-organismos de dentro para fora, 2 µL da cepa bacteriana foram inoculados no interior dos implantes e os componentes parafusados. Os conjuntos foram submergidos em meio de cultura TSB (Trypticase soy broth) estéril, e incubados a 37 °C durante 7 dias. Para avaliar a passagem dos micro-organismos de fora para dentro, os complexos, foram submergidos em cultura de *S. aureus* e incubados a 37 °C durante 8 semanas.

Não foi observada infiltração de dentro para fora em nenhum dos conjuntos analisados. Para a infiltração de fora para dentro, houve infiltração em somente 1 dos 30 conjuntos analisados (quando esses conjuntos foram totalmente submergidos no meio de cultura), e em nenhum dos conjuntos quando estes foram submergidos parcialmente (deixando somente a interface implante/componente submergida).

O aglomeramento do biofilme entre os componentes dos implantes é propiciado pela sua configuração. Esse processo se dá principalmente nas junções implante/componente, componente/prótese e sobre as superfícies dos componentes,

próteses e implantes. É sabido que o tamanho da fenda existente na interface implante/componente auxilia no acúmulo de biofilme e produz um ambiente ideal para a colonização bacteriana. Acredita-se que estes espaços se encontrem aumentados quando há forças oblíquas durante a função (O' Mahony et al., 2000).

Rimondini et al. (2001) investigaram, em um estudo utilizando a a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), o contágio da porção interna da interface implante/intermediário retido por parafuso após carga oclusal em restaurações protéticas provisórias com dispositivo de vedação (o'ring de silicone). Nesse trabalho foram usados 17 implantes; 9 serviram de grupo controle, dos quais sete estavam microbiologicamente contaminados e os 8 implantes restantes constituíram o grupo o qual foi utilizado o selante, sendo apenas dois implantes contaminados.

A infiltração na interface implante/pilar pode intercorrer por dois métodos, tanto do meio interno para o externo quanto do externo para o ambiente interno, estando diretamente associada a dimensão da fenda, torque de fechamento e relacionamento do desenho do encaixe da mesma junção.

Piatelli et al. (2001) averiguaram o atravessamento de fluidos e bactérias em dois distintos sistemas de implantes com abutments cimentados (CRA) e outros parafusados (SRA), para isso, três métodos foram empregados: a Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV), a Análise da Penetração de Fluidos e a Análise da Penetração de Bactérias. Para o MEV, cada implante foi examinado em quatro pontos e valores médios foram calculados para cada diferente marca de implantes. Com a aplicação desse método foi visto fendas de 2 a 7 μm entre o intermediário/implante nos SRA e 7 μm para os CRA.

No segundo parâmetro, após a inserção, os abutments foram parafusados e cimentados, e então submersos num recipiente de vidro por 30h a 37°C. Nos SRA, notou-se o corante azul de toluidina ao nível da interface intermediário/implante e na linha interna, sendo que o papel absorvente foi manchado em todos os casos. Nos CRA, o papel absorvente não foi manchado no interior do implante e na interface intermediário/implante. Foi colocado 4 mm de papel absorvente na parte interna de ambos (SRA e CRA). O teste foi considerado positivo se o papel absorvente fosse manchado de azul. No grupo dos CRA a fenda sempre foi preenchida pelo material de cimentação, e nenhuma fenda ou buraco estava presente dentro do cimento.

No terceiro padrão, os autores concluíram que bactérias têm aptidão de traspasar do meio externo para o interior de implantes com intermediários retidos por parafuso, tanto em condições *in vitro* quanto *in vivo*, por causa dos espaços existentes na interface implante/componente.

Khraisat et al. (2002) efetuaram um trabalho mensurando a resistência à fadiga de dois diferentes sistemas de implantes, ITI e Bränemark, de diferentes tipos de conexões, Cone Morse e Hexágono externo, respectivamente. Sobre o conjunto implante / conector protético de cada marca comercial foi aplicada uma carga cíclica de 100N, perpendicular ao longo eixo, com velocidade de 75 ciclos por minuto até que 1.800.000 ciclos fossem alcançados, simulando assim, uma força mastigatória durante 6 anos de funcionamento.

Os autores explanaram que os implantes de conexão Cone Morse, sistema ITI, mostraram resistência à fadiga superior aos implantes de conexão hexagonal externa, sistema Bränemark, justificando tal fato, pela maior dispersão da tensão na junção interna devido a uma maior área de fricção formada na interface cônica.

Buchmann et al. (2003), determinaram a fauna e flora microscópicas presente na superfície externa de conectores protéticos do sistema de implantes Frialit-2, e compararam os achados microbiológicos com parâmetros peri-implantares após dois anos de função. Foram investigados 32 conectores protéticos em 16 pacientes pelo método de cultura microbiana. Os autores não encontraram diferença significativa entre a microbiota presente na superfície dos conectores e os parâmetros peri-implantares examinados. A microbiota colhida dos conectores revelou colonização de bactérias gram-positivas (*A. israeli*, 68,8%; *E. lentum*, 56,3%; e *V. parvula*, 43,8%) e baixas quantidades de micro-organismos gram-negativos patógenos periodontais (*F. nucleatum*, 87,5%; *P. gingivalis*, 81,3%; e *P. micros*, 68,8%). Os autores deduziram que, após dois anos em função, a colonização bacteriana dos conectores protéticos é compatível com a saúde dos tecidos peri-implantares.

Dinato et al. (2004) ressaltaram que a ausência de adaptação passiva pode gerar problemas biológicos, como acúmulo de bactérias, reação tecidual, mucosite, peri-implantite e, até mesmo, a falha da osseointegração. Reportaram que os riscos de desadaptação de componentes pré-fabricados vêm agravando, na medida em que o mercado disponibiliza uma série de componentes de diversos sistemas, denominados compatíveis entre si, e recomendaram usar componentes novos e do mesmo sistema nas fases laboratoriais.

Steinebrunner et al. (2005) propuseram que as cargas mastigatórias poderiam restringir a estabilidade das conexões implante/componente, e, com isso, possibilitar o transpasse bacteriano através da interface implante/conector. Os autores apreciaram oito conjuntos (implante/componente protético) de cinco diferentes sistemas de implantes (Brånemark, Frialit-2, Camlog, Replace Select e

Screw-vent). Os implantes tiveram sua porção interna inoculada com 0,5 µL de uma suspensão contendo *Escherichia coli* e após isso, foram conectados os pilares protéticos com torque recomendado pelos fabricantes. As amostras foram imersas em uma solução nutriente e submetidas a cargas de 120N por 1.200.000 ciclos em um simulador de mastigação. Todas as amostras mostraram penetração bacteriana, porém foram evidenciadas diferenças estatisticamente significantes no número de ciclos entre os sistemas até que houvesse a penetração bacteriana. A média de ciclos até que a bactéria fosse identificada na solução foi de 172.800 para o sistema Brånemark; 43.200 para o sistema Frialit-2; 64.800 ciclos para o sistema Replace Select; 345.600 para o sistema Camlog e 24.300 para o sistema Screw-vent.

Sequeira (2005) examinaram a desadaptação e a infiltração da bactéria *Escherichia coli* entre pilares protéticos e réplicas protéticas de implantes de cinco sistemas: 3i, Frialit, ITI, Neodent e Nobel Biocare. Os resultados exibiram melhor ajuste para o sistema Nobel Biocare ($0,51 \pm 0,247 \mu\text{m}$), seguido pelos sistemas 3i ($3,46 \pm 0,595 \mu\text{m}$), Frialit ($3,99 \pm 1,505 \mu\text{m}$) e Neodent ($4,36 \pm 1,144 \mu\text{m}$). Os maiores níveis de desadaptação foram alcançados pelo sistema ITI ($5,54 \pm 1,522 \mu\text{m}$).

Quanto à infiltração bacteriana, os sistemas 3i, e ITI apresentaram infiltração em 80% das amostras, seguidos pelo Neodent (60%) e Frialit (20%). O sistema Nobel Biocare não mostrou infiltração bacteriana.

Um trabalho *in vitro* foi desenvolvido por Dibart et al. (2005) com a meta de provar se o selamento produzido pelo travamento cônico exercido na conexão implante/componente protético seria adequado para evitar a incursão de micro-organismos orais. Dez conjuntos implante/componente protético que não utiliza parafusos, do sistema Bicon® (Boston, MA) foram imersos em um caldo de bactérias

contendo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus oralis* e *Fusobacterium nucleatum* durante 24 horas.

Em seguida, os implantes foram analisados quanto a assiduidade de bactérias, por meio de microscopia eletrônica de varredura. Nenhuma bactéria foi identificada no interior dos implantes desse estudo. Posteriormente, os pilares foram inoculados com uma pequena gota de um gel com bactérias e montados nos implantes. Esses conjuntos foram incubados em um caldo nutriente estéril por 72h e amostras recolhidas para avaliar a presença de bactérias. Novamente, nenhuma bactéria foi detectada no meio nutriente ou nas placas de Agar. Os autores concluíram que tal desenho com travamento cônico demonstrou ser hermético em relação à invasão bacteriana *in vitro*.

Maeda et al. (2006) distinguiram que o sistema de conexão de implantes do tipo hexágono interno possui como vantagens: a facilidade na conexão dos pilares; a possibilidade de instalação em um só estágio; estabilidade anti-rotacional superior por causa da sua maior área de conexão, podendo assim, ser indicado para próteses unitárias; alta resistência à forças oblíquas devido ao menor ponto de fulcro e melhor dispersão de tensões. Esses autores constataram ainda, que esse tipo de sistema apresenta as seguintes desvantagens: paredes laterais dos implantes mais estreitas na área de junção e dificuldade de ajustes nos casos de divergências entre implantes.

Para o sistema de conexões do tipo cônicas ou Cone Morse, os autores exaltaram que sua principal vantagem está relacionada com o fato de gerar um melhor selamento na junção pilar protético/implante quando confrontado com o sistema de conexão do tipo hexágono interno.

Cury et al. (2006) analisaram, *in vitro*, a ocorrência da infiltração bacteriana da bactéria *Escherichia coli*, na interface implante/componente protético, entre implantes Frialit-2, e três componentes protéticos de hexágono interno (Frialit-2, SIN, Impladen), divididos em três grupos. Os conjuntos foram submergidos em meio de cultura BHI previamente inoculado com a cepa bacteriana, e incubados a 37 °C durante 48 horas. Os autores concluíram que houve infiltração bacteriana, de fora para dentro, na interface implante/componente protético em todos os grupos.

Chun et al. (2006) averiguaram a distribuição de tensão em implantes de conexão interna e externa com três tipos de combinação implante / pilar pelo método dos elementos finitos simulando cargas verticais ou com 15, 30 e 60 graus de inclinação do eixo vertical. A partir dos resultados obtidos, os autores concluíram que os implantes com conexão do tipo hexágono externo apresentaram maior concentração de tensão do que os implantes com conexão do tipo hexágono interno.

Khraisat et al. (2006) demonstraram que a presença e o tamanho das fendas entre os implantes e conectores podem variar de acordo com o tipo de conexão dos implantes e com as características desses conectores, assumindo que o desajuste vertical entre componentes protéticos e implantes está relacionado com o tipo de conexão, fato esse, observado ao se comparar implantes de conexão do tipo hexágono interno e externo, após serem submetidos à aplicação de carga cíclica.

Teixeira et al. (2011) efetuaram um estudo comparativo, *in vitro*, sobre a microinfiltração da espécie bacteriana *S. aureus* em implantes de conexões dos tipos cone Morse (n=20) e hexágono interno (n=20) pelo método de cultura bacteriana. A partir dos resultados obtidos nesse trabalho, os autores constataram

que ocorreu a infiltração *in vitro* do micro-organismo *S. aureus* para a totalidade das amostras dos implantes de ambas as conexões.

Saidin et al. (2012) ao compararem a micromovimentação, formação de microfendas e distribuição de tensão na interface implante / componente protético entre quatro diferentes pilares, pilar interno hexagonal, pilar interno cônico, pilar interno octogonal e pilar interno trilobulado, concluíram que aqueles que apresentam desenhos poligonais regulares, portanto, não cilíndricos, geram menor micromovimentação. No entanto, a ocorrência de maior concentração de tensão nos vértices desses polígonos propicia a formação de microfraturas e, consequentemente, aparecimento de microfendas.

2. Proposição

2. PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente estudo *in vitro* foram:

- avaliar, por meio da técnica de hibridização DNA Checkerboard, a ocorrência de infiltração bacteriana do meio externo para o interior dos implantes através da interface implante/conector protético após a associação com uma pasta antimicrobiana ou a adição de sais de prata aos pilares;
- comparar a quantidade de micro-organismos provenientes dos implantes com conexão do tipo hexágono interno e cone Morse

3. Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Implantes utilizados

No presente estudo, foram utilizados 72 implantes odontológicos de titânio com 11,5 mm de altura (PROSS® - Sistema de Implantes, Dabi-Atlante, Ribeirão Preto, Brasil), 36 com conexão do tipo hexágono interno (4,3 mm Ø) e 36 com conexão do tipo cone-morse (4,3 mm Ø) e seus respectivos conectores protéticos cônicos com 2,5 mm e 3,0 mm de altura (Figuras 1 e 2). Esses implantes e componentes foram divididos em grupos, da seguinte forma: Grupo Pasta Antimicrobiana- 12 conjuntos implantes HI/conectores protéticos e 12 conjuntos implantes CM/conectores protéticos, Grupo Íons de Prata- 12 conjuntos implantes HI/conectores protéticos e 12 conjuntos implantes CM/conectores protéticos e Grupo Controle- 12 conjuntos implantes HI/conectores protéticos e 12 conjuntos implantes CM/conectores protéticos.

Figura 1 – Implantes avaliados (Parafusos de fixação): **A)** Hexágono interno e **B)** Cone morse.

Figura 2 – Implantes avaliados (Parafusos de fixação) e seus respectivos componentes protéticos: **A)** Hexágono interno e **B)** Cone morse.

A fim de aprimorar a explanação do estudo e facilitar o entendimento do leitor, foi esquematizado um fluxograma com o passo-a-passo das etapas laboratoriais (Figura 3).

Figura 3 – Fluxograma representativo das etapas laboratoriais do presente estudo.

3.2. Aquisição da saliva

Foram colhidas amostras de saliva e biofilme supra-gengival de 5 indivíduos adultos saudáveis. Os participantes foram selecionados dentre os pacientes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

Aos voluntários foi facultado o direito de decidir sobre sua participação ou não na fase experimental deste estudo durante o primeiro contato com os pesquisadores, e orientações foram dadas quanto aos procedimentos da pesquisa. O presente estudo foi realizado com a devida apreciação e aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto **(Processo nº 2011.11122.58.7)** (Apêndice A).

Na fase de recrutamento, foram incluídas pessoas de ambos os sexos, independente da faixa etária e que não apresentavam manifestações bucais de moléstias sistêmicas ou processos infecciosos agudos na cavidade oral. As coletas foram realizadas sempre no mesmo horário, além de se constituir um grupo de estudo com pessoas sob condições ambientais semelhantes, idades próximas, sob tipo de alimentação e cuidados semelhantes, a fim de se obter uma maior uniformidade da amostra de saliva, reduzindo com isso a variabilidade do estudo.

Todas as etapas microbiológicas do estudo foram realizadas em ambiente asséptico, livre da contaminação externa, em uma câmara de fluxo laminar e com bico de Bunsen. Toda a vidraria, pinças, torquímetro e chaves para torque foram previamente autoclavados.

Os operadores foram devidamente paramentados com luvas cirúrgicas, gorros e máscaras esterilizadas. Foram coletados 2 mL de saliva não estimulada de indivíduo em tubos de ensaio. Ao final das coletas, as amostras de saliva dos 5 indivíduos foram transferidas para um único tubo. Amostras do biofilme supra-

gingival Foram coletadas das faces lingual/palatina e labial dos primeiros molares superiores e inferiores de cada indivíduo com o auxílio de curetas e adicionadas aos 10 mL de saliva previamente coletados procurando, desta forma, aumentar a concentração de microrganismos na saliva.

Após as coletas, o tubo contendo a saliva e biofilme bacteriano dos 5 pacientes foi homogeneizado durante 3 minutos e armazenado em estufa bacteriológica a 37°C até o início do teste de contaminação dos implantes.

3.3. Análise da contaminação dos grupos controle, pasta antimicrobiana e íons de prata

Anteriormente à união dos implantes aos componentes protéticos, todos os componentes dos 3 grupos foram dispostos individualmente em envelopes grau cirúrgico e esterilizados em autoclave à temperatura de 121°C durante 30 minutos. Dentro de uma capela de fluxo laminar vertical (Linha PCR-Clean 5, Hexi Clean, São Paulo - Brasil), os implantes foram retirados de suas embalagens. A seguir, os conectores protéticos foram adaptados aos implantes, com o auxílio da chave manual (Sistema de implantes Pross – Dabi Atlante[®], Brasil).

O torque final (20N/cm) foi realizado com uso de um torquímetro (Sistema de implantes Pross - Dabi Atlante[®], Brasil) calibrado conforme instruções do fabricante. Em um dos grupos experimentais, uma camada da pasta antimicrobiana (Iodofórmio 15.5%, Óleo de calêndula 5%) (ProHeal Antisséptico[®] - Juiz de Fora, Minas Gerais – Brasil) (Figura 4) foi aplicada sobre a superfície interna dos implantes e conectores protéticos e seus respectivos parafusos. Os conjuntos implantes-conectores foram parcialmente imersos na solução de saliva humana em tubos de ensaio, restringindo-se a passagem dos micro-organismos através da interface implante-

conector, e não através do parafuso de acesso oclusal (Figura 5). Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C durante 7 dias.

Figura 4 – Demonstração da aparência e consistência da Pasta antimicrobiana (ProHeal Antisséptico® - Juiz de Fora, Minas Gerais – Brasil) utilizada no estudo.

Figura 5 – Imersão parcial dos conjuntos implantes-conectores na solução de saliva humana, limitando-se a travessia dos microrganismos através da interface implante-conector, e não por dentro do parafuso de acesso oclusal. **A)** Hexágono interno e **B)** Cone morse.

3.4. Coleta do controle negativo para avaliação pelo método DNA Checkerboard

Antes da imersão em saliva e aplicação do torque final, foram feitas coletas do interior de todos os 72 implantes e extremidades das roscas dos parafusos dos pilares, para servirem como controle negativo. Esse procedimento foi realizado com intuito de comprovar a ausência de micróbios nos materiais fornecidos esterilizados pela indústria de implantes, permitindo assim a execução de uma contaminação eletiva.

3.5. Coleta das amostras dos grupos experimentais para avaliação pelo método DNA Checkerboard

Após o período de incubação de 07 dias, amostras do conteúdo interno dos conjuntos implantes-conectores protéticos dos 3 grupos foram colhidas com o objetivo de detectar e quantificar os microrganismos presentes, utilizando para isto, a técnica de hibridização com sondas de DNA genômico DNA Checkerboard. Os implantes foram removidos dos tubos, lavados cuidadosamente com solução tampão salina fosfatada 0,1 M estéril (pH=7,0) e secados com gaze estéril.

Em seguida, os implantes foram mantidos na posição vertical com o auxílio da pinça porta agulha, e todo o sistema foi reaberto, com uso de chaves manuais, no interior do fluxo laminar. O teor do interior dos implantes e o conteúdo presente na superfície de seus respectivos parafusos foram colhidos com o auxílio de escovas do tipo *microbrush*.

Após a colheita, as extremidades das escovas foram acomodadas de forma individual em tubos eppendorf contendo 150 µL de TE (10 Mm Tris-HCl, 1 Mm EDTA pH 7,6). Posteriormente, foi disposto em cada um dos tubos 150µL de NaOH 0,5 M e então, estes, foram armazenados a 4°C até o processamento pelo método DNA Checkerboard (Figura 6).

Figura 6 – Acomodação das escovas do tipo *microbrush*, de forma individual, em Eppendorfs dispostos em caixa para resfriagem.

3.6. Reconhecimento e quantificação das bactérias pelo método de hibridização

DNA Checkerboard

As amostras obtidas dos implantes e parafusos dos pilares dos 03 grupos averiguados foram avaliadas no Laboratório de Diagnóstico Odontológico Molecular da FORP-USP, por meio do método da hibridização com sondas de DNA genômico *DNA Checkerboard*, de acordo com (Nascimento et al., 2010).

3.7. Seleção dos micro-organismos e extração do DNA para a confecção das sondas dos microrganismos

A preparação das sondas foi feita a partir da extração do DNA genômico dos micro-organismos avaliados (Tabela 1) (Figura 7) que foram selecionadas por serem consideradas uns dos colonizadores primitivos do biofilme bacteriano dentário e/ou por seus potenciais papéis no aparecimento e na propagação das doenças periodontais e peri-implantares (Cao et al., 1990; Zee et al., 1996).

Tabela 1 – Espécies de micro-organismos selecionados para serem alvo no teste de contaminação através da interface implante-conector.

Espécies de micro-organismos

Agregatibacter actinomycetemcomitans b
 Agregatibacter actinomycetemcomitans b
 Bacteroides fragilis
 Candida albicans
 Candida dubliniensis
 Candida glabrata
 Candida krusei
 Candida tropicalis
 Campylobacter rectus
 Capnocytophaga gingivalis
 Eikenella corrodens
 Enterococcus faecalis
 Escherichia coli
 Fusobacterium nucleatum
 Fusobacterium periodonticum
 Klebsiella pneumoniae
 Lactobacillus casei
 Mycoplasma salivarium
 Neisseria mucosa
 nigrescens
 Peptostreptococcus micra
 Porphyromonas gingivalis
 Porphyromonas endodontalis
 Prevotella melaninogenica
 Prevotella intermedia
 Pseudomonas aeruginosa
 Pseudomonas anaérobios
 Pseudomonas putida
 Staphylococcus aureus
 Staphylococcus pasteurii
 Streptococcus constellatus
 Streptococcus mutans
 Streptococcus gordonii
 Streptococcus mitis
 Streptococcus oralis
 Streptococcus sanguinis
 Streptococcus sobrinus
 Streptococcus salivarius
 Streptococcus parasanguinis
 Solobacterium moorei
 Treponema denticola
 Tanerella forsythia
 Veillonella parvula

Figura 7 – Espécies de micro-organismos, descritos na Tabela 1, e selecionados para serem alvo no teste de contaminação através da interface implante/conector.

As soluções contendo o meio de cultura e os micro-organismos foram colocadas em tubos de 50 mL para centrifugação a 13200 rpm por 15 minutos, e obtenção dos *pellets*. Os *pellets* serão removidos e colocados em um tubo eppendorf. Serão acrescentados 500 μ L de GES (tiocianato de guanidina, EDTA e Sarkosyl 30%).

Após a completa lise das células, foram adicionados 250 μ L de acetato de amônio e os tubos foram colocados no gelo por 10 minutos. Após este procedimento, foram adicionados 500 μ L de clorofórmio/2-pentanol, seguido de agitação vigorosa por 10 minutos, para misturar as duas fases.

O conteúdo foi centrifugado por 10 minutos a 13200 rpm para formar um tampão na interface das soluções. A solução da parte superior do tubo foi removida cuidadosamente e colocada em outro tubo eppendorf com 875 μ L de etanol 100% gelado, onde permaneceu a -20°C durante a noite (*overnight*). Após este período as fibras de DNA formadas foram removidas e colocadas em etanol 70% gelado, e então armazenadas a -20°C.

3.8. Purificação e quantificação do DNA

Os tubos contendo as fibras foram levados à centrífuga a 13200 rpm por 1 minuto. A solução sobrenadante foi removida e 1 mL de etanol 70% foi acrescentado. As fibras foram lavadas com etanol 70% até a remoção dos excessos de sais e carboidratos. Após a lavagem, todo o álcool e o excesso foram removidos com o auxílio de papel absorvente. Foram acrescentados 100 µL de TE (pH 8,0) e o tubo foi armazenado a 4°C até entrar em solução. Após entrar em solução, o procedimento de lavagem foi concluído acrescentando-se 100 µL de clorofórmio/álcool isoanídrico.

O tratamento de purificação do DNA será concluído com a adição da RNase. Em um tubo eppendorf de 1,5 mL, serão colocados 5 µL do microrganismo com 95 µL de RNase 20 µg/mL, por 30 minutos.

3.9. Marcação das sondas

O protocolo empregado para a marcação do DNA dos microrganismos foi aquele estabelecido pela empresa fabricante do marcador genômico (*Gene Images Alkphos Direct labelling and Detection System*, GE Healthcare, UK). O protocolo baseia-se na marcação de 100 ng do DNA genômico do microrganismo a ser estudado, atingindo uma concentração final de 1 ng/µL na solução de hibridização. O DNA foi diluído dentro de tubos eppendorf de 0,5 mL, desnaturado em água fervente por 5 minutos e imediatamente resfriados em gelo para manter as cadeias de nucleotídeos abertas. Em seguida, foram acrescentados os componentes do kit de marcação e os tubos foram incubados a 37°C por 30 minutos.

3.10. Teste de sensibilidade e especificidade das sondas dos micro-organismos

A sensibilidade do teste foi adequada para permitir a observação de reações de hibridização positivas para a presença de 10^5 e 10^6 células microbianas, de acordo com a quantidade de sonda usada.

3.11. Processamento das amostras

Os tubos contendo as amostras foram descongelados à temperatura ambiente. Com o auxílio de um agitador de tubos (AP 56, Phoenix, Brasil), os tubos foram agitados por 4 minutos para a desagregação total do conteúdo colhido pela escova *microbrush*. Ao término do período de agitação, a ponta da escova foi removida com o auxílio de uma pinça clínica esterilizada. Os tubos foram fervidos em banho-maria por 5 minutos para a separação das fitas de DNA, e, de imediato, resfriados em gelo. Após a fervura, as suspensões foram neutralizadas com a adição de 800 μ L de acetato de amônio 5 M, o que permitirá a lise e a suspensão do DNA na solução.

Com uso de uma placa metálica denominada Minislot 30 (Immunetics, EUA) (Figura 8) composta por 30 canaletas arranjadas paralelamente foi realizada a aplicação das amostras sobre a membrana de nylon Hybond N+, acomodada dentro do aparelho (Figura 9). A membrana tem carga positiva e deve medir 15x15 cm, cobrindo desta forma todo o comprimento das canaletas.

Figura 8 – Placa metálica Minislot 30 (Immunetics, EUA).

Figura 9 – Acomodação da membrana de nylon Hybond N+ na placa metálica Minislot 30 para processamento das amostras.

O aparelho permite a deposição de 28 diferentes amostras em canaletas individuais, bem como duas canaletas contendo os controles 10^5 e 10^6 de cada espécie estudada (Figura 10). Cada solução contendo o DNA livre foi depositada no interior das canaletas, e após 5 minutos da aplicação, o DNA foi depositado na membrana de nylon com o auxílio do vácuo. A membrana foi removida do aparelho e o DNA fixado na membrana a 80°C durante 2 horas.

Figura 10 – Aplicação das amostras e os controles 10^5 e 10^6 em canaletas individuais.

3.12. Aplicação das sondas e reação de hibridização

Previamente à aplicação das sondas, a membrana foi submetida a um procedimento de pré-hibridização (Hybridization buffer, NaCl 0,5M e Reagent blocking 4%) a 80°C durante 08 horas. Após esse procedimento, a membrana foi colocada no Miniblotter 45 (Immunetics, USA), com as linhas contendo o DNA fixado das amostras perpendiculares às canaletas do aparelho. As canaletas do Miniblotter 45 foram preenchidas com 150 µL de sonda de cada micro-organismo estudado (Figura 11). As canaletas onde não serão aplicadas as sondas foram preenchidas com 150 µL da solução de hibridização. Após a aplicação das sondas, o aparelho foi embrulhado várias vezes em filme de PVC, e embalado em saco plástico, evitando a desidratação das membranas. A hibridização da membrana foi realizada no forno de hibridização a 55°C *overnight*.

Figura 11 – Aparelho Miniblotter 45 (Immunetics, USA) usado para aplicação das sondas dos micro-organismos com membrana acomodada.

3.13. Verificação dos sinais de hibridização

Após a reação de hibridização, a membrana foi submetida a um processo de lavagem, composto por duas fases, 1ª Lavagem: 2 lavagens de 30 minutos com uso de 500 mL de solução, sob agitação forte a 67°C e 2ª Lavagem: 2 lavagens de 15 minutos com uso de 500 mL de solução a temperatura ambiente sob agitação forte.

Posteriormente, foram aplicados 6,7 mL do reagente de detecção CDP-Star® (GE Healthcare, UK) sobre a membrana, deixando-o agir em toda a superfície da membrana por 1 hora e 20 minutos. Após este período, o excesso do reagente foi removido e a membrana foi embalada em saco plástico.

Em seguida, a membrana foi exposta a um filme radiográfico utilizando um cassete de exposição Hypercassete (GE Healthcare, UK) (Figura 12). Dentro de uma câmara escura, a membrana foi colocada no interior do cassete, e sobre ela foi

posicionado um filme radiográfico Hyperfilm (GE Healthcare, UK). Com o término da exposição, 1 hora, seguiu-se procedimento de revelação para a detecção dos sinais de quimioluminescência.

Figura 12 – Cassete de exposição Hypercassette (GE Healthcare, UK) para revelação e detecção dos sinais de hibridização das membranas estudadas.

Ao final, se obteve um filme radiográfico com os sinais detectados pelas sondas de DNA, onde as linhas horizontais representam as sondas, e as verticais as amostras dos implantes, configurando desta forma um “tabuleiro de xadrez” (*Checkerboard*) (Figura 13).

Figura 13 – Filme radiográfico com os sinais detectados pelas sondas de DNA.

3.14. Interpretação dos sinais

A leitura dos resultados foi feita primariamente de uma forma semi-quantitativa, feita por meio da comparação visual dos sinais dos grupos avaliados e controle negativo, feitos a partir do DNA do micro-organismo que foi pesquisado, e colocada nas duas últimas canaletas do Minislot 30, que equivalem a 10^5 e 10^6 células. Segundo Socransky et al. (2004) os sinais devem ser registrados como 0: não detectado; 1: $< 10^5$ células; 2: $\sim 10^5$; 3: $10^5 \sim 10^6$; 4: $\sim 10^6$; e 5: $> 10^6$ células, desta forma, um número aproximado de células bacterianas em cada amostra é obtido. A confirmação da análise visual é feita de forma quantitativa pela avaliação da intensidade de pixels dos sinais por meio do *software* Total Lab Quant (GE Healthcare, UK) (Figura 14).

Figura 14 - A: Inserção da imagem da membrana digitalizada no software; **B:** a imagem pode ser convertida para a forma negativa; **C:** seleção das bandas a serem analisadas; **D:** marcação dos sinais de hibridização a serem quantificados.

3.15. Processo da análise dos dados

O número de células bacterianas (Contagem) e os percentuais de colonização (Incidência) das espécies avaliadas foram fornecidos para cada grupo estudado. Os dados obtidos foram analisados pelo método de Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc de Dunn para comparações entre os diferentes grupos, utilizando o *software* estatístico GraphPad InStat® (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Para comparar as contagens e incidência das espécies bacterianas em cada grupo, os dados foram avaliados somando-se todos os microrganismos, sem discriminar entre as espécies estudadas. Diferenças foram consideradas significantes para valores de $p < 0,05$.

4. Resultados

4. RESULTADOS

Avaliação da infiltração bacteriana através da interface implante-conector

As amostras colhidas do interior dos implantes previamente ao teste de infiltração, e usadas como controle negativo para a contaminação dos implantes pela saliva, não apresentaram sinais de hibridização positivos para quaisquer das espécies de todos os grupos avaliados, confirmando que não havia a presença de micro-organismos no interior dos implantes antes dos testes estáticos

Quantificação da contaminação bacteriana pelo DNA-Checkerboard

As reações de hibridização das membranas abrangendo as amostras dos implantes de conexão cone-Morse e hexágono interno dos 03 grupos analisados, Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata, após 07 dias de incubação são ilustradas abaixo (Figuras 15-20).

Figura 15 – Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse do grupo Controle após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.

Figura 16 – Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Hexágono Interno do grupo Controle após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.

Figura 17 – Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.

Figura 18 – Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Hexágono Interno do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.

Figura 19 – Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse do grupo Íons de prata após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10^5 e 10^6), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.

Figura 20 – Reação de hibridização das amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Hexágono interno do grupo Íons de prata após 07 dias de incubação. As linhas verticais representam as amostras e controles (10⁵ e 10⁶), e as linhas horizontais as sondas das 43 espécies bacterianas avaliadas.

As médias das contagens de micro-organismos ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) das 43 espécies analisadas nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de conexão do tipo hexágono interno (HI) e Cone Morse (CM), estão dispostas, por grupos (Figuras 21-23) e tipos de conexão (Figuras 24 e 25), respectivamente, para o melhor entendimento do leitor.

Figura 21 – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e Cone Morse do grupo Controle após 07 dias de incubação. (Diferenças significantes entre as contagens detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis; $p < 0,001$ para o grupo Cone Morse).

Figura 22 – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e Cone Morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação. (Não houve diferenças significantes entre as contagens detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis; $p > 0,05$).

Figura 23 – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e Cone Morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação. (Não houve diferenças significantes entre as contagens detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis; $p > 0,05$).

Figura 24 – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de Cone Morse dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação.

Figura 25 – Gráfico da contagem de células bacterianas ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação.

Os implantes de conexão do tipo Cone Morse apresentaram menores valores de contagem microbiana quando comparados aos implantes Hexágono Interno no grupo Controle ($p < 0,001$); já para os grupos tratamento (grupos Íons de prata e Pasta antimicrobiana), foi observado comportamento inverso, portanto, maiores valores de contagem de micro-organismos para os implantes Cone Morse.

Comparando-se os implantes de mesma conexão, entre os 03 grupos examinados, as amostras dos implantes Cone Morse dos grupos Controle, Íons de prata e Pasta antimicrobiana apresentaram valor de contagens de micro-organismos em ordem crescente. Diferenças estatísticas significantes foram observadas entre os grupos Controle e Pasta antimicrobiana ($p < 0,001$), e entre os grupos Controle e Íons de prata ($p < 0,01$). Entre os grupos Pasta antimicrobiana e Íons de prata não houve diferenças estatísticas significantes ($p > 0,05$).

Os implantes de conexão hexágono interno do grupo Controle apresentaram os maiores valores de contagens de micro-organismos seguidos pelos implantes do grupo Pasta antimicrobiana e Íons de prata, respectivamente. Diferenças estatísticas significantes foram observadas entre os grupos Controle e Pasta antimicrobiana ($p < 0,001$), e entre os grupos Controle e Íons de prata ($p < 0,001$). Entre os grupos Pasta antimicrobiana e Íons de prata não houve diferenças estatísticas significantes ($p > 0,05$).

As maiores contagens de micro-organismos ($\times 10^5$, $\pm$ EMP) para as amostras provenientes do grupo controle foram, respectivamente, *S. aureus* ($4,21 \pm 0,95$), *S. salivarius* ($3,14 \pm 0,44$) e *S. sanguinis* ($1,83 \pm 1,53$) para os implantes de conexão Cone Morse; *S. gordonii* ($3,36 \pm 0,09$), *S. aureus* ($3,29 \pm 0,16$) e *S. constelatus* ($3,08 \pm 0,32$) para os implantes de hexágono interno.

Para o grupo Pasta antimicrobiana, as maiores contagens microbianas ($\times 10^5$, $\pm$ EMP) foram, respectivamente, *F. periodonticum* (2,22 $\pm$ 0,57), *P. intermedia* (2,20 $\pm$ 0,44) e *C. gengivalis* (2,16 $\pm$ 0,55) para os implantes de Cone Morse; *C. tropicalis* (4,08 $\pm$ 0,88), *S. aureus* (3,76 $\pm$ 0,72) e *C. glabrata* (3,50 $\pm$ 0,78) para os implantes de hexágono interno.

No grupo Íons de prata as maiores contagens de micro-organismos ($\times 10^5$, $\pm$ EMP) foram, respectivamente, *P. melaninogenica* (2,73 $\pm$ 0,41), *M. salivarium* (2,52 $\pm$ 0,54) e *S. pasteurii* (2,04 $\pm$ 0,46) para os implantes de Cone Morse; *P. micra* (0,60 $\pm$ 0,16), *A. Actinomycetemcomitans B* (0,54 $\pm$ 0,10) e *F. nucleatum* (0,46 $\pm$ 0,11) para os implantes de hexágono interno.

Neste estudo, foi realizada também a análise da incidência dos micro-organismos nas amostras de implantes dos grupos Controle, Íons de Prata e Pasta antimicrobiana em ambas as conexões, Cone Morse e hexágono Interno.

As médias das porcentagens ($\times 10^5$, $\pm$ EPM) das 43 espécies analisadas nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de conexão do tipo hexágono interno (HI) e Cone Morse (CM), estão arranjadas por grupos (Figuras 26-28) e tipos de conexão (Figuras 29 e 30), respectivamente, para o melhor entendimento do leitor.

Figura 26 – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e Cone Morse do grupo Controle após 07 dias de incubação (Não houve Diferenças significantes detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$).

Figura 27 – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes de hexágono interno e Cone Morse do grupo Pasta antimicrobiana após 07 dias de incubação (Houve Diferenças significantes detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Figura 28 – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse e hexágono interno do grupo Íons de prata após 07 dias de incubação (Não houve Diferenças significantes detectadas pelo teste de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$).

Figura 29 – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação).

Figura 30 – Gráfico da incidência (porcentagem de conjuntos colonizados) de cada espécie avaliada nas amostras provenientes dos parafusos dos conectores e interior dos implantes Cone Morse dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata após 07 dias de incubação).

As amostras provenientes dos implantes Cone Morse do grupo Íons de prata apresentaram incidência de micro-organismos menor e estatisticamente significativa quando comparadas as amostras dos implantes Cone Morse dos grupos Controle ($p<0,001$) e Pasta antimicrobiana ($p<0,05$). Entre esses dois últimos grupos não houve diferenças estatísticas significantes ($p>0,05$), para a conexão Cone Morse.

As amostras provenientes dos implantes hexágono interno dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata apresentaram incidência de micro-organismos decrescente e sem diferenças estatísticas significantes ($p>0,05$).

Comparando-se os tipos de conexões, dentro de cada grupo analisado, as amostras dos implantes Cone Morse apresentaram menor incidência de micro-organismos do que as amostras dos implantes hexágono interno em todas as situações, porém, diferenças estatísticas significantes foram encontradas apenas nos grupos Íons de prata ($p<0,01$) e Pasta antimicrobiana ($p<0,05$).

Nas amostras do grupo Controle, as maiores incidências foram para *S. sobrinus* (100%) e *S. sanguinis* (100%) para o Cone Morse, e *S. aureus* (100%) e *S. gordonii* (100%) para o hexágono interno.

Com respeito às amostras do grupo Pasta antimicrobiana, as maiores incidências foram para *P. intermedia* (75%) e *C. albicans* (75%) para o Cone Morse, e *S. pasteurii*, *S. parasanguinis*, *S. mitis* e *P. endodontalis* (83,3%) para o hexágono interno.

Nas amostras do grupo Íons de prata, as maiores incidências foram para *P. melaninogenica* (75%), *S. pasteurii*, *S. mitis*, *S. constellatus*, *S. aureus* e *M. Salivarium* (66,7%) para o Cone Morse, e *A. actinomycetemcomitans*, *B. P. Endodontalis*, *P. Intermedia* e *S. aureus* (75%) para o hexágono interno.

5. Discussão

5. DISCUSSÃO

Escassas pesquisas de análise *in vitro*, envolvendo implantes de sistemas nacionais são disponíveis na literatura, analisando a infiltração bacteriana pela interface implante-conector protético após incubação, e ao mesmo tempo buscando alternativas para impedir ou minimizar a contaminação, por meio de aprimoramentos das conexões e/ou empregando substâncias com potencial ação antimicrobiana.

Considerando as falhas de adaptação inerentes aos sistemas de implantes de dois componentes e a possibilidade da colonização bacteriana destes espaços, conjecturou-se relevante avaliar e comparar por meio da técnica de hibridização DNA Checkerboard, a passagem de bactérias presentes na saliva humana através da interface entre implante e conectores protéticos com conexões do tipo hexágono interno e Cone Morse.

Nesse sentido, os dois sistemas de implantes avaliados foram distribuídos em três grupos distintos (Íons de prata, com adição de prata aos pilares protéticos por deposição; Pasta antimicrobiana, com adição de pasta antimicrobiana à base de iodofórmio no interior do implante, e Controle (sem qualquer tratamento) de acordo com o tipo e/ou presença de tratamento antimicrobiano, após incubação em saliva humana por 07 dias em um esquema experimental *in vitro*.

O sucesso primordial dos implantes odontológicos está intimamente relacionado com a sua apropriada integração ao tecido ósseo de suporte (Branemark et al., 1969). A microbiota presente em áreas circundantes aos implantes odontológicos tem sido investigada por distintos trabalhos, alguns dos quais concernentes à invasão de micro-organismos patógenos potenciais (Quirynen et al., 1993; Mombelli et al., 1997, 1998; Ellen, 1998; Leonhardt et al., 1999; Callan et al. 2005; Shibli et al. 2007; Cosyn et al. 2009).

Adicionalmente, caso não ocorra uma completa adaptação entre os elementos que constituem a interface implante/pilar protético, será formada uma área ou espaço vazio que aumentará a susceptibilidade à colonização bacteriana e, conseqüentemente, favorecerá o desenvolvimento de evoluções infecciosas na mucosa peri-implantar. Esse processo poderá prejudicar o estabelecimento e a manutenção da osseointegração (Jansen et al., 1997; Mombelli et al., 2001).

A importância clínica da infiltração bacteriana avaliada *in vitro* foi fundamentada pelos autores Traversy e Birek (1992) e Quirynen e van Steenberghe (1993), que destacaram que a seleção dos implantes deverá respeitar aqueles cuja capacidade de infiltração bacteriana esteja em um nível não prejudicial aos tecidos periodontais. Assim, a execução deste estudo justifica-se por diversos achados na literatura, onde a presença de bactérias no interior de implantes osseointegráveis e a passagem de fluidos pela interface de conexão são encontradas.

O período aplicado no presente trabalho para a consideração da ocorrência de infiltração bacteriana (sete dias para avaliação da infiltração do meio externo para o interno), está de acordo com os achados na literatura, como observado no trabalho de Nakazato et al. (1989), onde os autores evidenciaram que após quatro horas de exposição de componentes protéticos agregados aos implantes em fluidos bucais, há a constituição de colonização bacteriana nas paredes e interior dos mesmos.

A imersão dos conjuntos na saliva humana foi feita somente até o limite da interface entre o implante e o conector protético, limitando a possibilidade de penetração bacteriana somente por essa junção, impedindo desta forma, que as células microbianas passassem por outros espaços que não aqueles entre a interface implante e conector. Esse processo foi validado em trabalhos prévios (do Nascimento et al. 2008; Barbosa et al. 2009; Teixeira et al, 2011).

A totalidade das amostras dos micro-organismos coletada dos implantes de conexão Cone Morse e hexágono interno dos três grupos analisados, Controle, Pasta antimicrobiana e Íons de prata, após sete dias de incubação, expuseram reação de hibridização positiva com as sondas de DNA genômico dos mesmos micro-organismos, evidenciando, portanto, a ocorrência de infiltração através da interface implante/componente protético e contaminação bacteriana no interior de implantes em todos os tipos de conexões avaliadas, tanto para o grupo controle quanto para os grupos experimentais.

Os resultados da presente pesquisa avigoram os achados de estudos recentes, que também revelaram, de forma *in vitro* e com incubação de micro-organismos, a evidência de contaminação bacteriana do meio externo para o interior de implantes (Cury et al. 2006; Duarte et al. 2006; Proff et al., 2006; do Nascimento et al., 2008, 2010; Barbosa et al. 2009; Aloise et al. 2010; Teixeira et al., 2011; do Nascimento et al. 2011).

A presença de bactérias albergadas no interior de implantes após alguns anos em função na cavidade bucal foi confirmada igualmente em alguns estudos *in vivo* (Rimondini et al. 2001; Callan et al. 2005; Cosyn et al. 2009).

Nesta pesquisa, os implantes utilizados apresentavam conexão tipo Cone Morse e hexágono interno. A forma geométrica dissimilar das plataformas protéticas dos diversos sistemas existentes pode ter alguma relação com a intensidade de infiltração bacteriana. Os implantes com pilares protéticos do tipo Cone Morse da presente investigação apresentaram os menores valores de contagem bacteriana para o grupo controle ($p < 0,001$).

Resultados semelhantes foram publicados por Jansen et al. (1997), Muftu et al. (1996), Aloise et al. (2010), que demonstraram a presença de contaminação bacteriana em implantes com conexão do tipo Cone Morse em graus menores.

No estudo em tela, para os grupos Íons de prata e Pasta antimicrobiana, apesar das amostras dos implantes de conexão Cone Morse apresentarem valores de contagem bacteriana maiores do que os de hexágono interno, não foram encontradas diferenças estatísticas entre eles ($p>0,05$).

Joly e Lima (2003) relataram que implantes de conexão do tipo Cone Morse apresentam a fixação do intermediário por meio de travamento friccional, e nessa região aparecem fendas de $3,98 \pm 1,29 \mu\text{m}$ com características bastante irregulares.

Apesar destes achados, a relação da magnitude das fendas com a estabilidade mecânica dos componentes de retenção dos sistemas de implantes, defendida por Ciotti et al. (2007), perde importância nos sistemas Cone Morse, em que, não obstante a existência de fendas, a micromovimentação dos componentes protéticos é evitada pelo travamento friccional que ocorre no interior dos implantes (Merz et al., 2000; Squier et al., 2002; Çehreli et al., 2004).

Esta afirmação é fortalecida pela investigação de Saidin et al. (2012) que ao compararem a micromovimentação, formação de microfendas e distribuição de tensão na interface implante/componente protético entre quatro diferentes pilares: pilar interno hexagonal, pilar interno cônico, pilar interno octogonal e pilar interno trilobulado, concluíram que aqueles que apresentam desenhos poligonais regulares (portanto, não cilíndricos) geram menor micromovimentação. No entanto, a ocorrência de maior concentração de tensão nos vértices desses polígonos propicia a formação de microfraturas e, conseqüentemente, aparecimento de microfendas.

Esta mesma opinião é corroborada por Romanos e Nentwig (2000), que em um estudo retrospectivo, avaliaram a resposta clínica ao uso de implantes unitários com conexão do tipo Cone Morse (Ankylos), e descreveram que nesse sistema, a conexão entre implante/componente sendo cônica, esta interface parece evitar complicações biomecânicas.

Segundo os achados de Jansen et al. (1997) e Cravinhos (2003), os implantes com conexões hexagonais internas foram desenvolvidos com o objetivo de aprimorar a adaptação entre os hexágonos e instituir uma interface mais estável, aumentando assim a resistência, e diminuindo ou evitando, consequentemente, complicações biomecânicas, como afrouxamento e fratura do parafuso de fixação. Nessa conexão, o centro de fixação do parafuso é protegido pela altura do pilar do hexágono dentro do implante, assim as forças laterais são transmitidas diretamente às paredes do implante, criando uma menor tensão no parafuso e proporcionando uma melhor resistência às tensões de cisalhamento na união (Nisnick, 1991; Maeda et al., 2006).

Comparando-se os implantes de mesma conexão entre os três grupos examinados, as amostras dos implantes Cone Morse dos grupos Controle apresentaram menores valores de contagens de micro-organismos, seguidos pelo grupo Íons de prata e Pasta antimicrobiana, respectivamente. Diferenças estatísticas significantes foram observadas entre os grupos Controle e Pasta antimicrobiana ($p < 0,001$), e entre os grupos Controle e Íons de prata ($p < 0,01$). Entre os grupos Pasta antimicrobiana e Íons de prata não houve diferenças estatísticas significantes ($p > 0,05$).

Alguns autores destacaram que o travamento tipo Cone Morse do pilar protético, embora não tenha sido desenvolvido com essa finalidade, também dificulta

a infiltração bacteriana na interface implante/componente (Joly e Lima, 2003; Dibart et al., 2005; Maeda et al., 2006), e esses conectores, com a particularidade de travamento friccional, parecem apresentar uma adaptação íntima nas porções internas mais profundas do sistema (Dibart et al. 2005).

Porém, na atual investigação, nos implantes Cone Morse dos grupos que receberam aplicação da pasta ou adição de íons de prata, pode ter ocorrido diminuição da força de atrito ou travamento friccional (característico dessa conexão) entre as superfícies de contato dos pilares protéticos e implantes, seja devido a um composto adjuvante terapêutico da pasta antimicrobiana com ação espessante (Lanolina, cera de abelha, vaselina sólida, vaselina líquida), seja pela deposição de íons de sais de prata por solução química, possivelmente alterando a lisura superficial dos componentes.

Esses eventos podem ter acontecido, provavelmente, pela solubilidade da pasta em fluidos orais, ou ainda, pela dissolução dos sais de prata na saliva, situações essas hipotéticas, que provocariam a diminuição ou quebra do atrito friccional entre a interface de junção Cone Morse, nas paredes paralelas divergentes do pilar e implante.

Segundo Damm et al., em 2007, a liberação de íons de prata cresce em meios mais hidrofílicos. Outro fator de relevância para a fixação dos micro-organismos em faces rígidas é a rugosidade das mesmas, desta forma, quanto maior a rugosidade maior a intensidade de colônias constituídas (Quirynen et al. 1993).

Os implantes desses grupos podem ter apresentado comportamento semelhante a implantes com afrouxamento no torque de aperto devido à perda da fricção entre as faces das paredes paralelas e divergentes, que caracterizam a junção Cone Morse.

Tal fato pode ser fundamentado a partir das descobertas de Gross et al. (1999) que, ao estudarem o grau de microinfiltração na interface implante/componente protético variando o torque em uma escala crescente de intensidade, concluíram presumivelmente que fluidos contendo produtos bacterianos e nutrientes necessários para o crescimento bacteriano poderiam passar através da interface quando são aplicados torques menores que os recomendados pelo fabricante, contribuindo em parte pelo mau odor e comprometimento dos tecidos periimplantares. Os torques utilizados em nosso trabalho seguiram as recomendações do fabricante, evitando assim possíveis variáveis que pudessem interferir nos nossos resultados.

O tempo também é um fator de relevância para o presente estudo, já que Carreira et al. (2011) apontaram que a efetividade da dissolução de partículas de prata está relacionada com o período em que ela permanece em contato com o micro-organismo, sendo mencionado ainda, por Yu et al. (2008), que os íons de prata foram liberados lentamente em saliva artificial até o 27º dia de imersão, aumentando a velocidade de liberação rapidamente somente após esse período e em seguida a liberação permaneceu lenta até o final de 54 dias.

Pesquisadores já lançaram mão de algumas ferramentas na tentativa de dificultar ou impedir a infiltração bacteriana na interface implante/componente protético (I-P), dentre eles o uso de vedantes de silicone (Jansen et al., 1997; Rimondini et al., 2001), pilares cimentados (Piattelli et al., 2001), verniz contendo clorexidina 1% (Besimo et al., 1999; Duarte et al., 2006) e aplicação de pasta antimicrobiana à base de iodofórmio (Cruz et al., 2001), e distintos estudos (Kumar et al., 2005; Panácek et al., 2006; Dammet al., 2007 Damm et al., 2008) têm avaliado a liberação de íons de prata (Ag^+) e o seu potencial antisséptico.

O iodofórmio foi divulgado por Serullas (1822), introduzido na terapêutica por Boucharadt (1836) devido ao seu potencial anestésico, antissifilítico e antisséptico. Desde então tem sido destacado na literatura (Castagnola e Orlay 1952; Maisto 1965; Cruz et al. 2001) como agente químico antimicrobiano.

No presente estudo, foi mostrado que, para os grupos Controle (sem tratamento) a incidência de infiltração microbiana foi menor para os sistemas de Cone Morse com relação ao sistema Hexágono Interno, com diferença estatística em consonância com Dixon et al. (1995) e Maeda et al. (2006), mas em dissonância com os achados de Sequeira (2005) e Steinebrunner et al. (2005).

O poder antimicrobiano comprovado pela literatura das substâncias analisadas nesta pesquisa, iodofórmio e íons de prata, pode justificar os maiores valores de contagem bacteriana apresentados pelos implantes de conexão do tipo hexágono interno para o grupo Controle em relação aos dois grupos de tratamento, Pasta antimicrobiana e Íons de prata ($p < 0,001$).

A maioria dos estudos *in vitro* avaliando a passagem de bactérias através da interface implante/conector protético de forma estática apresentou altos índices de contaminação dos espécimes avaliados, em alguns casos até mesmo 24 horas antes do período de incubação, indicando a ocorrência de falhas na adaptação dos componentes (Proff et al., 2006; Duarte et al., 2006; do Nascimento et al., 2009).

Nosso estudo mostrou uma alta taxa de contaminação para os grupos com conexão hexagonal interna e Cone Morse, com incidências de espécies *S. sobrinus* (100%) e *S. sanguinis* (100%) para o Cone Morse, *S. aureus* (100%) e *S. gordonii* (100%) para o hexágono interno, considerando-se o grupo controle. Jansen et al. (1997) mostraram que até mesmo sistemas de implantes com um alto padrão de exatidão na adaptação entre os componentes não puderam prevenir completamente

a penetração bacteriana e a colonização dos implantes. Ainda segundo esses autores, a infiltração bacteriana em implantes de conexão interna e externa não discrepam significativamente.

Uma explicação plausível da maior incidência das espécie bacterianas *P. melaninogenica* (75%) e *M. Salivarium* (66,7%) para o Cone Morse, *A. actinomycetemcomitans* B, *P. Endodontalis* e *P. Intermedia* (75%) para o hexágono interno, nos grupos com adição de prata; *P. intermedia* (75%) para o Cone Morse, e *P. endodontalis* (83,3%) para o hexágono interno, nos grupos com aplicação da pasta, pode ser feita pela constituição de suas membranas Gram-negativas, compostas por moléculas de lipopolissacarídeos (LPS), que promovem efetivo obstáculo contra nanopartículas (Fan et al., 2002; Brayner et al., 2006). Resultados análogos foram apontados por Yoon et al. (2007), que também relacionaram a constituição da membrana celular como a causa da maior incidência de micro-organismos Gram-negativos.

Entretanto, de acordo com Damm et al. (2008), as partículas de prata são efetivas tanto contra bactérias Gram-positivas, tais como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, quanto no combate a espécies Gram-negativas, como a *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Parece-nos tolerável equiparar as medidas das fendas e a dimensão dos micro-organismos. No presente estudo, embora os conjuntos implantes/componentes protéticos tenham sido montados de acordo com as recomendações do fabricante, a existência de microinfiltração bacteriana não é surpresa se compararmos os ínfimos tamanhos, oscilando de 2 a 8µm em média, dos micro-organismos selecionados com a dimensão das discrepâncias horizontais, oscilando de 16 a 27µm, e verticais, oscilando de 22,6 a 62,2, em média (Tsuge et al., 2008).

É importante salientar também que na cavidade oral são encontrados micro-organismos menores como espiroquetas (0,1 a 0,5 μm), e maiores e com menos mobilidade, como *Bacillus* ou *Clostridium sp.* e leveduras (Jansen et al., 1997).

Em nossa pesquisa, menor incidência de espécies microbianas foi observada para a associação implantes Cone Morse e Íons prata, seguidos, sem diferença estatística, de Cone Morse com Pasta iodoformada. Por outro lado, em uma situação paradoxal, os valores de contagem bacteriana obtidos a partir dos mesmos implantes (Cone Morse) foram maiores para esse grupo. A ação antimicrobiana da prata pode ter agido contra espécies específicas, que ao se degradarem, propiciaram o crescimento e desenvolvimento de outras, pela diminuição da competitividade e pelos seus produtos de degradação que serviram de alimento para micróbios mais resistentes.

Tal acontecimento é reforçado por Mombelli et al., (1988) e Mombelli e Mericske-stern (1990) que evidenciaram que a população bacteriana primitiva nas bolsas peri-implantares é caracterizada por grande quantidade de estreptococos anaeróbios facultativos, portanto Gram-positivos. Todavia, foi constatada pequena quantia de espécies anaeróbias Gram-negativas em colonizações peri-implantares iniciais em casos isolados. Progressivamente com o decurso do tempo, ocorre uma diminuição dos estreptococos facultativos e uma ampliação de Gram-negativos anaeróbios estritos.

do Nascimento et al., (2011) destacaram que a detecção de micro-organismos não viáveis no interior dos implantes e seus componentes constituem um fator de relevante importância, uma vez que a própria estrutura celular do micro-organismo e seus produtos de degradação podem representar um fator de risco para os tecidos de suporte, servindo como nutrientes para outras espécies oportunistas.

No presente estudo um total de 43 espécies microbianas presentes na saliva humana foram examinadas concomitantemente, por meio da técnica de hibridização DNA Checkerboard, incluindo espécies responsáveis pela origem do biofilme microbiano e aquelas relacionadas às doenças periodontais e peri-implantares.

A análise de cultura microbiana convencional vem sendo aplicada há décadas para a investigação da fauna e flora microscópicas da cavidade bucal humana, embora restrinjam-se somente à detecção de micro-organismos viáveis e cultiváveis. Os métodos biológicos moleculares para verificação, identificação e quantificação de micro-organismos têm contribuído para um aprimorado conhecimento da microbiota envolvida nas doenças periodontais e peri-implantares (Sakamoto et al., 2005; Quirynen et al., 2005; Dahlén e Leonhardt, 2006). Essas técnicas são mais breves que as convencionais e são feitas a partir da utilização de sondas de DNA microbiano.

Loesche et al. (1992), relataram que a técnica de cultura não é indicada para ser usada isoladamente em estudos de prevalência. Mencionaram ainda, que os métodos de hibridização, como o DNA Checkerboard, são notavelmente melhores que as técnicas convencionais de cultura na detecção de espécies bacterianas.

A esses valores soma-se o fato de que a técnica do DNA Checkerboard permite avaliação simultânea de várias espécies de micro-organismos em um grande número de amostras, assim, esse método tem se apresentado mais eficiente na detecção de micro-organismos alojadas na parte interna dos implantes.

Este tipo de técnica, por identificar os micro-organismos pelo DNA, detecta tanto espécies viáveis quanto não viáveis.

Em um estudo *in vitro* desenvolvido por Barbosa et al. (2009), foram comparados os métodos de cultura microbiana convencional e DNA Checkerboard

quanto à detecção e quantificação do micro-organismo *F. nucleatum* presente na porção interna de implantes com conexão do tipo hexágono externo, após incubação em meio de cultura. Os dois procedimentos averiguados apontaram quantidades limitadas de micro-organismos no interior dos implantes, contudo, decorridos 14 dias de inoculação em saliva, o cálculo da quantidade de micro-organismos foi significativamente maior no grupo avaliado pelo método de hibridização DNA Checkerboard. Os autores concluíram que o método molecular de detecção é mais sensível do que a cultura convencional, permitindo a identificação de espécies viáveis e não viáveis.

Contrastando os estudos na literatura, foi observado que pesquisas específicas sobre métodos como adição de antisséptico para impedir a infiltração ou combater o micro-organismo são escassos. É lícito afirmar que a existência de infiltração bacteriana pela interface implante/componente protético existe, e, em longo prazo pode comprometer a estabilidade dos implantes osseointegrados. Sendo assim, novos estudos considerando esta infiltração, sua relação com a má adaptação dos componentes e o desenvolvimento de ferramentas, químicas ou físicas, são necessários para solucionar ou minimizar a passagem de fluidos com cargas de microrganismos.

É limitação desse estudo a não reprodução fiel da cavidade bucal do paciente, envolvendo biofilme, fluidos gengivais contendo anticorpos, componentes da reação inflamatória como as metaloproteinases (Mian et al., 2012), oscilação de temperatura e ação de forças oclusais. Estudos adicionais devem ser realizados *in vitro*, com emprego da ação de cargas oblíquas, simulando as forças oclusais, e, *in vivo*, expondo de forma fidedigna às situações de funcionamento exercidas por todo o sistema estomatognático.

=====

Contribuição Clínica desta Pesquisa

=====

A partir dos achados do presente estudo, constata-se que é compensador investir em agentes antimicrobianos de superfície e medicações em diversas formulações e formas de apresentação, objetivando tentar contornar o problema de infiltração microbiana nos atuais sistemas de implantes dentários, em especial na interface implante/conector protético.

6. Conclusões

6. CONCLUSÕES

Dentro das limitações e face aos resultados alcançados por este trabalho experimental, é lícito concluir que:

- a passagem dos 43 micro-organismos analisados *in vitro* através da interface implante/componente protético sucedeu em ambos os sistemas avaliados, Cone Morse e Hexágono Interno;
- os valores de contagem bacteriana foram menores para os implantes de conexão Cone Morse de que para aqueles de conexão do tipo Hexágono Interno no grupo Controle;
- as amostras dos implantes Cone Morse dos grupos Íons de prata e pasta antimicrobiana apresentaram maiores valores de contagem bacteriana quando comparados com os implantes do grupo Controle;
- as amostras dos implantes Hexágono Interno dos grupos Íons de prata e pasta antimicrobiana apresentaram menores valores de contagem bacteriana quando comparados com os implantes do grupo Controle;
- as amostras dos implantes Cone Morse apresentaram menor incidência de bactérias do que as amostras dos implantes hexágono interno para os três grupos analisados;
- os tratamentos de adição de sais de prata as paredes dos pilares protéticos e aplicação da pasta antimicrobiana no interior dos implantes diminuíram a infiltração microbiana no interior daqueles de conexão do tipo Hexágono Interno;
- a adição de sais de prata aos pilares protéticos dos implantes Cone Morse ocasionou baixa da incidência de contaminação microbiana;
- o atrito friccional, típico das conexões Cone Morse, pode ter sido prejudicado em ambas as situações, adição de sais de prata aos conectores protéticos e aplicação da pasta antimicrobiana.

Referências

REFERÊNCIAS¹

Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg*, 1981;10(6):387–416.

Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI, Lindhe J, Eriksson B, Sbordone L. Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (I). A 3-year longitudinal prospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1986;15(1):39-52.

Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1990;5(4):347-59.

Albrektsson T. A multicenter report on osseointegrated oral implants. *Journal of Prosthodontic Dentistry*. 1988;60(1):75-84.

Albrektsson T, Sennerby L. Direct bone anchorage of oral implants: clinical and experimental considerations of the concept of osseointegration. *Int J Prosthodont*. 1990;3(1):30-41.

Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 2 — review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont* 2004; 17(5):544–64.

Albrektsson T, Wennerberg A. The impact of oral implants - past and future, 1966-2042. *J Can Dent Assoc*. 2005;71(5):327a-327d.

Aloise JP, Curcio R, Laporta MZ, Rossi L, da Silva AM, Rapoport A. Microbial leakage through the implant-abutment interface of Morse taper implants *in vitro*. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(3):328-35p. Epub 2010.

Astrand P, Engquist B, Anzen B, Bergendal T, Hallman M, Karlsson U, Kvint S, Lysell L, Rundcrantz T. Nonsubmerged and submerged implants in the treatment of the partially edentulous maxilla. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2002;4(3):115-27.

Barbosa RE, do Nascimento C, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque RF Jr. Bacterial culture and DNA Checkerboard for the detection of internal contamination in dental implants. *J Prosthodont*. 2009;18(5):376-81. Epub 2009.

Besimo CE, Guindy JS, Lewetag D, Meyer J. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants *in vitro*. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(5):654-60.

Bier, O. Microbiologia e imunologia. 24ª ed. São Paulo: Melhoramentos, 1992. 1234 p.

¹ UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Sistema Integrado de Bibliotecas. **Diretrizes para apresentação de Dissertações e Teses da USP**: documento eletrônico e impresso. São Paulo: SIBi/USP, 2011. 100p.

Binon PP. Evaluation of three slip fit hexagonal implants. *Implant Dentistry* 1996;5(4):235-48.

Binon P, Mchugh M. The effect of eliminating implant/abutment rotational misfit on screw joint stability. *Int J Prosthodont*. 1996;9(6):511-9.

Bollen CML, Papaioannou W, van Eldere J, Schepers E, van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clin Oral Impl Res*. 1996;7(3):201-11.

Bornstein MM, Schmid B, Belser UC, Luissi A, Buser D. Early loading of non-submerged titanium implants with a sandblasted and acidetched surface. 5-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Clin Oral Impl Res*. 2005;16(6):631-8.

Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental protheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1969;3(2):81-100.

Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl*. 1977;16(1)1-132.

Brånemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. *Tissue-Integrated Protheses: Osseointegration in Clinical Dentistry*. 3^o ed. Chicago: Quintessence, 1985. 350p.

Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, Djediat S, Benedetti MF, Fiévet F. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Lett*. 2006;6(4):866-70p.

Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res*. 2006;85(5):473-8p.

Bryant SR. Oral implant outcomes predicted by age- and site-specific aspects of bone condition [Tese de doutorado], Toronto: University of Toronto; 2001.

Buchmann R, Khoury F, Pingel D, Lange D. The microflora recovered from the outer-surfaces of the Frialit-2 implanto-prosthetic connector. *Clin Oral Impl Res*. 2003;14(1):28-34.

Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Sti H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants: a histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res*. 1991;25(7):889-902.

Buser D, Mericske-Stern R, Bernard JP, Behneke A, Benheke N, Hirt HP, Belser UC, Lang NP. Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clin Oral Impl Res*. 1997;8(3):161-72.

Canullo L, Quaranta A, Teles RP. The microbiota associated with implants restored with platform switching: a preliminary report. J Periodontol. 2010;81(3):403-11.

Callan DP, Cobb CM, Williams KB. DNA probe identification of bacteria colonizing internal surfaces of the implant-abutment interface: a preliminary study. J Periodontol. 2005;76(1):115-20p.

Cao CF, Aeppli DM, Liljemark WF, Bloomquist CG, Bandt CL, Wolf LF. Comparison of plaque microflora between Chinese and Caucasian population groups. Journal of Clinical Periodontology 1990;17(2) 115-118p.

Carr AB, Gerard DA, Larsen PE. The response of bone in primates around unloaded dental implants supporting prostheses with different levels of fit. J Prosthet Dent. 1996;76(5):500-9.

Carreira CM, Pereira CA, Bombana AC, Jorge AOC. Eficácia antimicrobiana das nanopartículas de prata sobre esporos, leveduras e bactérias. XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba 2011:1-6p.

Castagnola L, Orlay HG. Treatment of gangrene of the pulp by the walkhoff method. Br Dent J. 1952;92(4):92-102p.

Çehreli MC, Akça K, Iplikçioğlu H, Şahin S. Dynamic fatigue resistance of implant-abutment junction in an internally notched morse-taper oral implant: influence of abutment design. Clin Oral Implant. 2004;15(4):459-65.

Chun HJ, Shin HS, Han CH, Lee SH. Influence of implant abutment type on stress distribution in bone under various loading conditions using finite element analysis. Int J Oral Maxillofac Implants. 2006;21(2):195-202p.

Ciotti DA, Joly JC, Silva RC, Cury PR. Características morfológicas e composição química da superfície e da microfenda implante-*abutment* dos implantes de dois estágios. Implant News. 2007;4(4):401-4p.

Coelho AL, Suzuki M, Dibart S, DA Silva N, Coelho PG. Cross-sectional analysis of the implant-abutment interface. J Oral Rehabil. 2007;34(7):508-16p.

Colombo APV, Telles RP, Torres MC, Souto R, Rosalém JrW, Mendes MCS, Uzeda M. Subgingival microbiota of Brazilian Subjects with untreated chronic periodontitis. J Periodontol. 2002;73(4):360-9.

Cosyn J, Van Aelst L, Collaert B, Persson GR, De Bruyn H. The peri-implant sulcus compared with internal implant and suprastructure components: a microbiological analysis. Clin Implant Dent Relat Res. 2011;13(4):286-95p. doi: 10.1111/j.1708-8208.2009.00220.x. Epub 2009.

Cottone JA, Molinari JA. Selection for dental practice of chemical disinfectants and sterilants for hepatitis and AIDS. Aust Dent J. 1987;32(5):368-74.

Cravinhos JCP. Análise in vitro da infiltração bacteriana na interface implante/conector protético em três sistemas de implantes endósseos. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica – Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais). Piracicaba: UNICAMP-Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 2003. 68f.

Cruz, M. Avaliação da eficiência da pomada Proheal no controle de microabcessos em torno dos implantes durante a fase de osseointegração. Juiz de Fora: Clinest – Centro Clínico de Pesquisa em Estomatologia, 2001. 11 p.

Cury PR, Horewicz VV, Augusto AO, Joly JC, Laganá DC, Araújo NS. Avaliação *in vitro* da microinfiltração bacteriana na interface implante-intermediário. Implan News. 2006;3(6):613-7p.

de Boever AL, De Boever JA. Early colonization of non-submerged dental implants in patients with a history of advanced aggressive periodontitis. Clin Oral Implants Res. 2006;17(1):8-17p.

Damm C, Münstedt H, Rösch A. The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites. Mater Chem Phys 2008;108(2):61-66p.

Damm C, Munstedt H, Rosch A. Long-term antimicrobial polyamide 6/silver-nanocomposites. J Mat science 2007;42(3):6067-6073p.

Daniel RLDP, Jaeger MMM, Machado MEL. Análise comparativa da citotoxicidade in vitro do iodofórmio e do hidróxido de cálcio. RPG 1998;5(4): 271-273p.

Dellow AG, Driessen CH, Nel HJ. Scanning electron microscopy evaluation og the interfacial fit of interchanged components of four dental implant systems. Int J Prosthodont. 1997;10(3):216-21.

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;20(5):732-7.

Dinato JC, Wulff LCZ, Bianchini MA. Adaptação passiva: ficção ou realidade? In: Dinato JC, Polido WD. Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese. 1ª ed. São Paulo: Artes Médicas, 2004. 283-313p.

Dixon D, Breeding LC, Sadler JP, McKay ML. Comparison of screw loosening, rotation, and deflection among three implant designs. J. Prosthet. Dent., 1995.74(3):270-278.

Dahlén G, Leonhardt A. A new checkerboard panel for testing bacterial markers in periodontal disease. Oral Microbiol Immunol. 200;21(1):6-11p.

Duarte ARC, Rossetti PHO, Rossetti LMN, Torres SA, Bonachela WC. In vitro sealing ability of two materials at five different implant-abutment surfaces. *J Periodontol*. 2006;77(11):1828-32.

Edgerton M, Lo SE, Scannapieco FA. Experimental salivary pellicles formed on titanium surfaces mediate adhesion of streptococci. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(4):443-9.

Ellen RP. Microbial colonization of the peri-implant environment and its relevance to long-term success of osseointegrated implants. *Int J Prosthodont*. 1998;11(5):433-41.

Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J, Klinge B. Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. *J Clin Periodontol*. 1995;22(3):255-61p.

Fan E, Merritt EA . Combating infectious diseases through multivalent design. *Curr Drug Targets Infect Disord*. 2002;2(2):161-167p.

Finger IM, Castellon P, Block M, Elian N. The evolution of external and internal implant-abutment connections. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2003;15(8):625-32.

Flemming T, Renvert S. Consensus report: Maintenance and complications. In: Lang NP, Karring T, Lindhe J. *Proceedings of the third European Workshop on Periodontology*. 1ª ed. Berlim: Quintessenz Verlag, 1999. 615p.

Fernandes FH, Orsi IA, Villabona CA. Effects of the peracetic acid and sodium hypochlorite on the colour stability and surface roughness of the denture base acrylic resins polymerised by microwave and water bath methods. *Gerodontology*. 2012; 9. doi: 10.1111/j.1741-2358.2012.00640.x. [Epub ahead of print].

Francischone CE, Ishikiriyama SK, Vasconcelos LW. Prótese parafusada versus prótese cimentada sobre implantes osseointegrados: vantagens e desvantagens. In: Vargillotta PS, Salgado LPS. *Odontologia integrada*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Pedro Primeiro, 1999. ??p.

Furno F, Morley KS, Wong B, Sharp BL, Arnold PL, Howdle SM, Bayston R, Brown PD, Winship PD, Reid HJ Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection? *J Antimicrob Chemother*. 2004;54(6):1019-24. Epub 2004 Nov 10.

Gerber J, Wenaweser D, Heitz-Mayfield L, Lang NP, Persson RG. Comparison of bacterial plaque samples from titanium implant and tooth surfaces by different methods. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(1):1-7.

Gibbons RJ. Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. *J Dent Res*. 1984;63(3):378-85.

Gibbons RJ, Houte JV. Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. *Infect Immun*. 1971;3(4):567-73.

Gibbons RJ, Houte JV. Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annu Rev Microbiol*. 1975;29:19-44p.

Gouvoussis J, Sindhusake D, Yeung S. Cross-infection from periodontitis sites to failing implant sites in the same mouth. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(5):666-73p.

Guindy JS, Besimo CE, Besimo R, Schiel H, Meyer J. Bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained implant-borne crowns in vitro. *J Oral Rehabil*. 1998;25(6):403-8.

Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment- implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(1):94-100.

Hagiwara Y, Suzuki Y, Igarashi T. Three dimensional compatibility of implant components by using scanning laser microscope. *J Dent Res*. 1997;76:427p.

Hanggi MP, Hanggi DC, Schoolfield JD, Meyer J, Cochran DL, Hermann JS. Crestal bone changes around titanium implants. Part I: A retrospective radiographic evaluation in humans comparing two nonsubmerged implant designs with different machined collar lengths. *J Periodontol*. 2005;76(5):791-802.

Hecker DM, Eckert SE, Choi YG. Cyclic loading of implant-supported prostheses: comparison of gaps at the prosthetic-abutment interface when cycled abutments are replaced with as-manufactured abutments. *J Prosthet Dent*. 2006;95(1):26-32.

Heijdenrijk K, Raghoobar GM, Meijer HJ, Stegenga B, van Der Reijden WA. Feasibility and Influence of the Microgap of Two Implants Placed in a Non-Submerged Procedure: A Five-Year Follow-Up Clinical Trial. *J Periodontol*. 2006;77(6):1051-60.

Hertel RC, Richter EJ. Das intramobile element des IMZ-Systems in der klinischen Prüfung. *Z Zahnärztl Implantol*. 1988;4(3) 43-9p.

Hobo S, Ichida E, Garcia LT. Osseointegração e reabilitação oral. 1 ed. São Paulo: Santos, 1997. 336p.

Holmes JR, Bayne S, Holland GA, Sulik WD. Considerations in measurement of marginal fit. *J Prosthet Dent*. 1989;62(4):405-8.

Hämmerle HF, Brägger U, Bürgin W, Lang NP. The effect of subcrestal placement of the polished surface of ITI implants on marginal soft and hard tissues. *Clin Oral Implants Res*. 1996;7(2):111-9.

Jansen VK, Conrads G, Richter EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(4):527-40.

Joly JC, Lima AFM. Características da superfície e da fenda implante-intermediário em sistemas de dois e um estágios. *J Appl Oral Sci*. 2003;11(2):107-13.

Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on cristal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol*. 2001;72(10):1372-83.

King GN, Hermann JS, Schoolfield JD, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone levels on non-submerged dental implants. A radiograph study in the canine mandible. *J Periodontol*. 2002;73(10):1111-7.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido. 5ª ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2001. 1488 p.

Könönen M, Hormia M, Kivilahti J, Hautaniemi J, Thesleff I. Effect of surface processing on the attachment, orientation and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. *J Biomed Mater Res*. 1992;26(10):1325-41p.

Koka S, Razzoog M, Bloem TJ, Syed S. Microbial colonization of dental implants in partially edentulous patients. *J Prosthet Dent*. 1993;70(2):141-4p.

Khraisat A, Stegaroiu R, Nomura S, Miyakawa O. Fatigue resistance of two implant/abutment joint designs *J Prosthet Dent*. 2002;88(6):604-10p.

Khraisat A, Baqain ZH, Smadi L, Nomura S, Miyakawa O, Elnasser Z. Abutment rotational displacement of external hexagon implant system under lateral cyclic loading. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2006;8(2):96-99p.

Kumar R, Howdle S, Münstedt H. Polyamide/silver antimicrobials: effect of filler types on the silver ion release. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;75(2):311-9p.

Lazzara RJ. Restorative advantages of the coronally hexed implant. *Compendium*. 1991;12(12):924, 926-30p.

Lee KH, Maiden MFJ, Tanner ACR, Weber HP. Microbiota of successful osseointegrated dental implants. *J Periodontol*. 1999;70(2):131-8p.

Leonhard Å, Dahlén G, Renvert S. Five-year clinical, microbiological, and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. *J Periodontol*. 2003;74(10):1415-22p.

Leonhard Å, Renvert S, Dahlén G. Microbial findings at failing implants. Clin Oral Implant Res. 1999;10(5):339-45.

Levine RA, Clem DS 3rd, Wilson TG Jr, Higginbottom F, Solnit G. Multicenter retrospective analysis of the ITI implant system used for single-tooth replacements: Preliminary results at 6 or more months of loading. Int J Oral Maxillofac Implants. 1997;12(2):237-42.

Levine RA, Clem DS 3rd, Wilson TG Jr, Higginbottom F, Solnit G. Multicenter retrospective analysis of the ITI implant system used for single-tooth replacements: Results of loading for 2 or more years. Int J Oral Maxillofac Implants. 1999;14(4):516-20.

Listgarten MA, Lai CH. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. J Periodontol. 1999;70(4):431-7.

Loesche WJ, Lopatin DE, Stoll J, van Poperin N, Hujoel PP. Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria: can culture be considered the primary reference standard? J Clin Microbiol. 1992;30(2):418-26p.

Maeda Y, Satoh T, Sogo M. *In vitro* differences of stress concentrations for internal and external hex implant-abutment connections: a short communication. J Oral Rehabilitation. 2006;33(1):75-8.

Magini RS, Schiochett C. Históricos dos implantes: do sonho à realidade. Rev Bras Odontol. 1999;56(5):245-51.

Maisto OA. Preparation and use of a slowly resorpting paste for root canal obturation]. rev asoc odontol argent. 1965;53(1):88-9p

Meffert RM. The soft tissue interface in dental implantology. J Dent Educ. 1988;52(12):810-1.

Meffert RM, Langer B, Fritz ME. Dental implants: a review. J Periodontol. 1992;63(11):859-70.

Merz BR, Hunenbart S, Belser UC. Mechanics of the implant-abutment connection: an 8 degree taper compared to a butt joint connection. Int J Oral Maxillofac Implants. 2000;15(4):519-26.

Mombelli A. Etiology, diagnosis and treatment considerations of peri-implantitis. Curr Opin Periodontol. 1997;4:127-36.

Mombelli A, Burgin W, Buser D, Lang NP, Rutar A. Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions. Clin Oral Implants Res. 2001;12(3):189-95.

Mombelli A, Buser D, Lang NP. Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. *Oral Microbiol Immunol.* 1988;3(3):113–20.

Mombelli A, Mericske-Stern R. Microbiological features of stable osseointegrated implants used as abutments for overdentures. *Clin Oral Implants Res.* 1990;1(1):1–7.

Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontol* 2000. 1998;17(8):63-76p.

Molinari JA, Gleason MJ, Cottone JA, Barrett ED. Cleaning and disinfectant properties of dental surface disinfectants. *J Am Dent Assoc.* 1988;117(1):179-82p

Molinari JA, Runnells RR. Role of disinfectants in infection control *Dent Clin North Am.* 1991;35(2):323-37p.

Muftu A, Chapman RJ, Mulcahy HL. Comparison of Microbial Penetration Between Components of Screw and Locking Taper Implant-Abutment Connections. *IADR, San Francisco,* 1996.

Nakazato G, Tsuchiya, H, Sato M, Yamauchi M. In vivo plaque formation on implant materials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1989;4(4):321-25.

do Nascimento C, Barbosa RE, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, Albuquerque RF Jr. Bacterial leakage along the implant–abutment interface of premachined or cast components. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37(2):177-80.

do Nascimento C, de Albuquerque RF Jr, Monesi N, Candido-Silva JA. Alternative method for direct DNA probe labeling and detection using the checkerboard hybridization format. *J Clin Microbiol.* 2010;48(8):3039-40p. Epub 2010

do Nascimento C, Miani PK, Pedrazzi V, Muller K, de Albuquerque Junior RF. Bacterial leakage along the implant-abutment interface: culture and DNA Checkerboard hybridization analyses. *Clin Oral Implants Res. Clin. Oral Impl. Res.* 00, 2011, 1–5 doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02280.x

Niznick G. The implant abutment connection: the key to prosthetic success. *Compendium.* 1991;12(12):932-4.

Norton MR. An in vitro evaluation of the strength of an internal conical interface compared to a butt joint interface in implant design. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(4):290-8.

O'Mahony A, Macneill SR, Cobb CM. Design features that may influence bacterial plaque retention: a retrospective analysis of failed implants. *Quintessence Int.* 2000;31(4):249-56.

Ong G, Soh G, Chong YH. Periodontal status of institutionalized elderly in Singapore. *Community Dentistry in Oral Epidemiology*, Copenhagen, 199; 20, (6)382-383p.

Orsini G, Fanali S, Scarano A, Petrone G, Di Silvestro S, Piattelli A. Tissue reactions, fluids, and bacterial infiltration in implants retrieved at autopsy: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15(2):283-6.

Palmer RM, Howe LC, Palmer PJ. A prospective 3-year study of fixed bridges linking Astra Tech ST implants to natural teeth. *Clin Oral Implants Res*. 2005;16(3):302-7.

Panacek A, Kvítek L, Prucek R, Kolar M, Vecerova R, Pizúrova N, Sharma VK, Nevecna T, Zboril R. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J Phys Chem B*. 2006;110(33):16248-53.

Papaioannou W, Quirynen M, Nys M, van Steenberghe D. The effect of periodontal parameters on the subgingival microbiota around implants. *Clin Oral Implants Res*. 1995;6(4):197-204p.

Persson LG, Lekholm U, Leonhardt A, Dahlen G, Lindhe J. Bacterial colonization on internal surfaces of Branemark system implant components. *Clin Oral Implants Res*. 1996;7(2):90-5.

Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GC, Di Bonaventura G, Catamo G, Piccolomini R. Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. *J Periodontol*. 2001;72(9):1146-50p.

Prinz RUG, Dobbs EC. *Farmacology and dental therapeutics*. 8° ed. Estados Unidos da América: C.V. Mosby Company;1941:145-147p.

Proff P, Steinmetz I, Bayerlein T, Dietze S, Fanghänel J, Gedrange T. Bacterial colonisation of interior implant threads with and without sealing. *Folia Morphol* 2006;65(1):75-7p.

Quirynen M, Alsaad G, Pauwels M, Haffajee A, van Steenberghe D, Naert I. Microbiological and clinical outcomes and patient satisfaction for two treatment options in the edentulous lower jaw after 10 years of function. *Clin Oral Implants Res*. 2005;16(3):277-87p.

Quirynen M, Bollen CM, Eyssen H, van Steenberghe D. Microbial penetration along the implant components of the Branemark System. *Clin Oral Implants Res*. 1994;5(4):239-44.

Quirynen M, Bollen CM, Papaioannou W, van Eldere J, van Steenberghe D. The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(2):169-78.

Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(1):1-19.

Quirynen M, Listgarten MA. Distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Branemark. *Clin Oral Implants Res.* 1990;1(1):8-12.

Quirynen M, van Der Mei HC, Bollen CM, Schotte A, Marechal M, Doornbusch GI, Naert I, Busscher HJ, van Steenberghe D. An in vivo study of the influence of the surface roughness of implants on the microbiology of supra-and subgingival plaque. *J Dent Res.* 1993;72(9):1304-9.

Quirynen M, van Steenberghe D. Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants. *Clin Oral Implants Res.* 1993;4(3):158-61.

Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri-implant pockets. *Clin. Oral Implants Res.* 2006;17(1):25-37.

Rack A, Rack T, Stiller M, Riesemeier H, Zabler S, Nelson K. In vitro synchrotron-based radiography of micro-gap formation at the implant-abutment interface of two-piece dental implants. *J Synchrotron Radiat.* 2010;17(2):289-94p. Epub 2010.

Resende LCN. Interação biológica implante tecido-ósseo. 1 ed. São Paulo: Almed, 1993. 173p.

Rimondini L, Marin C, Brunelle 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;72(12):1652-7.

Romanos GE, Nentwig GH. Single molar replacement with a progressive thread design implant system: A retrospective clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(6):831-6.

Rutar A, Lang NP, Buser D, Burgin W, Mombelli A. Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(3):189-95.

Sahin S, Cehreli MC. The significance of passive framework fit in implant prosthodontics: current status. *Implant Dent.* 2000;10(2):85-90.

Sakamoto M, Umeda M, Benno Y. Molecular analysis of human oral microbiota. *Journal of Periodontal Research.* 2005; 40(3): 277-285p.

Salcetti JM, Moriarty JD, Cooper LF, Smith FW, Collins JG, Socransky SS, Offenbacher S. The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997; 12(1):32-42p.

Sequeira AB. Análise descritiva da desadaptação de pilares protéticos e análogos de implantes por MEV e seus efeitos quanto a possibilidade de infiltração bacteriana: estudo experimental in vitro. 2005. Dissertação (Mestrado em Odontologia).

Shillinburgh TH. Fundamentos de prótese fixa. 3 ed. São Paulo: Quintessence, 1996. 472p.

Saidin S, Abdul Kadir MR, Sulaiman E, Abu Kasim NH. Effects of different implant-abutment connections on micromotion and stress distribution: prediction of microgap formation. J Dent. 2012;40(6):467-74. Epub 2012.

Saito A, Hosaka Y, Sekiguchi K, Kigure T, Isobe S, Shibukawa Y, Sumii H, Ito T, Nakagawa T, Yamada S. Responses of peri-implant tissues to undisturbed plaque formation in dogs: clinical, radiographic, and microbiological findings. Bulletin of Tokyo Dental College. 1997; 38(1):13-20p.

Sbordone I, Ramaglia I, Barone A, Ciaglia RN, Tenore A, Iacono VJ. Periodontal status and selected cultivable anaerobic microflora of insulin-dependent juvenile diabetics. Journal of Periodontology, 1995; 66(6): 452-461p.

Schroeder A, Stich H, Straumann F, Sutter D. [The accumulation of osteocementum around a dental implant under physical loading]. SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd 1978; 88(10):1051–58.

Schulte W, Heimke G. Das Tübingen Sofort-Implantat. Quintessenz 1976; 27(1):17–23.

Skalak, R. Biomechanical considerations in osseointegrated prostheses. J Prosthet Dent. 1983;49(6):843-8.

Smith DE, Zarb GA. Criteria for success of osseointegrated endosseous implants. J Prosthet Dent. 1989;62(5):567-72p.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol. 1998;25(2):134-44p.

Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Martin L, Haffajee JA, Uzel NG, Goodson JM. Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. Oral Microbiol Immunol. 2004;19(6):352-62p.

Southam JC, Selwyn P. Structural changes around screws used in the treatment of fractured human mandibles. Brit J Oral Surg 1970;8(3):211–221p.

Squier RS, Psoter WJ, Taylor TD. Removal torques of conical, tapered implant abutments: the effects of anodization and reduction of surface area. Int J Oral Maxillofac Implants. 2002;17(1):24-7.

Shibli JA, Vitussi TR, Garcia RV, Zenóbio EG, Ota-Tsuzuki C, Cassoni A, Piattelli A, d'Avila S. Implant surface analysis and microbiologic evaluation of failed implants retrieved from smokers. *J Oral Implantol*. 2007;33(4):232-8p.

Steinebrunner L, Wolfart S, Bossmann K, Kern M. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005;20(6):875-81.

Sturridge E. Discussion on pyorrhoea: its prevention and treatment. *Proc R Soc Med*. 1924;17(Odontol Sect):20-1

Suuronen R, Laine P, Salo A, Kontio R, Ylijoki S, Lindqvist C. Failed dental implants – clinical, radiological and bacteriological findings in 17 patients. *J Cranio-maxillofac Surg*. 2005;33(3):212-7.

Tanner A, Maiden MFJ, Lee K, Shulman LB, Weber HP. Dental implant infections. *Clin Infectious Diseases*. 1997;25(2):213-7.

Tavarez RRJ. Análise comparativa das interfaces de implantes de conexão externa e interna em restaurações unitárias cimentadas e parafusadas, antes e após ensaios de fadiga. Tese (Doutorado). Bauru: USP-Faculdade de Odontologia de Bauru. 2003, 200p.

Teixeira W, Ribeiro RF, Sato S, Pedrazzi V. Microleakage into and from Two-Stage Implants: An In Vitro Comparative Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011;26(1):56–62.

Traversy MC, Birek P. Fluid and microbial leakage of implant-abutment assembly *in vitro*. *J Dent Res*. 1992;71(special issue):754.

Tsuge T, Hagiwara Y, Matsumura H. Marginal fit and microgaps of implant-abutment interface with internal anti-rotation configuration. *Dent Mater J*. 2008;27(1):29-34p.

van Steenberghe D, Klinge B, Lindén U, Quirynen M, Herrmann I, Garpland C. Periodontal indices around natural and titanium abutments: a longitudinal multicenter study. *J Periodontol*. 1993;64(6):538-41p.

van Winkelhoff AJ, Goenè RJ, Benschop C, Folmer T. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clin Oral Implant Res*. 2000;11(6):511-20.

Wahl G, Lang H. Deformation at the implant interface to prosthetic superstructure: an interferometric approach. *Clin Oral Implant Res*. 2004;15(2):233-8.

Yoon K, Byeon J, Parl J, Hwang J. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Sci. Total Environ*. 2007; 373(4): 572-575p.

Yu RY, Zhou YS, Feng HL, Liu XY. Silver-ion release and particle distribution of denture base resin containing nanometer-sized silver-supported antimicrobial agent. *Zhonghua Kou Qiang* 2008;43(3):54-56p

Wright KJ, Barbosa SV, Araki K, Spångberg LS. In vitro antimicrobial and cytotoxic effects of Kri 1 paste and zinc oxide-eugenol used in primary tooth pulpectomies. *Pediatr Dent*. 1994;16(2):102-6p.

Zarb GA. Proceedings of the Toronto conference on osseointegration in clinical dentistry. St Louis, MO: Mosby; 1983.

Zee KY, Samarayabe LP, Attstrom R. Predominant cultivable supragingival plaque in Chinese rapid and slow plaque formers. *Journal of Clinical Periodontology*, Copenhagen, 1996;23(11):1025-1031p.

Apêndices

APÊNDICE A

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Comitê de Ética em Pesquisa

Of.CEP 019/2012

Ribeirão Preto, 23 de fevereiro de 2012

Ref. processo nº **2011.1.1122.58.7**

CAAE nº 0055.0.138.000-11

Senhor(a) Pesquisador(a),

Por ordem do Senhor Coordenador, informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 127ª Sessão, realizada em 16 de fevereiro de 2012, **referendou** a aprovação do desenvolvimento do projeto de pesquisa envolvendo seres humanos, intitulado **"Avaliação da eficácia de uma pasta anti-microbiana no controle da contaminação bacteriana através da interface implante-conector protético - avaliação in vitro pelo método DNA checkerboard"**.

Informamos, também, que o relatório final deverá ser entregue na Secretaria do Comitê de Ética, até **04/12/2012**, impreterivelmente.

Salientamos que o referido relatório deverá ser elaborado de acordo com o **"Formulário para elaboração de Relatório Final de estudos clínicos unicêntricos e multicêntricos"** e entregue juntamente com o **"Formulário de acompanhamento de Projetos de Pesquisa Aprovados pelo CEP – Relatório Final"**, ambos disponíveis no *site* da FORP/USP (Comissões – Comitê de Ética em Pesquisa).

Atenciosamente,

Ana Aparecida Ferreira do Nascimento
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

APÊNDICE B

CONTAGEM BACTERIANA (X105) DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DOS IMPLANTES DE CONEXÃO DO TIPO CONE MORSE APÓS INCUBAÇÃO POR 7 DIAS (CONTROLE)

C. Tropicalis	0	0	0	0	5,91	0	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
C. Krusei	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
C. Glabrata	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
C. Dubliniensis	0,03	0,03	0,01	0,09	0,02	0,12	0,05	0	0	0	0,3	0,05	100000	1000000
C. Albicans	0,07	0	0,03	0,06	0,08	0,1	0,1	0,3	0	0	0,14	0	100000	1000000
V. Parvula	0,24	0,03	0	0,09	0,03	0,13	0,01	0,04	0,09	0	0,19	0	100000	1000000
T. denticola	0,08	0,02	0,01	0,15	0,11	0,02	0,12	0,02	0,01	0,04	0,01	0,02	100000	1000000
T. Forshytia	0,05	0,03	0	0,13	0,1	0	0,02	0,01	0,24	0,06	0,38	0,06	100000	1000000
S. sobrinus	0,13	0,05	0,1	0,1	0,09	0,18	0,12	0,03	0,08	0,15	0,11	0,06	100000	1000000
S. Saguinis	0,13	0,15	0,48	1,86	0,09	0,03	0,06	0,18	0,03	0,02	0,21	0,11	100000	1000000
S. Salivarius	2,8	4	0	3,22	4,26	4,09	4,02	3,57	3,68	4,26	3,82	0	100000	1000000
S. Pateuri	0	0,02	0,02	0,1	0,07	0,02	0,22	0,13	0,22	0,57	0,31	0,35	100000	1000000
S. Parasanguinis	0	0	0	0,01	0,08	0,05	0,09	0,11	0,09	0,3	0,12	0,05	100000	1000000
S. Oralis	0	0	0	0	0,02	0,17	0,01	0	0,14	0,12	0,02	0,07	100000	1000000
S. Mutans	0	0	0	0	0,07	0,03	0,42	0,07	0,26	0,14	0,09	0,16	100000	1000000
S. Moorei	0	0	0	0	0	0,03	0,26	0	0	0	0	0,07	100000	1000000
S. Mitis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,05	0,05	0,1	100000	1000000
S. Gordonii	0,27	0,18	0,06	0	0,06	0,09	0,05	0,24	0	0,11	0,1	0,09	100000	1000000
S. Constelatus	0,16	0,15	0	0	0	0	0	0,11	0	0	0	0	100000	1000000
S. Aureus	7,51	8,12	0	6,49	7,3	0	5,06	5,36	4,15	0	6,51	0	100000	1000000
P. Putida	0,24	0	0,02	0,17	0,01	0	0,06	0,41	0,18	0	0,02	0	100000	1000000
P. nigrescens	0,08	0	0	0	0	0	0,14	0,12	0,05	0	0,05	0	100000	1000000
P. Micra	0,1	0,02	0	0,02	0,14	0	0,03	0,17	0	0,17	0	0	100000	1000000
P. melaninogenica	0,01	0,07	0	0,04	0,05	0	0	0,2	0,03	0,16	0,03	0	100000	1000000
P. Intermedia	0	0	0,06	0	0,3	0	0,06	0,02	0,26	0	0,09	0	100000	1000000
P. Gingivalis	0	0	0	0	0	0	0	0	0,77	0	0,01	0	100000	1000000
P. Endodontalis	0	0	0	0,01	0,06	0	0	0	0,02	0	0,05	0	100000	1000000
P. anaerobios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
P. Aeruginosa	0	0	0	0	0	0	0,05	0,26	0	0	0,05	0,02	100000	1000000
N. Mucosa	0	0	0	0	0	0	0	0,04	0,15	0,07	0,03	0	100000	1000000
M. Salivarium	0,16	0,07	0,04	0	0	0	0	0,03	0	0,01	0,01	0,01	100000	1000000
L. casei	0,09	0,07	0,22	0	0	0	0,04	0	0,03	0	0	0	100000	1000000
K. Pneumoniae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
F. Periodonticum	0,01	0,16	0	0	0	0	0,04	0,01	0,17	0,01	0,02	0	100000	1000000
F. Nucleatum	0	0	0	0	0	0,11	0,05	0	0	0,07	0	0	100000	1000000
E. Faecalis	0	0,03	0,01	0	0	0,04	0	0	0	0,02	0,03	0	100000	1000000
E. Corrodens	0,02	0,18	0,01	0	0,01	0	0	0,1	0,03	0,04	0,02	0,02	100000	1000000
E. Coli	0	0,16	0	0	0,01	0,15	0	0,03	0,01	0,03	0	0	100000	1000000
C. Rectus	0	0	0	0	0,04	0	0	0	0,02	0,05	0	0	100000	1000000
C. Gengivalis	0,09	0,01	0,2	0,02	0,02	0	0	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01	100000	1000000
B. fragilis	0	0	0,03	0,02	0,04	0,19	0,08	0,03	0,1	0,03	0,06	0,01	100000	1000000
Aa b	0	0	0	0	0,11	0	0,18	0,25	0,08	0	0,13	0,1	100000	1000000
Aa a	0,09	0	0,02	0,47	0,54	0,66	0,38	0,08	0,4	0,26	0,29	0,32	100000	1000000

APÊNDICE C

CONTAGEM BACTERIANA (X105) DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DOS IMPLANTES DE CONEXÃO DO TIPO HEXAGONO INTERNO APÓS INCUBAÇÃO POR 7 DIAS (CONTROLE)

C. Tropicalis	0	0	0	2,95	0	2,85	2,98	0	0	0	0	0	100000	1000000
C. Krusei	0	0	0	3,43	0	2,83	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
C. Glabrata	0	0	0	3,33	2,88	3,21	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
C. Dubliniensis	2,85	0	3,21	2,97	3,23	3,03	2,84	0	0	0	0	2,85	100000	1000000
C. Albicans	3,27	0	3,1	2,99	4,3	3,34	0	2,96	0	0	2,95	0	100000	1000000
V. Parvula	0	0	2,99	0	3,24	3,17	0	0	0	3,01	0	0	100000	1000000
T. denticola	0	2,88	0	3,01	3,14	3,08	3,99	2,95	3,28	0	0	3,14	100000	1000000
T. Forshytia	0	2,91	0	3,85	3,29	3,13	2,88	3	0	3,4	0	0	100000	1000000
S. sobrinus	2,91	2,82	0	4,05	2,94	3,22	2,96	3,04	3,31	0	0	0	100000	1000000
S. Saguinis	0	2,88	3,02	4,37	3,68	3,06	3	2,95	0	2,92	0	0	100000	1000000
S. Salivarius	0	2,9	0	4	3,32	2,97	3,2	2,86	3,52	0	3,46	0	100000	1000000
S. Pateuri	4,48	3,09	3,05	0	3,22	2,96	3,13	3,19	0	3,08	0	4,15	100000	1000000
S. Parasanguinis	0	3,15	3,13	4,59	3,58	3,06	3,21	2,99	2,97	3,4	2,93	3,3	100000	1000000
S. Oralis	3,33	3,28	0	4,75	4,66	3,19	2,86	2,81	3,13	3,37	2,97	0	100000	1000000
S. Mutans	0	2,81	3,93	4,29	3,48	3,47	2,94	2,83	2,95	2,86	2,35	0	100000	1000000
S. Moorei	2,98	3,35	3,83	4	3,75	3,2	2,8	3,25	2,85	3,25	2,99	0	100000	1000000
S. Mitis	0	0	3,58	3,7	3,6	3,51	0	3,21	2,92	2,96	2,99	0	100000	1000000
S. Gordonii	3,56	3,26	3,7	3,88	3,61	3,17	2,87	3,53	3,48	3,33	2,99	2,93	100000	1000000
S. Constelatus	3,73	0	2,84	3,99	3,96	3,77	2,87	4,14	3,1	2,82	2,97	2,82	100000	1000000
S. Aureus	2,86	3,24	3,51	4,34	3,45	3,8	2,87	4,1	2,8	2,87	2,8	2,83	100000	1000000
P. Putida	0	3	3,78	3,54	3,14	3,23	0	3,5	0	4,21	0	0	100000	1000000
P. nigrescens	0	3,03	3,86	3,25	3,24	3,29	3,03	2,99	3,02	0	0	2,84	100000	1000000
P. Micra	0	3,62	0	3,57	3,68	3,36	3,01	3,15	0	0	0	2,99	100000	1000000
P. melaninogenica	3,2	3,47	3,09	3,79	3,83	3,39	2,97	3,39	3,1	0	0	0	100000	1000000
P. Intermedia	3,48	0	0	3,48	3,57	3,09	3,11	3,01	2,87	0	0	0	100000	1000000
P. Gingivalis	0	2,93	3,17	3,61	3,2	3,19	3,11	2,88	0	0	0	0	100000	1000000
P. Endodontalis	3,21	3,58	0	3,5	3,93	3,29	3,25	0	2,89	2,91	2,81	100000	1000000	
P. anaérobios	2,99	0	3,2	4,27	3,28	3,66	3,15	3,19	0	0	0	0	100000	1000000
P. Aeruginosa	0	0	3,1	3,97	2,97	4,96	3,08	0	2,83	0	0	2,86	100000	1000000
N. Mucosa	3,04	2,8	0	3,57	3,75	0	0	0	2,91	0	0	0	100000	1000000
M. Salivarium	3,04	0	0	3,82	4,82	0	0	0	0	0	3,28	0	100000	1000000
L. casei	3,28	0	0	3,75	3,55	2,88	0	0	0	0	0	3,43	100000	1000000
K. Pneumoniae	3,78	3,17	0	4,08	3,23	0	0	0	4,83	0	0	3,8	100000	1000000
F. Periodonticum	0	0	0	3,84	3,57	0	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
F. Nucleatum	3,3	3,28	0	3,63	3,48	3,78	0	0	0	0	0	0	100000	1000000
E. Faecalis	0	3,26	0	3,67	3,9	3,39	0	3,95	0	0	0	0	100000	1000000
E. Corrodens	3,06	0	0	3,64	3,16	3,17	0	0	0	0	0	3,61	100000	1000000
E. Coli	0	0	0	3,24	3,01	0	2,87	0	0	0	0	0	100000	1000000
C. Rectus	3,49	0	0	3,43	3,4	3,25	0	0	0	0	2,9	0	100000	1000000
C. Gengivalis	0	0	0	3,43	3,65	3,47	3,39	0	0	0	3,17	0	100000	1000000
B. fragilis	0	3,11	0	3,42	3,21	2,82	3,32	2,95	0	0	0	0	100000	1000000
Aa b	3,16	3	2,99	0	3,49	2,97	3,01	3,01	3,02	3,19	2,92	2,92	100000	1000000
Aa a	2,91	0	0	0	2,91	0	0	2,94	2,81	0	2,95	0	100000	1000000

APÊNDICE D

CONTAGEM BACTERIANA (X105) DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DOS IMPLANTES DE CONEXÃO DO TIPO CONE MORSE APÓS INCUBAÇÃO POR 7 DIAS (PASTA ANTIMICROBIANA)

C. Tropicalis	0	0	0,45	0	0,03	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Krusei	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Glabrata	0	0	0	0,49	0	0	0	0,14	0,23	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Dubliniensis	0,19	0,24	0	0	0	0	0,25	0,12	0	0,12	0	0	100000,00	1000000,00
C. Albicans	0,05	0,12	0,18	0,31	0,21	0,24	0,09	0	0,26	0	0	0,48	100000,00	1000000,00
V. Parvula	1,92	2,51	2,56	0	2,67	0	0	0	0	0	0	4	100000,00	1000000,00
T. denticola	0	0,11	0,29	0	0,21	0,26	0,23	0,22	0	0,13	0,43	0	100000,00	1000000,00
T. Forshytia	0,1	0	0,19	0,29	0,29	0,06	0,14	0	0	0,26	0,3	0	100000,00	1000000,00
S. sobrinus	2,86	3,1	2,88	2,4	0	2,97	0	0	2,93	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Saguinis	2,16	1,98	2,8	0	0	3,35	0	2,7	3,98	4,55	0	0	100000,00	1000000,00
S. Salivarius	0	2,12	2,28	0	0	0	0	0	0	0	2,91	0	100000,00	1000000,00
S. Pateuri	0,06	0,1	0,14	0	0,32	0,17	0	0	0	0	0	0,55	100000,00	1000000,00
S. Parasanguinis	0,16	0,16	0,23	0	0	0,13	0,41	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Oralis	0	0,04	0,18	0,05	0,15	0	0	0	0,2	0	0,54	0	100000,00	1000000,00
S. Mutans	0,07	0	0,1	0,08	0,26	0	0,29	0	0	0,23	0	0	100000,00	1000000,00
S. Moorei	0	0,13	0,28	0	0	0	0	0	0	0	0,55	0	100000,00	1000000,00
S. Mitis	0,08	0,33	0,2	0	0	0,22	0,16	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Gordonii	0,04	0	0,2	0	0,16	0	0	0,15	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Constelatus	0,06	0,18	0,06	0	0,06	0	0,42	0,24	0	0	0	1,62	100000,00	1000000,00
S. Aureus	0,12	0,24	0,26	0,05	0,16	0	0	0,09	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. Putida	0	0	0,23	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. nigrescens	0,09	0,13	0,11	0,23	0	0	0,09	0,18	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. Micra	0	0	0,09	0	0	0	0	0	0,29	0	0	0,26	100000,00	1000000,00
P. melaninogenica	0	2,92	0	2,63	0	2,49	0	0	3,01	0	0	3,78	100000,00	1000000,00
P. Intermedia	0	3,09	2,17	2,85	2,27	2,08	2,9	0	3	0	3,04	5,07	100000,00	1000000,00
P. Gingivalis	0	2,23	2,39	0	2,23	2,86	2,86	0	0	0	0	4,46	100000,00	1000000,00
P. Endodontalis	0	0,17	0,09	0,06	0,06	0	0	0,37	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. anaérobios	0	0,15	0	0	0	0,09	0,2	0,22	0,13	0	0,22	0,47	100000,00	1000000,00
P. Aeruginosa	0	0	0	0,1	0	0,13	0,1	0	0	0	0,78	0,25	100000,00	1000000,00
N. Mucosa	0	0	0	0	0,4	0	0,24	0,18	0	0,13	0	0	100000,00	1000000,00
M. Salivarium	0	0	0	3,11	3,17	0	3,38	0	3,62	0	0	0	100000,00	1000000,00
L. casei	0	0	0	0	4,4	0	2,96	3,93	2,65	2,58	2,73	3,25	100000,00	1000000,00
K. Pneumoniae	0	0	0	0	0	3,51	3,46	0	3,71	0	0	4,17	100000,00	1000000,00
F. Periodonticum	0	0	4,03	0	3,22	4,11	3,99	3,09	4,22	0	0	4,03	100000,00	1000000,00
F. Nucleatum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,44	0	100000,00	1000000,00
E. Faecalis	0	3,36	3,99	0	4,5	3,41	0	0	3,94	0	5,12	0	100000,00	1000000,00
E. Corrodens	0	0	0	0	3,98	4,52	0	0	2,83	0	3,95	3,62	100000,00	1000000,00
E. Coli	0	0	0	0	0	3,8	3,59	0	3,69	4,46	2,7	0	100000,00	1000000,00
C. Rectus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,6	100000,00	1000000,00
C. Gengivalis	0	4,39	3,52	3,4	0	0	3,77	3,46	0	3,82	0	3,59	100000,00	1000000,00
B. fragilis	0	0	0	0	0	0	2,34	4,1	3,26	3,36	4,31	3,06	100000,00	1000000,00
Aa b	0	0	0	0	0	0	0	2,76	0	0	3,04	2,77	100000,00	1000000,00
Aa a	0	0	0	0	0	0	0	3,91	0	5,62	5,03	0	100000,00	1000000,00

APÊNDICE E

CONTAGEM BACTERIANA (X105) DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DOS IMPLANTES DE CONEXÃO DO TIPO HEXÁGONO INTERNO APÓS INCUBAÇÃO POR 7 DIAS (PASTA ANTIMICROBIANA)

C. Tropicalis	0	0	6,58	0	6,7	5,37	5,67	6,62	6,89	0	5,57	5,52	100000,00 1000000,00
C. Krusei	4,29	5,99	0	0	0	0	6,81	4,79	4,75	6,03	0	0	100000,00 1000000,00
C. Glabrata	3,01	0	5,39	0	5,58	0	6,09	0	5,33	6,46	4,75	5,41	100000,00 1000000,00
C. Dubliniensis	0	7,48	4,57	0	5,54	4,2	5,22	0	0	5,95	0	5,52	100000,00 1000000,00
C. Albicans	0	0,17	0,26	0,17	0,35	0	0	0,11	0,31	0,14	0	0,28	100000,00 1000000,00
V. Parvula	0,06	0,06	0,18	0,17	0,33	0	0,25	0	0,08	0,3	0	0	100000,00 1000000,00
T. denticola	0	0,15	0,17	0,23	0,33	0	0,1	0	0	0	0,08	0,06	100000,00 1000000,00
T. Forshytia	0	0	0	0,19	0,22	0,15	0,1	0,1	0	0,22	0,21	0,24	100000,00 1000000,00
S. sobrinus	0	0,24	0,25	0,21	0	0	0,13	0	0,31	0	0	0,23	100000,00 1000000,00
S. Saguinis	0	0,11	0,12	0	0,19	0,11	0	0	0,21	0	0	0	100000,00 1000000,00
S. Salivarius	0	0,07	0,23	0,1	0	0	0	0	0,19	0	0	0,3	100000,00 1000000,00
S. Pateuri	0,01	0,01	0	0	0,16	0,06	0,22	0,07	0,29	0,22	0,09	0,15	100000,00 1000000,00
S. Parasanguinis	0	0,14	0,12	0,15	0,12	0,14	0,24	0,21	0,32	0,26	0,24	0	100000,00 1000000,00
S. Oralís	0	0	0,03	0,09	0,29	0,17	0,09	0	0,17	0,25	0,18	0,55	100000,00 1000000,00
S. Mutans	0	0	0,28	0	0,12	0,17	0	0,37	0,34	0,16	0,31	0	100000,00 1000000,00
S. Moorei	0	0,23	0	0	0,26	0,12	0,11	0,2	0	0,15	0,48	0	100000,00 1000000,00
S. Mitis	0	0,26	0	0,22	0,29	0,22	0,11	0,11	0,13	0,38	0,11	0,23	100000,00 1000000,00
S. Gordonii	0,39	0,18	0	0,58	0,28	0,26	0,06	0,26	0	0	0,23	0	100000,00 1000000,00
S. Constelatus	0	0,33	0	0,13	0,88	0,25	1	0,07	0,27	0	0,27	0	100000,00 1000000,00
S. Aureus	0	3,87	4,82	7,53	4,49	4,39	0	5,26	0	3,92	4,23	6,64	100000,00 1000000,00
P. Putida	0	0	0	0,12	0,24	2,07	4,52	0	0,08	0,14	0,36	0	100000,00 1000000,00
P. nigrescens	0	0,08	0,15	0,13	0,13	0,12	0	0	0	0	0,09	0	100000,00 1000000,00
P. Micra	0	0,19	0,17	0,1	0,16	0,12	0,03	0	0	0,16	0	0,36	100000,00 1000000,00
P. melaninogenica	0,02	0	0,05	0,14	0,34	0	0,01	0	0,19	0	0	0	100000,00 1000000,00
P. Intermedia	0	0	0,15	0,22	0,25	0	0	0,11	0,19	0,25	0	0,29	100000,00 1000000,00
P. Gingivalis	0	0,23	0,16	0,24	0	0,13	0,23	0	0,39	0,28	0	0	100000,00 1000000,00
P. Endodontalis	0,09	0,04	0,27	0,26	0,12	0	0,14	0,2	0,14	0	0,04	0,09	100000,00 1000000,00
P. anaérobios	0	0	0,18	0,12	0,1	0,08	0	0,03	0	0	0,04	0	100000,00 1000000,00
P. Aeruginosa	0	0	0,24	0,09	0,19	0,09	0	0	0,17	0	0,19	0,1	100000,00 1000000,00
N. Mucosa	0	0	0	0	0,17	0,09	0,03	0	0,29	0	0	0	100000,00 1000000,00
M. Salivarium	0	0,24	0,13	0	0,11	0,03	0,01	0	0,2	0	0	0,09	100000,00 1000000,00
L. casei	0	0,03	0,11	0,09	0,31	0,08	0,32	0	0,14	0,14	0	0	100000,00 1000000,00
K. Pneumoniae	0,05	0,12	0	0,15	0,23	0,07	0	0	0,18	0,13	0	0	100000,00 1000000,00
F. Periodonticum	0	0,15	0,28	0	0,14	0,05	0	0	0,2	0	0,04	0	100000,00 1000000,00
F. Nucleatum	0	0,15	0,42	0,14	0	0,03	0,08	0	0,08	0	0	0,27	100000,00 1000000,00
E. Faecalis	0	0	0	0,09	0,3	0	0	0	0,26	0	0	0,11	100000,00 1000000,00
E. Corrodens	0	0,15	0,35	0,14	0,36	0	0,21	0	0	0,2	0,22	0	100000,00 1000000,00
E. Coli	0	0	0,38	0,15	0,39	0,15	0,07	0	0,16	0,15	0,13	0,11	100000,00 1000000,00
C. Rectus	0	0	0,27	0	0	0	0	0	0,15	0	0	0	100000,00 1000000,00
C. Gengivalis	0	0	0,31	0	0,17	0	0,17	0,13	0	0,13	0,05	0	100000,00 1000000,00
B. fragilis	0	0	0,29	0,19	0	0	0,26	0	0	0,08	0	0	100000,00 1000000,00
Aa b	0	0	0,4	0	0,22	0	0,34	0	0	0	0	0	100000,00 1000000,00
Aa a	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0,19	0	0	100000,00 1000000,00

APÊNDICE F

CONTAGEM BACTERIANA (X105) DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DOS IMPLANTES DE CONEXÃO DO TIPO CONE MORSE APÓS INCUBAÇÃO POR 7 DIAS (FRATA COLOIDAL)

C. Tropicalis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Krusei	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Glabrata	0	0	0	0	3,25	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Dubliniensis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Albicans	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
V. Parvula	0	0	0	0	3,43	2,81	2,77	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
T. denticola	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
T. Forshytia	0	0	0	0	0	3,02	2,43	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. sobrinus	0	0	0	0	2,02	2	3,15	2,85	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Saguinis	0	0	0	0	0	2,42	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Salivarius	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,41	0	100000,00	1000000,00
S. Pateuri	0	2,95	2,48	0	3,07	2,43	4,14	3,91	0	3,13	2,47	0	100000,00	1000000,00
S. Parasanguinis	0	2,4	2,15	3,21	2,35	0	0	3,09	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Oralis	0	1,79	2,34	2,31	2,06	2,7	0	2,9	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Mutans	0	2,07	2,19	1,98	0	2,66	0	3,23	0	2,82	2,7	0	100000,00	1000000,00
S. Moorei	0	2,61	1,56	2,36	0	0	0	2,74	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Mitis	0	3,18	2,27	2,07	0	2,35	3,19	3,23	0	2,79	2,11	0	100000,00	1000000,00
S. Gordonii	0	2,58	2,42	2,58	0	2,36	0	3,06	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
S. Constelatus	1,9	1,61	2,34	1,71	0	2,08	0	2,92	0	3,43	3,15	0	100000,00	1000000,00
S. Aureus	2,83	2,31	2,28	1,65	1,23	0	0	2,91	0	3,39	3,24	0	100000,00	1000000,00
P. Putida	2,63	1,96	1,93	0	1,87	2,82	0	3,13	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. nigrescens	0	2,36	1,75	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. Micra	0	2,31	2,33	1,07	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. melaninogenica	3,01	3,39	0	3,33	2,11	0	3,46	3,7	2,63	4,59	3,68	2,92	100000,00	1000000,00
P. Intermedia	0	0	2,64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. Gingivalis	0	0	2,72	2,15	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. Endodontalis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. anaérobios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
P. Aeruginosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
N. Mucosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
M. Salivarium	0	0	3,28	0	4,39	3,51	3,55	4,11	3,88	3,78	3,75	0	100000,00	1000000,00
L. casei	0	0	2,34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
K. Pneumoniae	0	0	2,9	0	0	0	2,76	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
F. Periodonticum	0	0	2,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
F. Nucleatum	0	0	1,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
E. Faecalis	0	0	2,95	0	0	0	0	0	0	3,12	0	0	100000,00	1000000,00
E. Corrodens	0	0	2,97	0	0	0	0	0	0	3,21	0	0	100000,00	1000000,00
E. Coli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,44	0	0	100000,00	1000000,00
C. Rectus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
C. Gengivalis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
B. fragilis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
Aa b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00
Aa a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100000,00	1000000,00

APÊNDICE G

CONTAGEM BACTERIANA (X105) DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DOS IMPLANTES DE CONEXÃO DO TIPO HEXÁGONO INTERNO APÓS INCUBAÇÃO POR 7 DIAS (PRATA COLOIDAL)

C. Tropicalis	0,2	0	0	0	0	0	0,11	0	0	0,2	0	0,18	100000,00	1000000,00
C. Krusei	0	0	0	0	0	0	0,12	0	0	0,14	0	0	100000,00	1000000,00
C. Glabrata	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	100000,00	1000000,00
C. Dubliniensis	0	0	0	0	0	0	0	0	0,65	0,1	0	0,29	100000,00	1000000,00
C. Albicans	0	0	0	0	0	0,17	0	0,36	0	0	0,39	0,38	100000,00	1000000,00
V. Parvula	0	0	0	0	0	0,31	0	0,43	0	0,78	0,45	0,72	100000,00	1000000,00
T. denticola	0	0	0	0	0	0,29	0	0	0,26	0,34	0,47	0	100000,00	1000000,00
T. Forshytia	0	0	0	0	0	0,08	0	0	0,24	0,35	1,27	0	100000,00	1000000,00
S. sobrinus	0	0	0	0	0	0,21	0	0,35	0	0,58	0	0,73	100000,00	1000000,00
S. Saguinis	0	0	0	0	0	0	0	0	0,43	0,38	0,24	0	100000,00	1000000,00
S. Salivarius	0	0	0	0	0,27	0,2	0	0	0,45	0	0	0,66	100000,00	1000000,00
S. Pateuri	0	0,08	0	0	0,29	0,26	0,19	0	0	0,95	0	0	100000,00	1000000,00
S. Parasanguinis	0	0	0	0	0,31	0	0,61	0,37	0,73	0,62	0	0	100000,00	1000000,00
S. Oralis	0	0	0	0	0	0,34	0,38	0,54	0,28	0,2	0,27	0	100000,00	1000000,00
S. Mutans	0	0	0	0	0	0,25	0,29	0,36	0,46	0,38	0,39	0	100000,00	1000000,00
S. Moorei	0	0	0	0	0,56	0,15	0,17	0,35	0,23	0,27	0,32	0	100000,00	1000000,00
S. Mitis	0	0	0	0	0,47	0,46	0,44	0,54	0,17	0,11	0,19	0,31	100000,00	1000000,00
S. Gordonii	0	0	0	0	0,3	0,48	0,45	0,48	0	0,48	0,6	0,95	100000,00	1000000,00
S. Constelatus	0	0	0	0	0,5	0,61	0,31	0,47	0	0,39	0,59	0	100000,00	1000000,00
S. Aureus	0	0	0	0,26	0,63	0,42	0,32	0,35	0,32	0,37	0,73	1,02	100000,00	1000000,00
P. Putida	0	0	0	0	0,41	0,45	0,3	0,33	0	0,4	0,94	0,51	100000,00	1000000,00
P. nigrescens	0	0	0	0	1,76	0,77	0	0,41	0	0	0,62	0	100000,00	1000000,00
P. Micra	1,06	0	0	1,57	1,09	0,71	0,97	0,95	0	0	0	0,86	100000,00	1000000,00
P. melaninogenica	0	0	0	0	1,28	0,89	0,64	0	0	0,42	0,84	1,13	100000,00	1000000,00
P. Intermedia	0,22	0	0	0	1,38	0,81	0,66	0,26	0,39	0,42	0,64	0,78	100000,00	1000000,00
P. Gingivalis	0	0	0	0	0,71	0,92	0,5	0,86	0	0,51	1,07	0,47	100000,00	1000000,00
P. Endodontalis	0	0	0,39	0,51	0,47	0,69	0,64	0,65	0	0,51	0,66	0,42	100000,00	1000000,00
P. anaérobios	0	0	0	0	0	0,05	0,48	0	0	0,77	0,5	0,52	100000,00	1000000,00
P. Aeruginosa	0	0	0	0,08	0,19	0	0	0,52	1,17	0,4	0	0	100000,00	1000000,00
N. Mucosa	0	0	0	0	0	0,45	0,39	0,71	0,39	0,35	0,26	0	100000,00	1000000,00
M. Salivarium	0	0	0	0,27	0	0,65	0,73	0,48	0,42	0	0	0	100000,00	1000000,00
L. casei	0	0	0	0,19	0,69	0,55	0,63	0,86	0,45	0	0	0	100000,00	1000000,00
K. Pneumoniae	0	0	0	0,14	0,41	0	0,6	0,62	0,55	0	0	0	100000,00	1000000,00
F. Periodonticum	0	0	0	0,45	0,43	0,45	0,42	0,41	0,32	0	0	0	100000,00	1000000,00
F. Nucleatum	0	0	0	0,43	0,65	0,97	0,61	0,96	0,71	0,85	0	0,35	100000,00	1000000,00
E. Faecalis	0	0	0	0,68	0,61	0,58	1,78	1,3	0	0,82	0	0,51	100000,00	1000000,00
E. Corrodens	0	0	0	0	0,46	0,4	0	1,14	0,53	0	1,27	0,56	100000,00	1000000,00
E. Coli	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0,32	0	0	100000,00	1000000,00
C. Rectus	0	0	0	0	0,48	0,450	0	0	0	0,42	0	0	100000,00	1000000,00
C. Gengivalis	0	0	0	0	0,64	0,88	0,65	0	0	0,75	0,48	0,38	100000,00	1000000,00
B. fragilis	0	0	0	0,79	0,46	0	0,45	0,56	0,46	0,33	0,43	0,63	100000,00	1000000,00
Aa b	0	0	0	0,42	0,63	0,69	0,79	1,17	0,98	0,56	0,63	0,65	100000,00	1000000,00
Aa a	0	0	0	0	1,79	0	0	1,02	0,59	0,89	0,57	0,56	100000,00	1000000,00

APÊNDICE H

Tabela 1 - Proporção de contaminação, contagem bacteriana (x 105) e desvios padrão (DP) das 43 espécies bacterianas colhidas dos implantes e pilares dos grupos Controle, Pasta antimicrobiana e Ions de prata após 7 dias Incubação. Análise pelo DNA Checkerboard.

Espécies	Controle						Pasta Antimicrobiana						Ions de Prata					
	Cone Morse			Hexágono Interno			Cone Morse			Hexágono Interno			Cone Morse			Hexágono Interno		
	Proporção amostras com contaminação	Contagem Bacteriana	(DP)	Proporção amostras com contaminação	Contagem Bacteriana	(DP)	Proporção amostras com contaminação	Contagem Bacteriana	(DP)	Proporção amostras com contaminação	Contagem Bacteriana	(DP)	Proporção amostras com contaminação	Contagem Bacteriana	(DP)	Proporção amostras com contaminação	Contagem Bacteriana	(DP)
C. Tropical	01\12	0,49	1,71	03\12	0,73	1,32	02\12	0,04	0,13	08\12	4,08	3,05	0	0	0	04\12	0,06	0,09
C. Krusei	0	0	0	02\12	0,52	1,22	0	0	0	06\12	2,72	2,92	0	0	0	02\12	0,02	0,05
C. Glabrata	0	0	0	03\12	0,78	1,42	03\12	0,07	0,15	08\12	3,5	2,72	01\12	0,27	0,94	02\12	0,03	0,09
C. Dublinie	09\12	0,06	0,08	07\12	1,75	1,55	05\12	0,08	0,1	07\12	3,21	2,94	0	0	0	03\12	0,09	0,2
C. Albicans	8\12	0,07	0,08	07\12	1,91	1,72	09\12	0,16	0,15	08\12	0,15	0,13	0	0	0	04\12	0,11	0,17
V. Parvula	9\12	0,07	0,08	04\12	1,03	1,53	05\12	1,14	1,5	08\12	0,12	0,12	03\12	0,75	1,37	05\12	0,22	0,3
T. denticol	12\12	0,05	0,05	08\12	2,12	1,59	08\12	0,16	0,14	07\12	0,09	0,11	0	0	0	04\12	0,11	0,17
T. Forshyti	10\12	0,09	0,11	07\12	1,87	1,67	08\12	0,13	0,12	08\12	0,12	0,1	02\12	0,45	1,07	04\12	0,16	0,37
S. sobrinus	12\12	0,01	0,04	08\12	2,1	1,59	06\12	1,43	1,5	06\12	0,11	0,12	04\12	0,83	1,27	04\12	0,15	0,26
S. Saginis	12\12	1,83	0,53	08\12	2,16	1,65	07\12	1,79	1,73	05\12	0,06	0,08	01\12	0,2	0,7	03\12	0,09	0,16
S. Salivari	10\12	3,14	1,53	08\12	2,18	1,64	03\12	0,61	1,12	05\12	0,07	0,11	01\12	0,28	0,98	04\12	0,13	0,22
S. Pasteuri	11\12	0,16	0,05	09\12	2,53	1,59	06\12	0,11	0,17	10\12	0,11	0,1	08\12	2,05	1,6	05\12	0,15	0,27
S. Parasanj	9\12	0,07	0,08	11\12	3,02	1,05	05\12	0,09	0,13	10\12	0,16	0,09	05\12	1,1	1,39	05\12	0,22	0,29
S. Oralis	7\12	0,04	0,02	10\12	2,86	1,48	06\12	0,1	0,16	09\12	0,15	0,16	06\12	1,17	1,26	06\12	0,17	0,19
S. Mutans	8\12	0,1	0,13	10\12	2,7	1,35	06\12	0,08	0,11	07\12	0,14	0,15	07\12	1,47	1,34	06\12	0,18	0,19
S. Moorei	3\12	0,03	0,02	11\12	3,02	1,03	03\12	0,08	0,17	06\12	0,13	0,15	04\12	0,77	1,17	07\12	0,17	0,18
S. Mitis	3\12	0,02	0	08\12	2,2	1,65	05\12	0,08	0,11	10\12	0,17	0,11	08\12	1,76	1,36	08\12	0,22	0,21
S. Gordonii	10\12	0,1	0,02	12\12	3,36	0,32	04\12	0,04	0,08	08\12	0,19	0,18	05\12	1,08	1,35	07\12	0,31	0,31
S. Constela	3\12	0,03	0,02	11\12	3,08	1,1	07\12	0,22	0,46	08\12	0,27	0,34	08\12	1,59	1,3	06\12	0,24	0,26
S. Aureus	8\12	4,21	3,29	12\12	3,29	0,55	06\12	0,08	0,1	09\12	3,76	2,51	08\12	1,65	1,36	09\12	0,37	0,31
P. Putida	8\12	0,09	0,13	07\12	2,03	1,82	02\12	0,03	0,07	07\12	0,63	1,36	06\12	1,19	1,3	07\12	0,28	0,29
P. nigresce	5\12	0,04	0,05	09\12	2,38	1,46	06\12	0,07	0,08	06\12	0,06	0,06	04\12	0,45	0,85	04\12	0,3	0,54
P. Micra	7\12	0,05	0,07	07\12	1,95	1,73	03\12	0,05	0,11	08\12	0,11	0,11	04\12	0,47	0,91	07\12	0,6	0,57
P. melanin	8\12	0,05	0,06	09\12	2,52	1,54	05\12	1,23	1,56	06\12	0,06	0,11	10\12	2,73	1,42	06\12	0,43	0,5
P. Interme	6\12	0,06	0,1	07\12	1,88	1,68	09\12	2,2	1,53	07\12	0,12	0,11	01\12	0,22	0,76	09\12	0,46	0,41
P. Gingival	2\12	0,06	0,22	06\12	1,84	1,63	06\12	1,42	1,59	07\12	0,14	0,14	02\12	0,4	0,95	07\12	0,42	0,41
P. Endodor	4\12	0,01	0,02	09\12	2,45	1,51	05\12	0,06	0,11	10\12	0,11	0,09	0	0	0	09\12	0,41	0,27
P. anaérob	0	0	0	07\12	1,98	1,77	07\12	0,12	0,14	06\12	0,04	0,06	0	0	0	05\12	0,19	0,28
P. Aerugin	4\12	0,03	0,07	07\12	1,98	1,84	05\12	0,11	0,22	07\12	0,09	0,09	0	0	0	05\12	0,2	0,35
N. Mucosa	4\12	0,02	0,04	05\12	1,34	1,67	04\12	0,08	0,13	04\12	0,05	0,09	0	0	0	06\12	0,21	0,24
M. Salivari	7\12	0,02	0,05	04\12	1,25	1,89	04\12	1,11	1,64	07\12	0,07	0,08	08\12	2,52	1,88	05\12	0,21	0,28
L. casei	5\12	0,03	0,06	05\12	1,41	1,75	07\12	1,87	1,73	08\12	0,1	0,11	01\12	0,19	0,67	06\12	0,28	0,33
K. Pneumo	0	0	0	06\12	1,91	2,03	04\12	1,24	1,84	07\12	0,08	0,08	02\12	0,47	1,1	05\12	0,19	0,27
F. Periodo	7\12	0,03	0,06	02\12	0,62	1,44	07\12	2,22	1,99	06\12	0,07	0,1	01\12	0,22	0,76	06\12	0,21	0,22
F. Nucleatu	3\12	0,02	0,04	05\12	1,45	1,8	01\12	0,2	0,7	07\12	0,1	0,13	01\12	0,16	0,55	08\12	0,46	0,39
E. Faecalis	5\12	0,01	0,01	05\12	1,51	1,88	06\12	2,03	2,16	04\12	0,06	0,11	02\12	0,5	1,18	07\12	0,5	0,58
E. Corrode	9\12	0,03	0,05	05\12	1,39	1,72	05\12	1,57	1,98	07\12	0,13	0,14	02\12	0,51	1,2	06\12	0,36	0,46
E. Coli	6\12	0,03	0,06	03\12	0,76	1,38	05\12	1,52	1,92	09\12	0,14	0,13	01\12	0,29	0,99	02\12	0,06	0,16
C. Rectus	3\12	0,01	0,02	05\12	1,37	1,7	01\12	0,47	1,62	02\12	0,03	0,08	0	0	0	03\12	0,11	0,2
C. Gengiva	10\12	0,04	0,06	05\12	1,42	1,76	07\12	2,16	1,92	06\12	0,08	0,1	0	0	0	06\12	0,31	0,35
B. fragilis	10\12	0,05	0,05	06\12	1,57	1,65	06\12	1,7	1,84	04\12	0,07	0,11	0	0	0	08\12	0,34	0,28
Aa b	6\12	0,07	0,08	11\12	2,81	0,9	03\12	0,71	1,29	03\12	0,08	0,15	0	0	0	09\12	0,54	0,38
Aa a	11\12	0,29	0,21	07\12	1,21	1,5	03\12	1,21	2,23	02\12	0,02	0,06	0	0	0	06\12	0,45	0,57

* Diferença Significante (P < 0.01; Teste de Friedman)

** Diferença Significante (P < 0.05; Teste de Friedman)