



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**



DANIEL ZULUAGA GOYENECHÉ

**AVALIAÇÃO DA PERDA DE TORQUE E DA CONTAGEM DE
MICROORGANISMOS EM DIFERENTES CONEXÕES IMPLANTE/PILAR
PROTÉTICO APÓS CICLAGEM TERMOMECÂNICA**

RIBEIRÃO PRETO

2022

DANIEL ZULUAGA GOYENECHÉ

**AVALIAÇÃO DA PERDA DE TORQUE E DA CONTAGEM DE
MICRORGANISMOS EM DIFERENTES CONEXÕES IMPLANTE/PILAR
PROTÉTICO APÓS CICLAGEM TERMOMECÂNICA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências - Programa: Odontologia (Reabilitação Oral).

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Orientadora: Profa. Dra. Renata Cristina Silveira Rodrigues

VERSÃO CORRIGIDA

RIBEIRÃO PRETO

2022

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus USP – Ribeirão Preto

Goyeneche, Daniel Zuluaga

Avaliação da perda de torque e contagem de microrganismos em diferentes conexões implante/pilar protético após ciclagem termomecânica. Ribeirão Preto, 2022.

130p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Orientadora: Rodrigues RCS

Versão Corrigida

1. Implantes Dentários. 2. Interface implante/pilar. 3. Contagem microbiana. 4. Perda de torque.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Goyeneche DZ. **Avaliação da perda de torque e contagem de microrganismos em diferentes conexões implante/pilar protético após ciclagem termomecânica.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências - Programa: Odontologia (Reabilitação Oral).

Área de concentração: Reabilitação Oral

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Presidente:

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Dedico a minha **Família** que me ensinou a tornar meus sonhos em objetivos.*

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pela graça maravilhosa de viver e pelas oportunidades ao longo da minha jornada.

Aos meus pais, **Claudia** e **Jaime**, por estarem sempre presentes mesmo tão longe. Obrigado por me orientarem, guiarem e incentivarem em todo momento. Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.

Ao meu irmão, **David**, que sempre foi o meu melhor amigo e cúmplice em todos os momentos da minha vida. Agradeço por sempre estar presente e me estimular a ser uma pessoa melhor.

A toda minha **família** pelo apoio que ofereceram durante esses anos intensos, por se importarem tanto com o meu bem estar, por acreditarem sempre no meu potencial e me motivarem.

A minha namorada, **Brenda Gonçalves de Carvalho** por ser meu maior apoio e minha melhor companheira nessa jornada no Brasil. Obrigado por ser minha parceira de vida e por dividir comigo os momentos felizes e difíceis.

Ao meu querido amigo e companheiro de treino, **Edson Ribas**, por ter me adotado na sua família e se tornar uma figura paterna na minha jornada em Ribeirão Preto.

A minha amiga e vizinha **Keila Conduta** por ser tão generosa e hospitaleira. Espero poder retribuir tudo o que você fez por mim.

A minha amiga e colega **Adrielle Fracaroli** por confiar em mim e se tornar minha melhor dupla. Você é responsável por grande parte da minha evolução profissional nesses anos no Brasil.

Ao meu amigo **Victor Barbosa da Mata** por ter dividido apartamento comigo em Ribeirão Preto. Saiba que, ao longo desses anos, você se tornou um irmão. Cada conversa, desabafo e risada tiveram grande importância na minha vida.

Aos meus amigos **Murilo Campos, Livia Fiorin, Andrezza Moura e Thais Vinha** que dividiram essa jornada, tornando-a mais leve. Agradeço a todos os demais alunos da pós-graduação e da graduação, que de alguma forma, cruzaram o meu caminho nesses anos e compartilharam histórias e experiências.

Aos funcionários **Fernanda Talita de Freitas, Wagner Del Gatto e Mauro Bernardo**, por estarem sempre dispostos a me ajudar e orientar em todos os processos administrativos.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo** que me permitiu crescer como pessoa e profissional. Também, estendo o agradecimento a todos os funcionários que contribuem para o funcionamento adequado dessa faculdade e a todos os pacientes que cruzaram o meu caminho.

Aos **professores** do Departamento de Materiais Dentários e Prótese por me mostrarem outra perspectiva dessa linda profissão. Em especial, agradeço à professora **Cláudia Helena Lovato da Silva** pela supervisão em diversos atendimentos a pacientes. Ao professor **Vinícius Pedrazzi** por ter dedicado o tempo para me co-orientar e ler meus relatórios, contribuindo para esse projeto. Ao professor **Cássio do Nascimento** por ter me auxiliado em várias etapas do experimento e com as análises estatísticas do estudo.

À técnica do Laboratório de Estudos Biomecânicos em Prótese e Implantes, **Dra. Adriana Cláudia Lapria Faria de Queiroz**, que sempre esteve disponível para me ensinar a utilizar a máquina de fadiga, a me auxiliar nas etapas do experimento e com as estatísticas do estudo. Obrigado pela paciência e por estar aberta a esclarecer minhas dúvidas.

À técnica **Dra. Viviane de Cássia Oliveira** pela disposição em ajudar com a pesquisa, em especial na etapa de processamento das amostras pela técnica de hibridização de sondas DNA genômico, realizada no Laboratório de Diagnóstico Odontológico Molecular do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP.

Aos demais **técnicos** do Departamento de Materiais Dentários e Prótese que direta ou indiretamente contribuíram para realizar essa pesquisa, mas acima de tudo que trabalham incansavelmente diariamente para que a pesquisa brasileira continue com tanta qualidade.

A minha orientadora, a professora **Renata Cristina Silveira Rodrigues**, primeiramente, por ser um exemplo de profissional dedicada. Agradeço pela disposição ao longo desses anos, pelos ensinamentos profissionais e pessoais e pela paciência em me guiar na execução dessa pesquisa.

Aos **professores** da banca examinadora por dedicarem o tempo em ler e corrigir o presente trabalho.

À **Derig** - pela doação dos implantes e componentes utilizados na presente pesquisa

À **FAPESP (n. 2019/25405-0)**, pelo apoio financeiro aos projetos do Laboratório de Estudos Biomecânicos em Prótese e Implantes no qual se insere o presente estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil **CAPES (n.88882.378869/2019-01)**, pelo apoio financeiro.

E, claro, ao **Brasil** e ao **povo brasileiro**, por terem me proporcionado educação de excelência, por terem me acolhido tão bem nessa jornada e por me permitirem conhecer a sua bela cultura.

“O conhecimento só ganha valor quando é compartilhado”

Marcos Lenine

RESUMO

RESUMO

Goyeneche DZ. **Avaliação da perda de torque e contagem de microrganismos em diferentes conexões implante/pilar protético após ciclagem termomecânica.** [Dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2022.

O uso dos implantes para reabilitação de pacientes total ou parcialmente desdentados tem sido cada vez maior e com grande índice de sucesso. Entretanto, vários estudos apontam que existe microinfiltração bacteriana bidirecional através da interface implante/pilar, que pode comprometer o sucesso dos implantes em longo prazo. O objetivo do presente estudo foi avaliar a perda de torque e a contagem de microrganismos da saliva humana que passaram para o interior dos implantes através da interface implante/pilar protético após ciclagem termomecânica. Para a realização deste estudo foram utilizados implantes de três plataformas protéticas diferentes: hexágono externo (HE), conexão interna cônica (CM) e conexão com triplo canal interno (TRI), associados a diferentes pilares: do tipo estético (PE), de preparo (PP) e UCLAs (UCLA). Os conjuntos implante/pilar foram torqueados de acordo com as recomendações do fabricante e os respectivos torques foram mensurados com torquímetro digital. Os pilares receberam coroas com formato de canino desenhadas digitalmente e impressas em resina com impressora 3D. Cada coroa foi estabilizada com poliéter sobre o respectivo pilar. Posteriormente, os corpos de prova foram imersos em saliva humana e submetidos à ciclagem termomecânica. Os corpos de prova receberam a aplicação de carga sobre a incisal da coroa, de modo que a força fosse dissipada ao longo do eixo do implante e, durante o ensaio, os corpos de prova foram ciclados termicamente com temperaturas de 5° e 55°C. Foram realizados 2×10^6 ciclos, em frequência de 5Hz e carga de 120N. Simultaneamente, a mesa, onde estavam fixadas as bases, realizava movimentos horizontais de 2mm, 1mm para o lado direito e 1mm para o lado esquerdo, simulando os movimentos mandibulares excursivos. Terminada a etapa de ciclagem, os conjuntos foram removidos da máquina de ensaios, desinfetados externamente, e a perda de torque foi medida com torquímetro digital. Logo em seguida, o conteúdo do interior dos implantes e o material presente nas roscas dos parafusos de fixação dos seus respectivos pilares protéticos foram coletados e processados pela técnica Checkerboard DNA-DNA. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística. Todos os grupos apresentaram perda de torque depois da ciclagem termomecânica (CM-PE: 25,088%, CM-UCLA: 37,932, HE-UCLA: 22,757, HE-PP: 22,480%, TRI-UCLA: 32,7940% e TRI-PP: 26,327), mas não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Os seis grupos apresentaram contagem de microrganismos, com os valores mais altos da mediana registrados para os grupos CM-PE (157781) e os valores mais baixos registrados para as amostras TRI-UCLA (62982). Ao comparar o tipo de conexão, a menor contagem de microrganismos ocorreu nos implantes Trichannel. Diante disso, constata-se que, de fato, a perda de torque é um fenômeno ao considerar implantes com duas peças. Além disso, microrganismos oriundos da saliva humana penetram na interface implante/pilar após ciclagem e o tipo de conexão protética influencia significativamente a contagem de microrganismos no interior dos implantes.

Palavras-chaves: implantes dentários, interface implante/pilar, contaminação bacteriana, perda de torque

ABSTRACT

ABSTRACT

Goyeneche DZ. **Evaluation of torque loss and microorganism count of different implant/abutments connections after thermo-mechanical loading.** [Master's Dissertation]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2022.

The use of dental implants to treat patients with total or partial edentulism is constantly increasing and has a high rate of success. Nevertheless, the scientific literature points out that two-pieces implants present microorganisms infiltration in the implant/abutment interface, which can produce the late loss of dental implants. The aim of this study was to evaluate the torque loss and the counting of microorganisms of human saliva in the interior of two pieces dental implants after thermo-mechanical loading. Three implant connections were evaluated: Morse cone (MC), External Hexagon (EH) and TriChannel (TRI), associated with different abutments: Esthetic Abutment (EA), Preparation Abutment (PA) and UCLAs. The assemblies were torqued following the manufacturer's instruction, which was verified with a digital torque-meter. Digitally designed canine crowns were 3D printed with temporary resin and stabilized with polyether on the abutments. After that, the assemblies were submerged in human saliva and positioned on a thermo-mechanical loading equipment. The assemblies were subjected to thermo-mechanical loading and received 2×10^6 cycles of 120N loads on the incisal of the crown, perpendicular to the long axis of the implant with 5 Hz frequency, meanwhile thermal cycles of 5°C and 55°C were also performed. Simultaneously, the surface of the assemblies were fixed, sliding 2mm horizontally, 1mm to the right and 1mm to the left, replicating the excursive mandibular movements. After cyclic loading, the assemblies were removed, disinfected externally, and the postload removal torque was measured with a digital torque-meter. The content of the internal parts of the implants was collected and processed with the Checkerboard DNA-DNA hybridization. The data obtained was submitted to statistical analysis. All the groups showed torque loss after thermo-mechanical loading (CM-PE: 25,088%, CM-UCLA: 37,932, HE-UCLA: 22,757, HE-PP: 22,480%, TRI-UCLA: 32,7940% e TRI-PP: 26,327), but there was no significant statistical difference between the groups. Moreover, the six groups presented microorganism leakage, with the high median count of microorganisms registered to the group CM-PE (157781), meanwhile the TRI-UCLA connection presented the lowest count (62982). When comparing only the type of connection, the lowest microorganism count occurred on the Tri-channel implants. The torque loss is a common situation on the two pieces implants. In addition, bacterial species from human saliva may penetrate along the implant-abutment interface under loaded conditions and the type of connections significantly affect the microorganism count.

Key words: Dental implants, implant/abutment interface, bacterial leakage, torque loss

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Grupos:** **A:** Implante cone morse e pilar estético; **B:** Implante cone morse e pilar UCLA; **C:** Implante hexágono externo e UCLA; **D:** Implante hexágono externo e pilar de preparo; **E:** Implante Trichanel e pilar UCLA; **F:** Implante Trichanel e pilar de preparo..... 69
- Figura 2 - Coleta das amostras do controle negativo do implante com auxílio de aplicador descartável.** **A:** Cabine de fluxo laminar; **B:** esterilização do material em autoclave; **C:** abertura da embalagem do implante; **D:** aplicador descartável estéril; **E:** Coleta do interior do implante..... 71
- Figura 3 - Posicionamento dos conjuntos implante-pilar.** **A:** Embalagens do Polyol e o Osisonate; **B:** Medições do polyol e do ososyonate com balança de precisão; **C:** Fixação do pilar no mandril da haste vertical do delineador e posicionamento da matriz de silicone no centro da base do delineador; **D:** Posicionamento do conjunto implante-pilar no interior da mescla de poliuretano deixando o implante totalmente coberto; **E:** Remoção do cilindro de poliuretano da matriz de silicone..... 72
- Figura 4 - Coleta das amostras de saliva.** **A:** Tubo individual de amostra de saliva **B:** Estufa bacteriológica **C:** Tubo único com amostras de saliva homogeneizada..... 73
- Figura 5 - Confeção das coroas** **A:** Desenho digital da coroa no software Meshmixer; **B:** Projeto de perfil; **C:** Impressora 3D **D:** Coroa impressa..... 74
- Figura 6 - Posicionamento das coroas nos pilares.** **A:** Torque aplicado a cada pilar segundo as recomendações do fabricante; **B:** Delineador com disco no extremo inferior da haste vertical fazendo pressão na incisal da coroa; **C:** Delineador com dispositivo com 439 g no extremo superior da haste vertical..... 75
- Figura 7 -** Corpo de prova fixado na base metálica..... 76
- Figura 8 - Ensaio de ciclagem termomecânica.** A) Ponta aplicadora de carga; B) Corpos de prova posicionados para o ensaio..... 77
- Figura 9 - Medição da perda de torque e coleta do material para análise da contaminação.** **A:** Registro do destorque com torquímetro digital; **B:** Coleta do material do interior do implante..... 78
- Figura 10 - Processamento das amostras.** **A:** Desnaturação do DNA das amostras de biofilme; **B:** Neutralização das amostras com adição 800 µL de acetato de amônio..... 80
- Figura 11- A:** Deposição das amostras de DNA e padrões de comparação 10⁵ e 10⁶ em canaletas individuais; **B:** Remoção da solução do *Minislot* 30 com uma bomba a vácuo..... 81

Figura 12 -	A: Reagentes para o preparo da solução de pré-hibridização (NaCl 1 M, <i>Blocking reagent</i> e 30 mL de <i>Hybridization Buffer</i>); B: Mistura dos reagentes para preparar a solução de pré-hibridização C: Solução de pré-hibridização homogênea; D: Membrana embalada em um invólucro de plástico; E: Aplicação da solução preparada sobre a membrana F: Espalhamento da solução na membrana G: Espalhamento da solução na membrana; H: Fechamento das membranas no recipiente de plástico I: Pré-hibridização no forno específico.....	82
Figura 13 -	A: Sondas genômicas marcadas; B: A: <i>Miniblotter</i> 45 para aplicação das sondas genômicas marcadas; C: Sondas aplicadas individualmente nas canaletas do dispositivo; D: Embalagem do dispositivo e posicionamento para a reação de hibridização em forno.....	83
Figura 14 -	Cassete de autorradiografia com membrana posicionada.....	84
Figura 15 -	A: filmes autorradiográficos com os sinais de hibridização; B: Membrana vista no <i>software</i> CLIQS 1D® e comparação de todos os sinais delimitados com os padrões contendo 10^5 e 10^6 células de cada espécie-alvo.....	85

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Divisão dos implantes e pilares.....	70
Tabela 2-	Crítérios de inclusão e exclusão para a obtenção das amostras de saliva.....	73
Tabela 3-	Estatística descritiva da perda de torque para os diferentes grupos (%).....	89
Tabela 4-	ANOVA da perda de torque.....	89
Tabela 5-	Estatística descritiva da contagem de microrganismos na interface implante/pilar para os diferentes grupos.....	90
Tabela 6-	Análise estatística do tipo Wald (WTS) e do tipo ANOVA (ATS) avaliando os diferentes grupos.	91
Tabela 7-	Análise estatística do tipo Wald (WTS) e do tipo ANOVA (ATS) avaliando os grupos CM-UCLA, HE-UCLA e TRI-UCLA	92
Quadro 1 -	Espécies-alvo da detecção pela técnica de hibridização com sondas de DNA genômico.....	79

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE SIGLAS

3D	Três dimensões
ADA	Associação Dental Americana (<i>American Dental Association</i>)
ATS	Estatística do tipo ANOVA
CM	Cone Morse
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FORP	Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
HCl	Ácido clorídrico
HE	Hexágono Externo
ISO	Organização Internacional de Normalização (<i>International Organization for Standardization</i>)
MgCl₂	Cloreto de Magnésio
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
PE	Pilar Estético
PH	Potencial hidrogeniônico
PP	Pilar de preparo
PVC	Policloreto de Vinila
RTE	Efeito relativo de tratamento
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
TRI	Trichanel
UCLA	Pilar UCLA (<i>universal castable long abutment</i>)
USP	Universidade de São Paulo
WTS	Estatística do tipo Wald

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
×	Vezes ou por
±	Mais ou menos
<	Menor
>	Maior
°C	Graus Celsius
mm	Milímetro
mM	Milimol
mL	Mililitros
µm	Micrômetro
s	Segundos
Hz	Hertz
µL	Microlitro
Ng/µL	Nanogramas sobre microlitro
ng	Nanogramas
min	Mínimo
Max	Máximo
mol	Mol ou mole
MPa	Mega Pascal
N	Newton
mm²	Milímetro quadrado
cm²	Centímetro quadrado
p	Probabilidade de significância
n	Número de repetições
v/v	volume-volume

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	47
1.1 Histórico dos Implantes Dentários	49
1.2 Pilares e Conexões Protéticos	50
1.3 Falhas Biomecânicas e Infiltração Microbacteriana na Conexão Interna	53
1.4 Biomecânica da Mastigação e Testes de Simulação Mastigatória.....	58
1.5 Saliva e CHECKERBOARD DNA-DNA.....	59
2. PROPOSIÇÃO.....	63
2.1 Objetivo geral.....	65
2.2 Objetivos específicos.....	65
3. MATERIAL E MÉTODOS	67
3.1 Seleção dos implantes e pilares.....	69
3.2 Coleta das amostras iniciais do interior do implante	70
3.3 Posicionamento dos implantes.....	71
3.4 Obtenção da saliva.....	73
3.5 Confeção das coroas.....	74
3.6 Posicionamento das coroas nos pilares	74
3.7 Preparo dos corpos de prova para o ensaio de ciclagem térmica e termomecânica.....	75
3.8 Ensaio de ciclagem termomecânica e térmica.....	76
3.9 Medição da perda de torque e coleta do material para análise da contaminação	77
3.10 Contagem de microrganismos pela técnica Checkerboard <i>DNA-DNA</i>	78
3.11 Análise dos Dados	85
4. RESULTADOS	87
4.1 Perda de torque.....	89
4.2 Avaliação da contagem de microrganismos na interface implante/pilar.....	90
5. DISCUSSÃO	93
6. CONCLUSÕES.....	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107
ANEXOS	125

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico dos Implantes Dentários

No ano de 1952, Per-Ingvar Brånemark iniciou sua pesquisa sobre o conceito de próteses integradas aos tecidos vitais no laboratório de Microscopia Vital na Universidade de Lund e, posteriormente, no laboratório de Biologia Experimental na Universidade de Gotemburgo na Suécia. Os estudos analisavam lesões e reparações tissulares em diferentes animais, com foco especial na estrutura e função microvascular (Branemark, 1983).

Especificamente, em um desses estudos, foram posicionados dispositivos ópticos envoltos em titânio na medula óssea da fíbula de coelhos. Dessa forma, foi possível estudar o tecido e a íntima relação entre os compartimentos da medula, do osso e da articulação. Além disso, os efeitos dos estímulos mecânicos, térmicos, químicos e reológicos nas possibilidades terapêuticas e de diminuição do trauma foram estudados (Branemark, 1983).

Surpreendentemente, quando Branemark e seus colaboradores foram remover os dispositivos, perceberam que o mesmo não podia ser removido, pois novo tecido ósseo tinha se formado ao redor das peças de titânio. Esse achado despertou a curiosidade do pesquisador que começou a se aprofundar nesse fenômeno junto com uma equipe que, anos depois, seria chamada de Time Branemark (Branemark, 1983; Buser *et al.*, 2017).

Assim, no começo dos anos 1960, depois de estudos *in vivo*, nos quais utilizaram-se peças de titânio aparafusadas na medula e no osso de animais, observou-se uma união inseparável entre o osso e o metal. Com isso, surgiu o termo osseointegração, referente à união estrutural e funcional direta entre osso vivo e a superfície de um implante submetido à carga mecânica (Branemark 1959; Branemark 1983; Donath, 2003).

No final dos anos 1960, o professor André Schroeder da Universidade de Berna, na Suíça, começou a estudar a integração do tecido ósseo a vários materiais. Seu grupo de pesquisadores, chamado Grupo Internacional de Implantodontia, foi o primeiro a documentar uma união direta entre osso e implantes de titânio em lâminas histológicas sem descalcificação (Schroeder *et al.*, 1976).

Inicialmente, o Time Branemark e o Grupo Internacional de Implantodontia não se conheciam e trabalhavam de forma independente, pois as publicações dos seus resultados científicos só eram divulgadas em revistas locais dos seus respectivos países. No entanto, ambos grupos estabeleceram a base científica para a implantodontia moderna (Buser *et al.*, 2017). Como a perda de um ou mais dentes pode afetar diretamente a estética, a função e alguns aspectos sociais e psicológicos de um indivíduo (Peres *et al.*, 2013), a descoberta

dessas equipes científicas contribuíram significativamente para Odontologia, pois proporcionou tratamentos para repor dentes perdidos e, conseqüentemente, reabilitar pacientes parcial e totalmente desdentados (Chang *et al.*, 1999; Pesqueira *et al.*, 2014; Kitamura *et al.*, 2004; Buser *et al.*, 2004). Na fase inicial dos testes clínicos do Time Branemark, foram utilizados implantes de titânio em pacientes edêntulos para suportar próteses totais. Depois de quinze anos de acompanhamento, os resultados foram promissores, principalmente na região da mandíbula (Adell *et al.*, 1981; Branemark *et al.*, 1977).

Ao longo dos anos, diversos fatores têm sido estudados e modificados para obter os melhores resultados biológicos, mecânicos, clínicos e estéticos. Por isso, atualmente, as empresas têm estudado diversos materiais, tratamentos de superfície, macro e microdesenhos, diâmetros, comprimentos, características das roscas e conexões protéticas (Chun *et al.* 2002; Pierrisnard *et al.*, 2003; Geng *et al.*, 2004; Verri *et al.*, 2007; Baggi *et al.*, 2008).

1.2 Pilares e Conexões Protéticos

O pilar é definido pela nona versão do glossário de termos em reabilitação oral como o componente do implante dental que serve para suportar e reter a prótese (Ferro *et al.*, 2017).

Inicialmente, o Time Branemark apresentou a proposta de um implante de duas peças no qual se conseguia a fixação do pilar protético à plataforma do implante através de um parafuso passante (Brånemark *et al.*, 1977). Enquanto que o Grupo Internacional de Implantodontia apresentou um implante de corpo único que, posteriormente, foi alterado para implantes de duas peças por oferecer mais opções protéticas em decorrência da possibilidade de utilização de pilares de diferentes formatos (Sutter *et al.*, 1988).

No caso dos implantes de duas peças, os parafusos passantes fornecem retenção à prótese e precisam ter um nível de torque definido pelo fabricante. O torque produz uma força de aperto chamada de pré-carga que é fundamental para atingir estabilidade e evitar intercorrências (Jemt e Book, 1996; McGlumphy *et al.*, 1998; Ricomini *et al.*, 2001; Gehrke *et al.*, 2017). Ao longo do desenvolvimento dos implantes dentários, foram apresentados vários protótipos de pilares, conexões protéticas e implantes. Com a expansão da implantodontia ao redor do mundo e o aumento da demanda para repor dentes de pacientes total e parcialmente edêntulos, cada fabricante desenvolveu múltiplos componentes dependendo do objetivo. Existem pilares de vários materiais, com diferentes formas de processamento, desenhos, formatos, tamanhos e sistemas de fixação para dar solução às particularidades de cada situação clínica (Buser *et al.*, 2017).

O pilar UCLA foi desenvolvido em 1988 por Lewis e colaboradores, os quais propuseram uma alternativa para os pilares intermediários pré-fabricados existentes na época, desenvolvidos para próteses sobre implantes unitárias ou múltiplas, pois apresenta sistema anti-rotacional e rotacional. Este tipo de pilar está indicado para situações clínicas nas quais o implante está posicionado superficialmente ou mal posicionado. Além disso, é uma alternativa para implantes associados a regiões com pouco espaço interoclusal e distância méso-distal restrita (Zavanelli *et al.*, 2015).

Geralmente, os pilares UCLA são padrões plásticos calcináveis que, para a obtenção da peça finalizada, passam por processos laboratoriais de fundição e polimento. Esse processo é relativamente barato, e permite a resolução de casos complexos (Medeiros, 2012). Entretanto, muitos profissionais usam de forma indiscriminada esse componente, sem ter preocupação com a seleção do pilar intermediário mais adequado para cada situação clínica (Zavanelli *et al.*, 2015). Conseqüentemente, são verificadas complicações nesse tipo de pilar como: soltura ou afrouxamento de parafusos, dificuldade de assentamento passivo das estruturas e, em um segundo momento, perda óssea peri-implantar (Krishnan *et al.*, 2014).

Por tal motivo, diferentes empresas de implantes criaram os pilares de preparo, os quais são peças metálicas pré-fabricadas que permitem a personalização do perfil de emergência e correções de posicionamento e inclinação através de desgastes estratégicos. Porém, esse tipo de componente tem que ser tratado como preparos dentais convencionais, pois não apresentam componentes protéticos complementares (Londono & Marafie, 2009; Lowe, 2004; Gross *et al.*, 1999; Albayrak *et al.*, 2021).

Com o intuito de facilitar os processos de confecção das próteses sobre os pilares de preparo, foram desenvolvidos os pilares estéticos. Esse tipo de pilar pré-fabricado é confeccionado em titânio pela excelente biocompatibilidade do material e pela alta resistência mecânica (Pjetursson *et al.*, 2007; Sailer *et al.*, 2009; Zembic *et al.*, 2014; Jung *et al.*, 2007; Totou *et al.*, 2021). Além de possuir um formato similar a um dente preparado, disponível em vários tamanhos, esse sistema apresenta componentes protéticos específicos, como transferentes e análogos, o que permite obter resultados estéticos adequados de maneira facilitada. (Totou *et al.*, 2021). No entanto, em paciente com tecidos moles com biótipo fino, o tecido peri implantar pode apresentar cor acinzentada (Park *et al.*, 2007; Ishikawa-Nagai *et al.*, 2007; Jung *et al.*, 2007; Jung *et al.*, 2008).

Além das considerações a respeito dos pilares protéticos utilizados, a região do implante que faz contato com esses pilares também é de suma importância, essa porção é chamada de conexão protética. Desde os primórdios da Implantodontia, a conexão entre o

implante e o pilar foi desenhada como um hexágono externo superficial localizado na plataforma do implante, o qual permitia a posicionamento do implante na chave para instalação durante a cirurgia e também da futura conexão com o pilar protético. Esse tipo de encaixe implante-pilar foi introduzido no protocolo original de Brånemark e recebeu o nome de conexão de hexágono externo (Brånemark *et al.*, 1977; Borie *et al.*, 2016).

Os implantes com conexão externa são apropriados para abordagem de dois estágios cirúrgicos, possuem mecanismo anti-rotacional e permitem reversibilidade do tratamento protético e apresentam compatibilidade com diversos sistemas protéticos. No entanto, micromovimentações devido à baixa altura do hexágono, afrouxamento do parafuso, menor resistência à rotação e movimentação lateral dos componentes podem resultar na formação de microfendas, o que contribui para a desadaptação dos componentes, reabsorção óssea nas margens do implante e até fratura do parafuso (Maeda *et al.*, 2018; Bordin *et al.*, 2018; Pjetursson *et al.*, 2018), além de favorecer a passagem bacteriana na interface entre corpo do implante e o pilar protético (do Nascimento *et al.*, 2011; Bittencourt *et al.*, 2021).

Com o objetivo de minimizar os problemas biomecânicos associados aos implantes de hexágono externo, foram desenvolvidos sistemas de conexões internas que apresentam facilidade para encaixe e fixação do pilar protético. Com isso, o ato clínico de confecção da prótese ficou simplificado e obteve-se maior estabilidade e melhor distribuição das forças oclusais para o corpo do implante, reduzindo a perda ou fratura dos parafusos (Lemos *et al.*, 2018; Degidi *et al.*, 2011; Verdugo *et al.*, 2014; Ceruso *et al.*, 2017). Tais características tornam os implantes de conexão interna a melhor escolha para as reabilitações protéticas (Maeda *et al.*, 2006, Degidi *et al.*, 2011, De Santis *et al.*, 2016). As primeiras conexões internas desenvolvidas foram do tipo hexágono interno. Contudo, podem ser destacadas como desvantagens desse tipo de conexão, a espessura menor das paredes do implante ao redor da área de conexão, a ausência do mecanismo anti-rotacional e a dificuldade de angulação correta entre os implantes instalados (Maeda *et al.*, 2006).

Com o intuito de aprimorar as propriedades mecânicas das conexões em hexágono interno, foi criado um implante com conexão em canal interno, também chamado de *Tri-channel*, triângulo interno, ou de câmeras em tubo, que foi originalmente desenvolvido pela Steri-Oss e, posteriormente, adquirido pela Nobel Biocare (Moraes, 2018; Coppêde, 2013). Segundo a empresa fabricante, o desenho deste tipo de conexão foi uma evolução lógica dos implantes não-hexagonais de canal duplo da Steri-Oss e seus três lobos radiais e a longa extensão de encaixe fornece uma conexão segura e estável. Além disso, a conexão interna com triplo canal tem a capacidade de distribuir, de modo uniforme, a força anti-rotacional

através da conexão, pois reduz os micromovimentos e as forças de flexão (Coppedê *et al.*, 2009). As conexões internas de encaixe em tubo, como o sistema *Tri-channel*, mostram vantagens no que diz respeito à longevidade e à resistência à fratura em comparação com as conexões hexagonais internas, assim como com as conexões hexagonais externas (Steinerbrunner *et al.*, 2008).

Posteriormente, a conexão do tipo Cone Morse, desenvolvida pelo estadunidense Stephen A. Morse, passou a ser utilizado também nos implantes dentários. O princípio desse tipo de conexão é o encaixe de dois cones, o que gera maior travamento mecânico (Hernigou *et al.*, 2013; Ranieri *et al.*, 2015). A fricção entre o pilar protético e a conexão cônica interna garante aos implantes que utilizam esse desenho maior resistência às forças estáticas e dinâmicas e maior resistência à perda ou fratura de parafusos, o que foi comprovado por estudos sobre elementos finitos e *in vitro*, (Coppedê *et al.*, 2013), devido ao comportamento mecânico similar a um implante de corpo único.

Alguns fabricantes têm explorado modificações desse tipo de conexão cônica alterando a angulação interna das paredes com o intuito de facilitar o ato clínico de inserção, remoção e instalação dos componentes. Também, foi proposta a incorporação de indexador para o posicionamento do pilar protético (Lazzara e Porter 2006; Bordin *et al.*, 2018; Do Nascimento *et al.*, 2011; Degidi *et al.*, 2011; De Santis *et al.*, 2016). Há de se considerar, no entanto, que o maior ângulo das paredes cônicas internas resulta em maior diâmetro do pilar. Um pilar mais volumoso terá uma diminuição da espessura da parede do implante, o que força à utilização de torques mais baixos para o acoplamento do pilar no implante (Bozkaya e Müftü, 2005). Tais modificações reduzem, por consequência, a estabilidade da conexão e podem, potencialmente, ter efeito negativo em longo prazo por aumentar o risco de infiltração microbiana (Yao *et al.*, 2019).

Yuseung *et al.*, 2021, avaliaram as complicações mecânicas de restaurações sobre implantes de conexão cônica em estudo retrospectivo de 14 anos. Os autores observaram que pacientes homens e coroas sobre implantes na região de molar têm maior risco de complicações neste tipo de conexão. Do mesmo modo, o estudo observou que os implantes de conexão cônica com diâmetro da plataforma estreita têm maior risco de fratura.

1.3 Falhas Biomecânicas e Infiltração Microbacteriana na Conexão Interna

Em uma revisão da literatura de Oh *et al.* (2002), foram analisadas as possíveis causas da perda óssea precoce dos implantes. Eles concluíram que os fatores que podem estar

envolvidos são: trauma cirúrgico, sobrecarga oclusal, conexão implante-pilar, presença de microgap e periimplantite.

A falha, em um primeiro momento, pode ocorrer em virtude de um procedimento cirúrgico traumático e falta de estabilidade do implante na instalação (Kitamura *et al.*, 2004, Albrektsson *et al.*, 2017). A resposta adversa do tecido ósseo à instalação do implante pode levar a perdas ósseas marginais maiores que 3 mm em um período de até 18 meses. Isso pode indicar falha precoce no tratamento proposto (Albrektsson *et al.*, 2017, Sennerby *et al.*, 2008; Ostman *et al.*, 2007).

Além disso, a relação entre a passividade e distribuição adequada das cargas oclusais entre próteses, componentes protéticos, implantes e tecido periimplantar é essencial para o sucesso das reabilitações implantossuportadas. A sobrecarga oclusal pode causar o insucesso das reabilitações sobre implantes. Próteses inapropriadas, número e distribuição indevida dos implantes podem gerar sobrecarga oclusal por influência na dissipação de estresse (Han *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2004; Branemark *et al.*, 1977).

Do ponto de vista biomecânico, é importante considerar as micromovimentações existentes entre o implante e o pilar, pois as forças mastigatórias que incidem sobre as próteses sobre implantes podem aumentar as medidas do microgap. Inclusive, alguns autores alegam que essa micromovimentação pode ser responsável pela remodelação óssea (Yao *et al.*, 2019; Piattelli *et al.*, 2003; Brogginini *et al.*, 2006).

Portanto, é necessário entender que a distribuição de forças em uma prótese sobre implante é diferente daquela que ocorre nos dentes naturais. Enquanto a interface entre o tecido ósseo e os implantes dentários permite a movimentação de 10 µm quando a prótese sofre a ação de cargas oclusais, os dentes naturais podem ter uma movimentação de até 100µm (Pesqueira *et al.*, 2014). Tal diferença na movimentação promove maior transmissão dessas cargas aplicadas ao tecido ósseo nas próteses sobre implante e, em casos de desequilíbrios mecânicos, pode causar perda desse tecido ao redor do implante. (Kitamura *et al.*, 2004). Entretanto, a perda de tecido ósseo ao redor do implante dentário por si só não pode ser considerada uma falha no tratamento proposto (Albrektsson *et al.*, 2012). Nos implantes de conexão externa, pode ocorrer uma perda óssea de até 1,0 mm ao redor da plataforma a partir do primeiro ano e, posteriormente, podem apresentar perdas de até 0,2 mm. Nos implantes de conexão interna a perda está limitada a 0,2-0,3 mm até o primeiro ano após a instalação (Kitamura *et al.*, 2004, Albrektsson *et al.*, 2012, Albrektsson *et al.*, 1993).

Além desse fator, Khongkhunthian *et al.* (2015) também destacaram a importância da conexão implante-pilar para o sucesso do tratamento com implantes dentários. Durante a

mastigação, o implante dentário é submetido a forças de compressão e cisalhamento. Se essas forças forem desfavoráveis, pode ocorrer o afrouxamento da conexão implante-pilar e deformação e/ou fratura do parafuso de retenção.

Da mesma forma, Binon *et al.* (2000) alegaram que a conexão implante-pilar com baixo nível de adaptação pode causar sobrecargas indesejadas em função, o que pode contribuir para a perda de pré-carga nos parafusos. Assim, o sucesso em longo prazo de uma prótese suportada por implante osseointegrado está diretamente relacionado à precisão de encaixe dos componentes protéticos (Gehrke *et al.*, 2017). Portanto, o uso de pilares protéticos originais da marca dos implantes proporciona melhor adaptação interna e maior grau de fricção entre as superfícies. Dessa forma, garante-se menor concentração de estresse e maior resistência a cargas cíclicas (Alonso-Pérez *et al.*, 2022).

Acredita-se que a perda de torque esteja associada a pré-carga e ao efeito de acomodação (*settling effect*). A pré-carga é a tensão gerada no parafuso após o aperto, o que é essencial para manter os componentes juntos, e o efeito de acomodação é o assentamento proporcionado pelo achatamento das micro-rugosidades das superfícies de contato do metal após o aperto do parafuso, o qual reduz a força de fixação que mantém os componentes juntos (Siadat *et al.*, 2016; Gehrke *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2014; Kano *et al.*, 2007).

A pré-carga é influenciada pelas propriedades físicas dos parafusos de retenção, atrito entre as superfícies, torque de inserção adequado e ciclos de aperto/afrouxamento (Xia *et al.*, 2014; Bernardes *et al.*, 2014).

Barbosa *et al.* (2008) sugeriram que o afrouxamento se origina da separação entre o parafuso e as superfícies com as quais ele entra em contato no momento do torque, bem como dos altos níveis de tensão gerados sobre o mesmo. Assim, alguns autores recomendam reapertar os parafusos da prótese 10 minutos após o torque inicial para reduzir os efeitos da acomodação (Breeding *et al.*, 1993; Siamos *et al.*, 2002; Al Jabbari *et al.*, 2012; Guzaitis *et al.*, 2011; Al-Sahan *et al.*, 2014; Delben *et al.*, 2014; Xia *et al.*, 2014; Bacchi *et al.*, 2015; Al-Otaibi *et al.*, 2017; Tsuge *et al.*, 2009).

A literatura não apresenta consenso quanto ao valor de afrouxamento de parafusos após carregamento cíclico, mas existem pesquisas que mostram perda de 2% até 50% em diferentes tipos de conexões e pilares (Siadat *et al.*, 2016; Diez *et al.*, 2012; Barbosa *et al.*, 2008; Siamons *et al.*, 2002).

Gratton *et al.* (2001) sugeriram que a pré-carga menor do que os valores recomendados pelo fabricante pode resultar na infiltração bacteriana no interior do implante.

Além disso, Jiries *et al.*, (2022) sugeriram que o tipo de conexão na interface implante-pilar pode ter impacto na quantidade de microrganismos que penetram no interior do implante.

A utilização de implantes de duas peças permite a aderência de bactérias nas interfaces de contato com o pilar (Subramani *et al.*, 2009, Mombelli *et al.*, 2012), devido à existência de desadaptações na transição, chamadas microgaps (Piatteli *et al.*, 2003). Existem estudos *in vitro* que relataram que os microrganismos acumulam-se nessa região e secretam substâncias ácidas que podem gerar falhas biológicas (Albrektsson *et al.*, 1993, Ostman *et al.*, 2007; Lemos *et al.*, 2018; Steinebrunner *et al.*, 2005; Maeda *et al.*, 2006).

Existem relatos de que para a maioria dos sistemas de implantes de duas peças, o tamanho do microgap varia de 0,1µm a 10µm após a conexão dos dois componentes e antes dos esforços mastigatórios. Ao considerar que a maioria das bactérias orais estão dentro das dimensões de 0,2 a 1,5µm de largura e de 2 a 10µm de comprimento, estas medidas são consideradas aceitáveis (Nascimento *et al.*, 2016). Porém, até hoje, não há consenso na literatura quanto ao espaço mínimo necessário para evitar a microinfiltração na interface implante-pilar após receber as forças inerentes da função mastigatória.

Uma consequência dessa possível infiltração bacteriana é a reação inflamatória dos tecidos ao redor do implante, que, ao não ser devidamente solucionada, pode evoluir para um quadro de peri-implantite caracterizada pela remodelação de tecido ósseo ao redor do implante (Buser *et al.*, 2004, Subramani *et al.*, 2009, Mombelli *et al.*, 2012, Jepsen *et al.*, 2015, Brogginini *et al.*, 2006) e pela formação de novo espaço biológico frente à microbiota periodontopatogênica (Albrektsson *et al.*, 2017).

Do ponto de vista microbiológico, o desenvolvimento de microbiota ao redor do implante e de seus componentes é um fator etiológico de reações inflamatórias, como a peri-implantite ou a mucosite peri-implantar, caracterizadas pela inflamação dos tecidos e perda óssea (Albrektsson *et al.*, 2017, Albrektsson *et al.*, 2012).

Evidências na literatura mostram que a colonização microbiana no sulco peri-implantar (Lindhe *et al.*, 2008; Salvi *et al.*, 2017) e na interface implante/conector protético (Tallarico *et al.*, 2017) pode levar a reação inflamatória nos tecidos periimplantares e, associada a sobrecarga oclusal, pode comprometer o sucesso em longo prazo do tratamento com implantes dentários (Chambrone & Lima, 2010; Afrashtehfar, 2016).

Revisões sistemáticas investigaram a composição microbiana em sítios com implantes saudáveis, com peri-implantite e doença periodontal (Perez- Chaparro *et al.*, 2016; Rakic *et al.*, 2016; Lafaurie *et al.*, 2017) e indicaram associação de espécies do complexo vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*) e

algumas espécies do complexo laranja (*Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella nigrescens*) com a etiologia da doença peri-implantar (Perez-Chaparro *et al.*, 2016; Lafaurie *et al.*, 2017).

Logo, ao avaliar a estabilidade das conexões, vários fatores devem ser analisados. Esses incluem a carga funcional, o torque de aperto, a pré-carga obtida, o coeficiente de atrito das superfícies de contato, o efeito de acomodação e desadaptação marginal. Além disso, os micromovimentos da conexão do implante e *microgaps* são considerados críticos para o sucesso da reabilitação implantossuportada (De Oliveira Silva *et al.*, 2017; Khongkhunthian *et al.*, 2015; Bulaqi *et al.*, 2015; Xia *et al.*, 2014; Jorge *et al.*, 2013; Assunção *et al.*, 2011).

Entretanto, independentemente do tipo de conexão, todas as transições entre implante-pilar corretamente encaixadas apresentam um espaço na interface implante-pilar (Pereira *et al.*, 2016). Portanto, não existe um selamento absoluto nessa região (Schmitt *et al.*, 2014). Além disso, as cargas da mastigação podem aumentar o tamanho desse espaço como decorrência dos micromovimentos dos componentes protéticos (Scarano *et al.*, 2015; Pereira *et al.*, 2016). Porém, como mencionado acima, a presença de *microgaps* pode favorecer o acúmulo de microrganismos e/ou seus detritos, o que, por sua vez, pode causar infecções do tecido mole (Scarano *et al.*, 2015; Mishra *et al.*, 2017), perda óssea ao redor do implante e perda do implante dentário (Scarano *et al.*, 2015; Mishra *et al.*, 2017).

Por esse motivo, os fabricantes de implantes dentários e componentes protéticos buscam desenvolver sistemas que reduzam a infiltração bacteriana, através do aumento da precisão de encaixe, a fim de minimizar *microgaps* e aumentar a estabilidade entre implante e componente protético. Pois, dessa forma, será possível ter melhor estabilidade e, conseqüentemente, menor migração bacteriana para o interior do implante dentário (Ribeiro *et al.*, 2011; Ricomini *et al.*, 2001). Além disso, é responsabilidade dos dentistas utilizarem componentes protéticos com precisão de ajuste sempre que possível, pois é uma forma de minimizar as falhas biomecânicas (al-Turki *et al.*, 2002; Jansen *et al.*, 1997; Gehrke *et al.*, 2017).

Assim, a Implantodontia não se limita somente à osseointegração e aos quesitos biomecânicos referentes ao implante em si, mas também deve se preocupar com o resultado final da restauração, o que é diretamente dependente do tipo e do material do componente protético e da coroa (Elsayed *et al.*, 2018).

O mais importante critério de sucesso ou sobrevida para o tratamento com implantes dentários é o seu funcionamento na cavidade oral, especialmente para a mastigação

(Albrektsson *et al.*, 1986), lembrando que a perda óssea crestal durante o período funcional que pode ocorrer no primeiro ano após o uso das próteses (Khongkhunthian *et al.*, 2015).

1.4 Biomecânica da Mastigação e Testes de **Simulação** Mastigatória

O sistema mastigatório dos seres humanos é controlado pelo cérebro que ativa diversos músculos da cabeça e do pescoço que geram movimentos cíclicos. Existem seis possíveis graus de movimentos mandibulares que resultam em interações entre os dentes do arco superior e inferior com a finalidade de triturar o alimento (Trulsson *et al.*, 2012; Peck, 2016).

Devido à complexidade funcional e às múltiplas variáveis que ocorrem nesse sistema, o desenvolvimento de equipamentos para replicar as condições mecânicas e térmicas que ocorrem no processo mastigatório é um desafio. Apesar dos testes *in vitro* de simulação mastigatória apresentarem limitações, atualmente, são ferramentas indispensáveis para analisar materiais dentários e entender as respostas às cargas mastigatórias e às mudanças de temperatura que ocorrem na cavidade bucal. (de Souza, 2013; Winkler *et al.*, 2003).

Atualmente, para a avaliação da biomecânica relacionada à Implantodontia, é consenso que os implantes dentários devam ser submetidos a diferentes cargas, principalmente àquelas produzidas durante a mastigação (Ayllón, 2014). Tais cargas resultam em fadiga, que representa a forma de falha dos materiais sujeitos a ciclos repetidos de tensão ou deformação e podem levar a insucessos do ponto de vista clínico (Ayllón, 2014).

Idealmente, um teste *in vitro* deve simular a situação clínica da forma mais próxima possível (Corey *et al.*, 2016) e isso é feito pelo teste de fadiga, no qual componentes do implante são expostos a cargas cíclicas (Dittmer *et al.*, 2012). Com o objetivo de assegurar diminuição nos índices de falhas, os resultados de estudos pré-clínicos são fundamentais para comparação de desempenho e classificação dos implantes e seus respectivos componentes protéticos, especialmente porque seus resultados simulam cenários desfavoráveis, o que auxilia na escolha do profissional para o uso na prática clínica (Dittmer *et al.*, 2012).

Diversos testes de fadiga foram usados para simular a carga mastigatória sobre os implantes e para determinar a estabilidade das interfaces, pois o afrouxamento e o surgimento de espaço marginal são geralmente causados por micromovimentos dos pilares intermediários durante a função (Broggini *et al.*, 2006; Brogginini *et al.*, 2003).

Entretanto, nos estudos, há grande variação nos números de ciclos de carga, frequências de carga, direção da carga, formas de aplicação e outros fatores (Akour *et al.*, 2005; Khraisat *et al.*, 2004; Binon, 1996; Dixon *et al.*, 1995; Breeding *et al.*, 1993).

Diante da grande variação de testes *in vitro* de implantes na literatura, o que dificultava a comparação dos resultados, no ano 2003, a Organização Internacional de Normalização (ISO) desenvolveu protocolos para os testes de simulação e fadiga de implantes dentários (ISO 14801:2016) (Karl, Kelly, 2009; Lee, *et al.*, 2009; Khraisat *et al.*, 2004). Para replicar e avaliar o comportamento dos implantes dentários na mastigação especificamente, foi padronizado um teste de fadiga cíclica baseado na NORMA ABNT NBR ISO 14801 (Breeding *et al.*, 1993).

Especificamente, para a análise de afrouxamento, os conjuntos são, normalmente, submetidos à leitura antes e após a ciclagem mecânica, com a obtenção de valores de torque através de torquímetro digital. Após tabular os dados, é possível determinar as porcentagens de afrouxamento (Park *et al.*, 2010), como pode ser observado em diversos estudos (Gehrke *et al.*, 2017; Cerutti-Kopplin *et al.*, 2014; Shin *et al.*, 2014; Pintinha *et al.*, 2013).

1.5 Saliva e CHECKERBOARD DNA-DNA

A identificação do perfil microbiano do biofilme associado às diferentes superfícies presentes na cavidade oral é fundamental para entender os mecanismos da colonização microbiana e o desenvolvimento de doenças (Nascimento *et al.*, 2016; De Freitas *et al.*, 2018). Diversos métodos de diagnóstico molecular foram desenvolvidos, durante as últimas décadas, e têm sido amplamente utilizados na detecção e quantificação de espécies microbianas presentes na cavidade oral (Charalampakis & Belibasakis, 2015).

A técnica de hibridização checkerboard DNA-DNA é utilizada amplamente na Odontologia para detectar espécies patogênicas e não patogênicas na cavidade oral de pessoas saudáveis ou doentes (De Souza *et al.*, 2009; Do Nascimento *et al.*, 2009). Este método, descrito por Socransky *et al.*, (1994), permite a identificação rápida e simultânea de diversas espécies microbianas em grandes quantidades de amostras orais. Nele, utilizam-se marcadores de digoxigenina, o genoma do DNA, as quais são hibridizadas às respectivas amostras de DNA e, posteriormente, é feita a detecção quimioluminescente, como resultado de uma reação antígeno-anticorpo.

Essa técnica tem sido amplamente utilizada em diversas áreas da Odontologia para avaliar a microbiota associada ao biofilme subgengival (Socransky *et al.*, 1998; Do Nascimento *et al.*, 2011; Do Nascimento *et al.*, 2015) e supragengival (Haffajee *et al.*, 2008; Do Nascimento *et al.*, 2015); investigar a composição do biofilme bacteriano em condições de saúde ou doença (Ximenez-Fyvie, Haffajee, Socransky, 2000; Shibli *et al.*, 2008; Teles *et al.*, 2010); verificar a associação entre o biofilme bacteriano e fatores locais ou sistêmicos

(Desvarieux *et al.*, 2010; Desvarieux *et al.*, 2013; Lira-Junior *et al.*, 2018); identificar a composição do biofilme como resultado do tratamento de terapias periodontais (Ximenez-Fyvie *et al.*, 2000); avaliar a microbiota associada com lesões endodônticas (De Miranda, Colombo, 2018; Triches *et al.*, 2018) e a atividade antimicrobiana de soluções higienizadoras de prótese (Segundo *et al.*, 2014; Badaro *et al.*, 2017).

Também foi empregada para investigar a infiltração microbiana tanto na interface implante/intermediário protético (Barbosa *et al.*, 2009; Do Nascimento *et al.*, 2009; Do Nascimento *et al.*, 2012; Pita *et al.*, 2017) quanto na região de orifício de acesso ao parafuso do componente de próteses parafusadas (Alshehri, Albaqiah, 2017; Do Nascimento *et al.*, 2017).

Além disso, o método de hibridização DNA-DNA *Checkerboard* também foi utilizado em estudos *in vivo* para identificar e quantificar espécies microbianas presentes no biofilme formado sobre diferentes materiais utilizados na confecção de componentes protéticos (Do Nascimento *et al.*, 2013; Nascimento *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2016; Raffaini *et al.*, 2018). No entanto, dificuldades técnicas associadas com a reação, custos dos materiais e o tempo de processamento para avaliar os resultados podem limitar o uso desse método. Portanto, algumas modificações técnicas foram apresentadas por Do Nascimento *et al.*, (2010) para facilitar a detecção de amostras do genoma DNA inteiro de forma direta e rápida.

Dentro do contexto apresentado, a realização de estudos que avaliem a contaminação da interface entre implante e pilar protético, após a ação de forças biomecânicas contínuas que simulam a função mastigatória, é interessante e necessária para que o mecanismo de passagem bacteriana nos microgaps seja melhor entendido e explicado, dado que é possível associarmos a contaminação bacteriana nesses sítios à mucosite peri-implantar e à peri-implantite (Maeda *et al.*, 2006, Mombelli *et al.*, 2012, Jepsen *et al.*, 2015; Serino & Strom 2009). No entanto, a dificuldade em estabelecer um modelo experimental único e padronizado e simular a ação das condições físicas bucais demanda cautela na interpretação dos resultados já existentes sobre o assunto (Maeda *et al.*, 2006).

Apesar das pesquisas revelarem que a conexão interna cônica apresenta menor índice de contaminação, sabe-se que, mesmo nela, bactérias passam pela interface implante/pilar (Ellakany *et al.* 2021; do Nascimento *et al.* 2019; Dias *et al.* 2018). A justificativa para esse estudo reside no fato de que novos desenhos de conexão interna têm sido propostos pelas empresas, acompanhados de novos desenhos de componentes protéticos, para diversas soluções restauradoras. Assim, é necessário entender o comportamento de cada uma dessas

conexões e também dos componentes protéticos associados a elas, por meio da avaliação da interface pilar/implante sob diversos aspectos, como, no caso desse estudo, sob o ponto de vista da perda de torque e contagem microbiana, especialmente em condições aproximadas àquelas da cavidade bucal, simulando variações de temperatura e sob carregamento mecânico similar ao da mastigação.

2. PROPOSIÇÃO

2. PROPOSIÇÃO

2. PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar a perda de torque e a contagem de microorganismos na interface de implantes de diferentes conexões associados a diferentes intermediários protéticos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a porcentagem de perda de torque dos parafusos de retenção implante/pilar após ciclagem termomecânica;
- Comparar a contagem de microorganismos da saliva humana no interior de implantes de conexões do tipo Cone Morse, hexágono externo e trichanel;
- Comparar a contagem de bactérias da saliva humana no interior de implantes que receberam diferentes intermediários protéticos: pilar do tipo Estético, pilares de preparo e UCLA.

A primeira hipótese nula deste estudo é que não há diferença entre a perda de torque dos parafusos, após ciclagem termomecânica, entre os diferentes implantes e pilares.

A segunda hipótese nula é que não há diferença em relação à contagem de microorganismos na interface implante/pilar entre as diferentes conexões após ciclagem termomecânica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

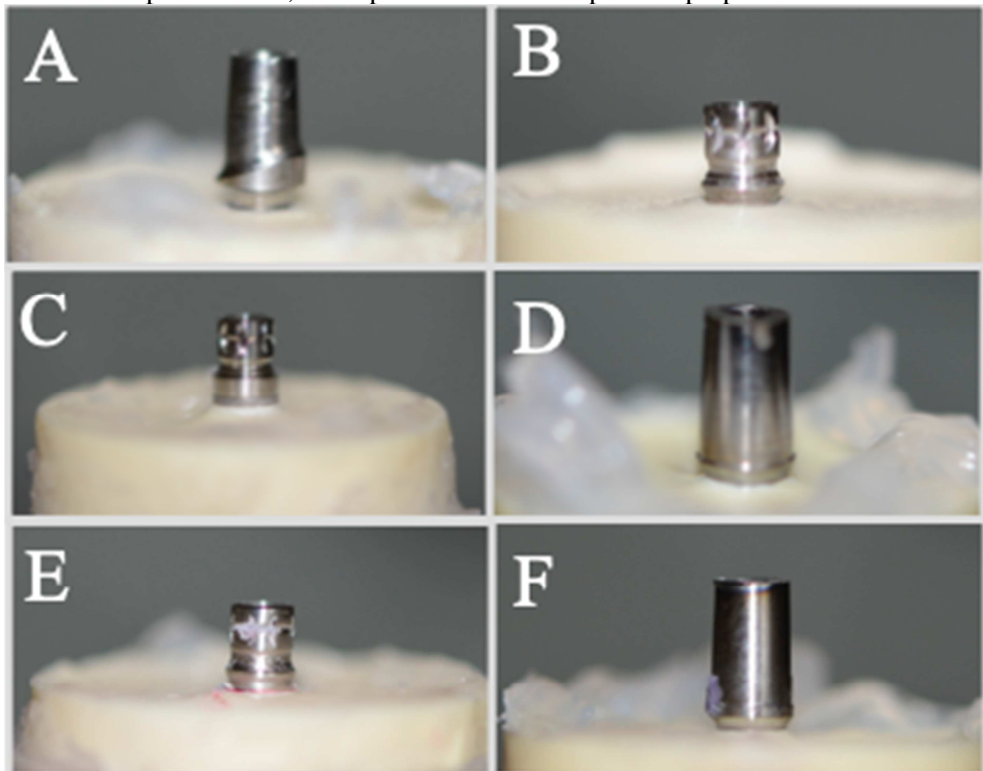
3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção dos implantes e pilares

Para o presente estudo, foram utilizados 90 implantes odontológicos osseointegráveis (DÉRIG®, São Paulo, SP, Brasil), 30 com conexão do tipo cone morse (CM), 30 com conexão de hexágono externo (HE) e 30 com conexão do tipo trichanel (TRI), com seus respectivos pilares e parafusos protéticos.

Esses implantes e componentes foram divididos em seis grupos (N=15) (Figura 1) conforme explicado na tabela 1.

Figura 1 - Grupos: **A:** Implante cone morse e pilar estético; **B:** Implante cone morse e pilar UCLA; **C:** Implante hexágono externo e UCLA; **D:** Implante hexágono externo e pilar de preparo; **E:** Implante Trichanel e pilar UCLA; **F:** Implante Trichanel e pilar de preparo.



Fonte: Própria (2022)

Tabela 1 - Divisão dos implantes e pilares

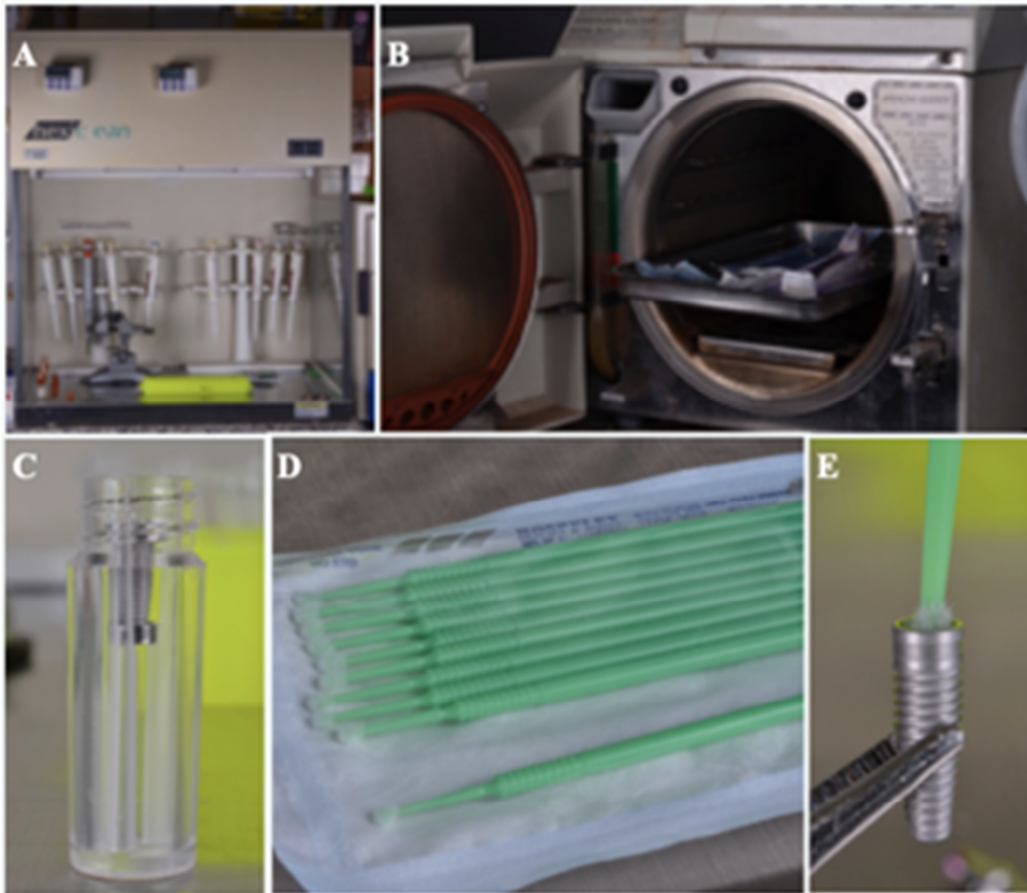
Grupo	Implante	Pilar	Tipo de conexão	Fabricante
CM-PE	Implante cônico Bioneck 3,5x11,5mm	Pilar estético	Cone Morse	Derig
CM-UCLA	Implante cônico Bioneck 3,5x11,5mm	Pilar UCLA	Cone Morse	Derig
HE-UCLA	Implante cilíndrico Biodent HEX 3,75x11,5mm	Pilar UCLA	Hexágono Externo	Derig
HE-PP	Implante cilíndrico Biodent HEX 3,75x11,5mm	Pilar de preparo	Hexágono Externo	Derig
TRI-UCLA	Implante cônico Bioneck TRI 3,5x11,5mm	Pilar UCLA	TriChanel	Derig
TRI-PP	Implante cônico Bioneck TRI N3,5x11,5mm	Pilar de Preparo	TriChanel	Derig

Dos 15 conjuntos implante-pilar de cada grupo, 10 foram submetidos à ciclagem termomecânica, 4 foram submetidos à ciclagem térmica e 1 grupo foi mantido como controle negativo, o qual não foi submetido a nenhum tipo de ciclagem.

3.2 Coleta das amostras iniciais do interior do implante

As coletas das amostras iniciais do interior do implante foram feitas após a abertura da embalagem dentro de uma cabine de fluxo laminar (Linha PCR- Clean 5 HexiClean 5, Hexi Clean, São Paulo, Brasil). (Figura 2A). Os implantes foram posicionados numa pinça e as amostras foram colhidas da superfície interna da conexão, com o auxílio de aplicadores descartáveis do tipo *microbrush* previamente esterilizadas em autoclave (M9UltraClave, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). (Figura 2B, 2C, 2D e 2E). As amostras coletadas foram transferidas para microtubos individuais identificados e contendo 150µL de solução tampão TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 7,6), aos quais foram adicionados 150µL de NaOH 0,5M o que permitiu a lise e a suspensão do DNA na solução. Posteriormente, foi posicionado o pilar correspondente em cada implante e fixado, num primeiro momento, com chaves digitais com um pre-torque manual.

Figura 2 - Coleta das amostras do controle negativo do implante com auxílio de aplicador descartável. A: Cabine de fluxo laminar; B: esterilização do material em autoclave; C: abertura da embalagem do implante; D: aplicador descartável estéril; E: Coleta do interior do implante



Fonte: Própria (2022)

3.3 Posicionamento dos implantes

Inicialmente, foi confeccionada uma matriz de silicone (Silicone de duplicação Silkon Shore 22, OdontoMega, Ribeirão Preto, Brasil) para copiar um cilindro com dimensões de 25mm de altura e 25mm de diâmetro.

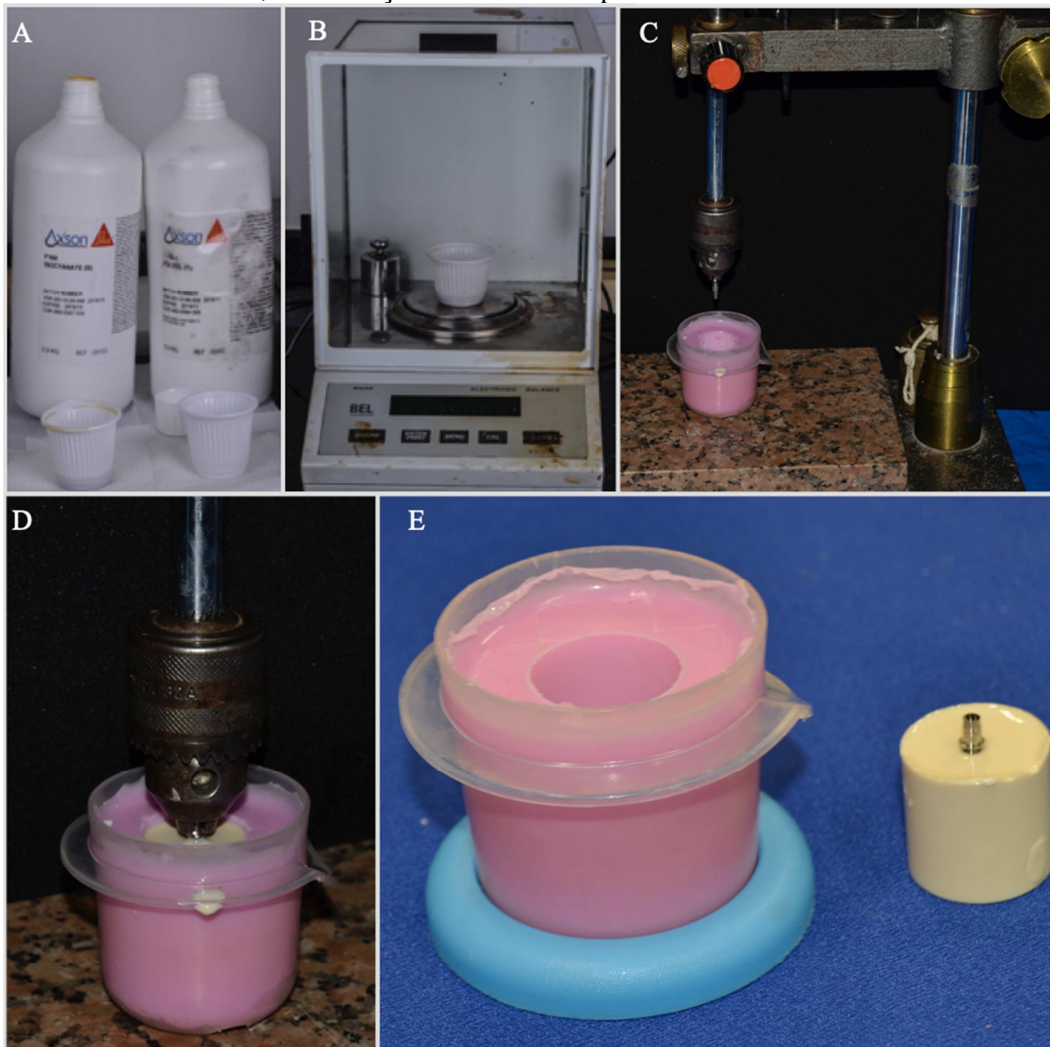
Posteriormente, foi utilizada uma resina de poliuretano com propriedades elásticas uniformes e módulo de elasticidade semelhante ao tecido ósseo medular humano (Resina F160, Axson, Silka, São Paulo, Brasil) (Figura 3A). Essa resina foi manipulada de acordo com as instruções do fabricante. Assim, foram medidas 7,5g da parte A (polyol) e 7,5g da parte B (ososyonate) em balança de precisão (Bel Equipamento Analíticos, Piracicaba, Brasil) (Figura 3B). Depois disso, foram misturadas cada uma das partes por um minuto em copo descartável até criar uma mistura homogênea que foi vertida na matriz de silicone confeccionada anteriormente.

Antes do material se tornar rígido, o conjunto implante-pilar foi fixado pelo pilar no mandril da haste vertical de um delineador e a matriz foi posicionada no centro da base do

delineador (Figura 3C). Dessa maneira, a haste vertical foi levada manualmente até inserir o implante completamente na região central da matriz preenchida com resina (Figura 3D). O implante ficou coberto até a plataforma, para simular a instalação do implante no nível da crista óssea.

Depois de 20 minutos, quando a solução completou a reação química e o poliuretano ficou rígido, o pilar foi removido do mandril da haste vertical, o cilindro de poliuretano foi removido da matriz e foi atribuído um número a cada corpo de prova. (Figura 3E).

Figura 3 - Posicionamento dos conjuntos implante-pilar. A: Embalagens do Polyol e o Osisonate; **B:** Medições do polyol e do ososyonate com balança de precisão; **C:** Fixação do pilar no mandril da haste vertical do delineador e posicionamento da matriz de silicone no centro da base do delineador; **D:** Posicionamento do conjunto implante-pilar no interior da mescla de poliuretano deixando o implante totalmente coberto; **E:** Remoção do cilindro de poliuretano da matriz de silicone.



Fonte: Própria (2022)

3.4 Obtenção da saliva

O presente estudo foi submetido à análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FORP-USP e aprovado (CAAE 25836819.2.0000.5419).

Foram coletadas amostras de saliva de 20 adultos saudáveis selecionados na comunidade da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto. Foram incluídas pessoas de ambos os gêneros, sem nenhum tipo de manifestações bucais de doenças sistêmicas ou processos infecciosos agudos na cavidade bucal. As coletas foram realizadas sempre no mesmo horário, além de constituir grupos de pessoas com idades semelhantes, e sob condições ambientais semelhantes, a fim de obter maior uniformidade das amostras de saliva.

Tabela 2 - Critérios de inclusão e exclusão para a obtenção das amostras de saliva

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
- Sujeitos entre 20 e 40 anos	- Sujeitos que estão em antibioticoterapia
- Sujeitos saudáveis	- Sujeitos com patologias em processo infeccioso agudo

Ao final das coletas a saliva foi transferida para um tubo único e foi homogeneizada durante 3 minutos (Figura 4A) e armazenada em estufa bacteriológica (Estufa microprocessada para cultura microbiológica, Estirilifer, São Caetano do Sul, São Paulo – Brasil) a 37° C (Figura 4B) até o início do teste de contaminação dos implantes. (Figura 4C).

Figura 4 - Coleta das amostras de saliva. **A:** Tubo individual de amostra de saliva **B:** Estufa bacteriológica **C:** Tubo único com amostras de saliva homogeneizada



Fonte: Própria (2022)

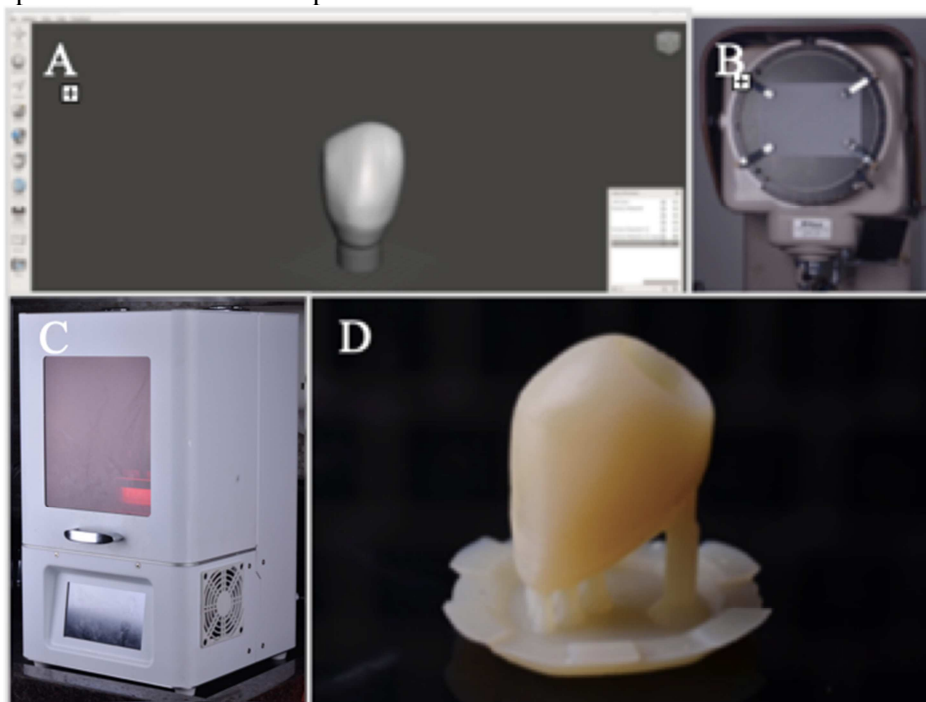
3.5 Confeção das coroas

Para desenhar as coroas, foi utilizado o programa de desenho digital chamado MeshMixer (Autodesk, Califórnia, Estados Unidos de América). Nesse *software* foi utilizada uma coroa pre-desenhada com formato de canino superior e, posteriormente, foi subtraído o volume dos pilares dos implantes na região interna (Figura 5A).

Para definir as dimensões que deveriam ser subtraídas do interior de cada coroa, foi realizada a projeção e medição de cada pilar em um projetor de perfil (Profile Projector Model 6C, Nikon, Tóquio, Japão) (Figura 5B).

As coroas foram impressas na impressora 3D Phrozen Sonic 4^a (Printax, Odontomega, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) (Figura 5C e 5D) com resina 3D de provisório (Printax, Odontomega, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil).

Figura 5 - Confeção das coroas A: Desenho digital da coroa no software Meshmixer; B: Projetor de perfil; C: Impressora 3D D: Coroa impressa.



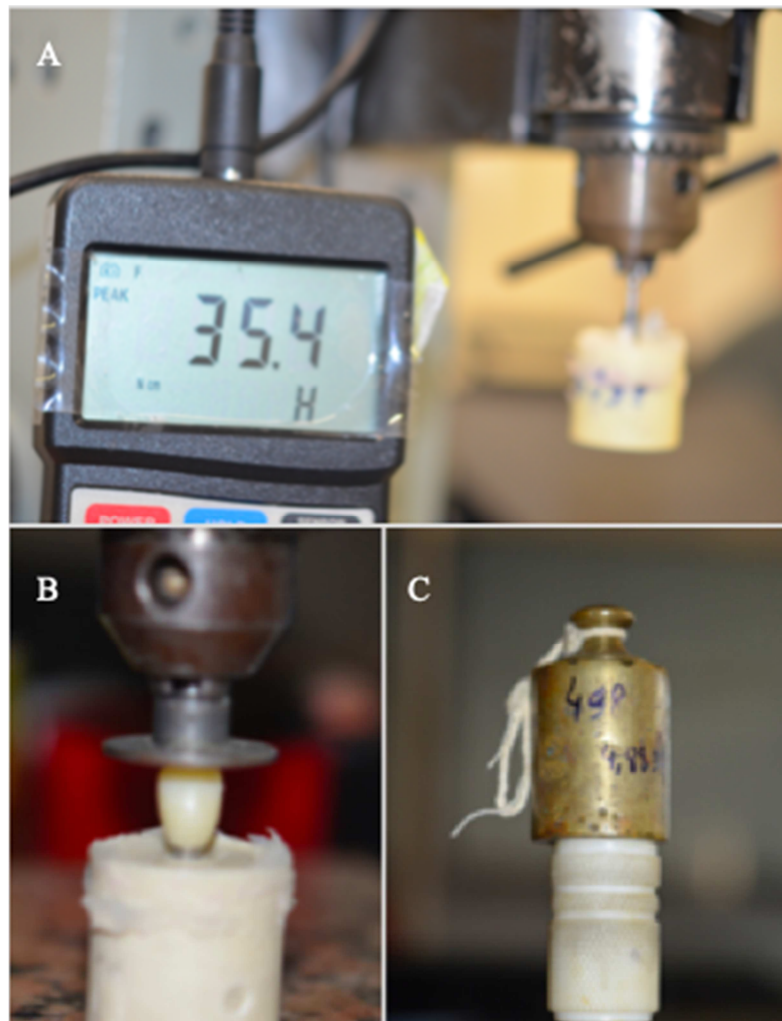
3.6 Posicionamento das coroas nos pilares

Cada coroa teve a adaptação marginal avaliada visualmente e foram, posteriormente, posicionadas nos pilares com material de moldagem a base de poliéter (Impregum Soft, 3M ESPE, Ribeirão Preto, São Paulo - Brasil). Antes do posicionamento, foi dado um torque de 35 Ncm a todos os pilares, como indicado pelo fabricante (Figura 6A). Dez minutos após foi dado o torque de confirmação, e os orifícios dos parafusos foram vedados com fita de teflon e resina fluida (Maquira, Maringá, Paraná – Brasil). Em seguida, o material de moldagem a

base de poliéter foi inserido no interior de cada coroa e as mesmas posicionadas manualmente sobre o pilar.

Para garantir o assentamento da coroa no pilar, foi utilizado um delineador, com um disco preso a haste vertical fazendo pressão na incisal da coroa com peso de 439 g (Figura 6B e 6C). Posteriormente, os excessos de poliéter foram removidos com auxílio de sonda exploradora.

Figura 6 - Posicionamento das coroas nos pilares. **A:** Torque aplicado a cada pilar segundo as recomendações do fabricante; **B:** Delineador com disco na extremidade inferior da haste vertical fazendo pressão na incisal da coroa; **C:** Delineador com dispositivo com 439 g na extremidade superior da haste vertical.



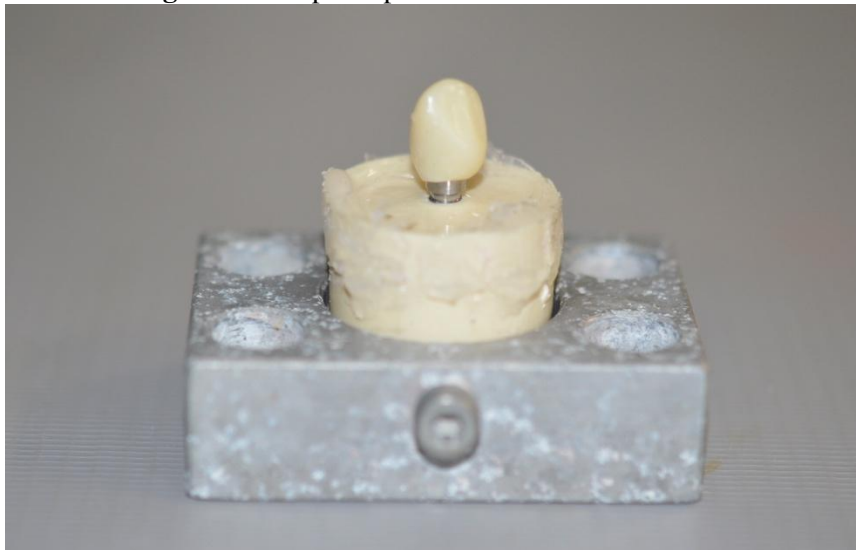
Fonte: Própria (2022)

3.7 Preparo dos corpos de prova para o ensaio de ciclagem térmica e termomecânica

Após a montagem dos corpos de prova, estes foram posicionados e presos numa base metálica (Figura 7). Posteriormente, foram envolvidos por tubos plásticos fixados ao

poliuretano com cola à base de água que serviram de reservatório para colocação da saliva durante o experimento.

Figura 7 - Corpo de prova fixado na base metálica



Fonte: Própria (2022)

3.8 Ensaio de ciclagem termomecânica e térmica

Os conjuntos implante/pilar/coroa foram instalados no interior do recipiente de teste da máquina de ensaios de ciclagem termomecânica. Para a realização da ciclagem termomecânica, foi utilizada a máquina de fadiga mecânica por mastigação (BIOPDI – Equipamentos para pesquisa de materiais médicos e odontológicos, São Carlos, São Paulo, Brasil). Um aplicador cilíndrico de 15mm de altura, 15mm de diâmetro e angulação na região interna de 10° foi desenhado utilizando o programa de desenho digital MeshMixer (Autodesk, Califórnia, Estados Unidos de América) e impresso na impressora 3D Phrozen Sonic 4^a (Printax, Odontomega, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) com resina 3D de provisório (Printax, Odontomega, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) (Figura 8A). O aplicador tinha uma carga de 120N foi posicionado na região incisal da coroa gerando forças excessivas ao longo do eixo do implante.

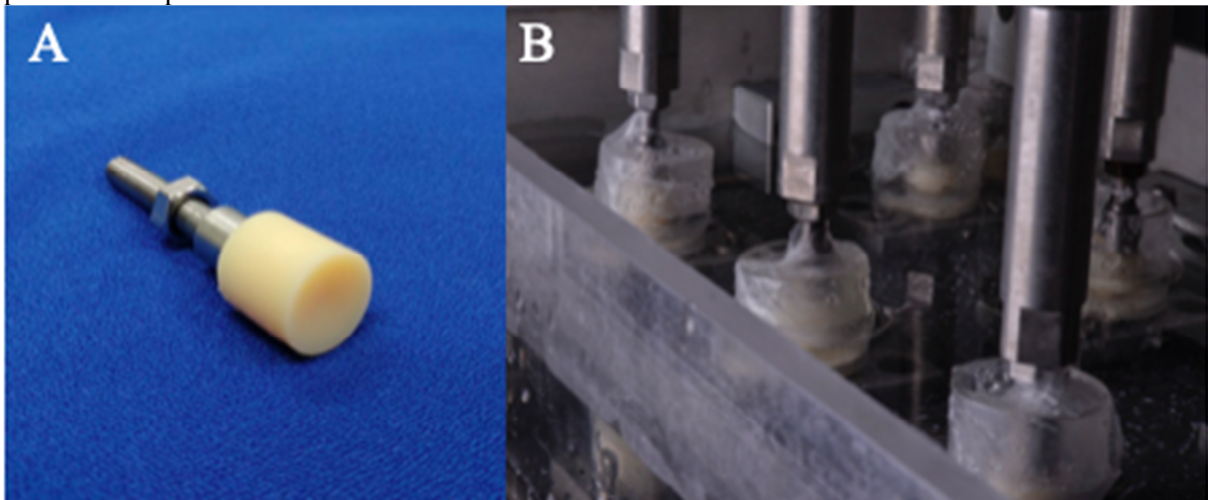
Foram realizados 2×10^6 ciclos, com frequência de 5Hz. Simultaneamente, a mesa onde estavam fixadas as bases realizava movimentos horizontais de 2mm, 1mm para o lado direito e 1mm para o lado esquerdo, replicando os movimentos mandibulares excursivos (Figura 8B).

Todo o sistema foi selado com película flexível de ação aderente (Parafilm, Neehan, Wisconsin, Estados Unidos de América), o que permitiu o isolamento do meio externo.

Durante o ensaio os corpos de prova foram submetidos simultaneamente a 2000 ciclos térmicos de 5° - 55° C.

Quatro conjuntos de cada grupo foram montados da mesma forma descrita acima, porém não foram submetidos a carregamento mecânico. Foram ciclados apenas termicamente, no mesmo recipiente de ensaio mecânico, durante o tempo em que as demais amostras foram ensaiadas.

Figura 8 - Ensaio de ciclagem termomecânica. A) Ponta aplicadora de carga; B) Corpos de prova posicionados para o ensaio.



Fonte: Própria (2022)

3.9 Medição da perda de torque e coleta do material para análise da contaminação

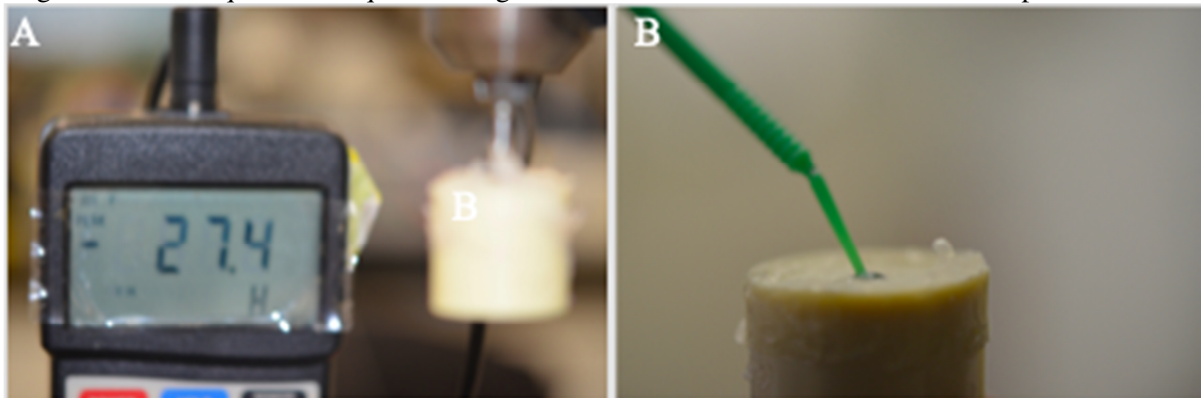
Ao final dos ensaios mecânicos, os conjuntos implante/pilar/coroa foram removidos do interior do recipiente de teste da máquina de ensaios de ciclagem termomecânica. As coroas foram removidas com pinças mosquito, e a resina fluida e a fita teflon do orifício do parafuso foram retiradas com sonda exploradora.

Gaze com álcool na concentração de 70% foi passada gentilmente na superfície do pilar protético e na região do poliuretano que envolvia o implante.

Posteriormente, foram removidos os pilares dos implantes com chaves manuais em torquímetro digital e foi registrado o destorque em Ncm. (Figura 9A).

O conteúdo do interior dos implantes e o material presente nas roscas dos parafusos de fixação dos seus respectivos conectores protéticos foram coletados com auxílio de aplicador descartável previamente esterilizado (Figura 9B). As amostras, a serem processadas pela técnica de hibridização DNA-DNA, foram colocadas em tubos contendo 150µl de solução tampão Tris-HCl (10mM; pH 7,6). Até o processamento das amostras todos os microtubos foram armazenados a -20°C em um congelador.

Figura 9 - Medição da perda de torque e coleta do material para análise da contaminação. A: Registro do destorque com torquímetro digital; **B:** Coleta do material do interior do implante.



Fonte: Própria (2022)

3.10 Contagem de microrganismos pela técnica Checkerboard DNA-DNA

No total, foram coletadas 28 amostras de biofilme por cada grupo (14 amostras antes da ciclagem e 14 após a mesma). Cada amostra foi armazenada em um microtubo específico em temperaturas de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento do processamento pela técnica de hibridização *Checkerboard* DNA-DNA, preconizada por Socransky *et al.* (1994) e modificada por Nascimento *et al.* (2010). Essa etapa da pesquisa foi realizada no Laboratório de Diagnóstico Odontológico Molecular do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Para essa técnica de hibridização, foi necessário realizar a obtenção das sondas de DNA genômico das 40 espécies-alvo. O DNA genômico das 40 espécie-alvo utilizadas neste estudo foram adquiridas da empresa *American Type Culture Collection* (ATCC®, EUA), dentre elas 36 espécies eram bactérias, tanto colonizadores primários quanto patógenos associados à doença periodontal e peri-implantar, e 4 espécies de *Candida*. Essas espécies-alvo estão descritas no quadro 1.

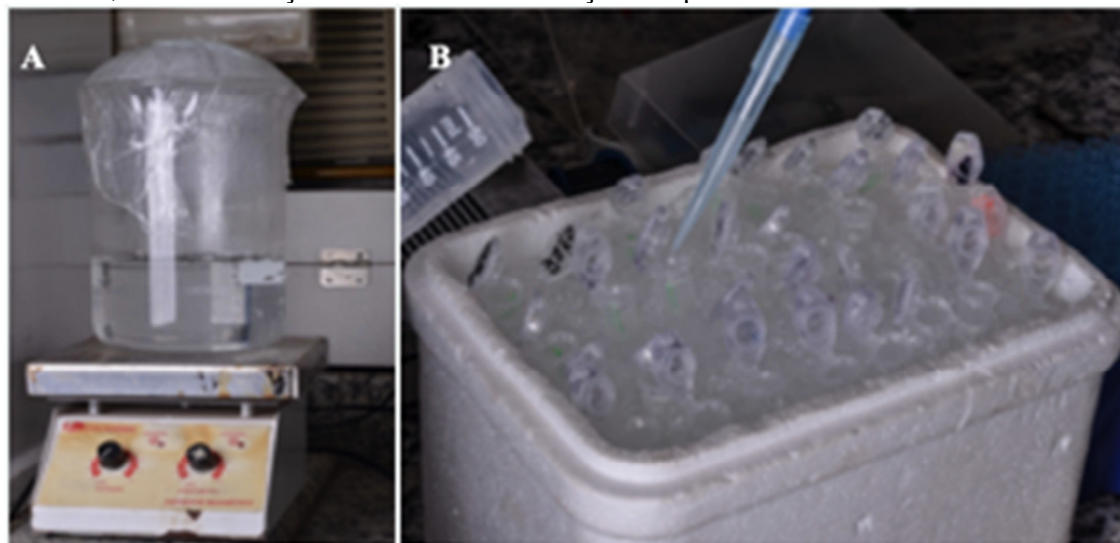
Quadro 1 - Espécies-alvo da detecção pela técnica de hibridização com sondas de DNA genômico.

Espécies	Nº ATCC	Espécies	Nº ATCC
Complexo Vermelho		Outras Espécies	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277	<i>Bacteroides fragilis</i>	25285
<i>Tannerella forsythia</i>	43037	<i>Escherichia coli.</i>	25927
<i>Treponema denticola</i>	35405	<i>Enterococcus faecalis</i>	700802
Complexo Laranja		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	BAA-1705
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	<i>Mycoplasma Salivarium.</i>	334
<i>Fusobacterium nucleatum.</i>	25586	<i>Lactobacillus casei</i>	23064
<i>Prevotella intermedia</i>	25611	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	49031
<i>Parvimonas micra</i>	33270	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	35406
<i>Prevotella nigrescens</i>	25261	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845
Complexo Amarelo		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15442
<i>Streptococcus mitis</i>	49456	<i>Pseudomonas putida</i>	700007.
<i>Streptococcus oralis</i>	35037	<i>Solobacterium moreei</i>	CCUG39336
<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556	<i>Staphylococcus aureus.</i>	25923
<i>Streptococcus gordonii</i>	10558	<i>Streptococcus mutans</i>	700610
Complexo Verde		<i>Streptococcus salivarius</i>	9759
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans a</i>	700685	<i>Streptococcus sobrinus</i>	27607
<i>Capnocytophaga gingivalis.</i>	33624	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	903
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	<i>Streptococcus Constellatu.</i>	27513.
Complexo Roxo		<i>Streptococcus Gallolyticus</i>	43143
<i>Veillonella parvula</i>	10790	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	51129
		Fungos	
		<i>Candida albicans</i>	9028
		<i>Candida dublinienses.</i>	7984
		<i>Candida Glabrata</i>	48435
		<i>Candida tropicalis</i>	66029

O preparo das sondas de DNA foi iniciado pela diluição do DNA genômico dos microrganismos alvo nos microtubos. Então, o DNA foi desnaturado por meio da imersão em água fervente por 5 minutos e, posteriormente, resfriado em gelo por 5 minutos. Durante esse tempo no gelo, foram adicionados os componentes do kit de marcação: 10 μL de *Reaction buffer*, 2 μL de *Labelling reagent* e 10 μL de *Cross-linker solution* (1:4) (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido). Então, os microtubos foram mantidos em banho-maria a 37°C por 30 minutos e, posteriormente, glicerol (50% v/v) foi adicionado em cada microtubo. Após o processamento, eles foram estocados em -20°C até serem utilizados.

As amostras coletadas também passaram por processamento específico. Nessa etapa, as amostras, previamente armazenadas, foram descongeladas em temperatura ambiente e homogeneizadas em agitador de tubos (AP 56, Phoenix Lufenco, Araraquara, Brasil). Em seguida, o DNA foi desnaturado por meio do aquecimento a 95°C por 5 minutos (Figura 10A) e posterior resfriamento em gelo por 5 minutos. Após essa fase, a neutralização das amostras foi realizada pelo acréscimo de 800 μL de acetato de amônio 5M (Figura 10B). Além das 28 amostras, dois microtubos, com a quantidade de 10^5 e 10^6 das 40 espécies-alvo de detecção, foram processados conforme descrito acima, os quais foram usados como referência de comparação da quantificação dos sinais de hibridização. Isso porque a sensibilidade da técnica de hibridização *Checkerboard* DNA-DNA foi ajustada para observar as reações de hibridização positivas para a presença de 10^5 e 10^6 células microbianas (Socransky *et al.*, 1994).

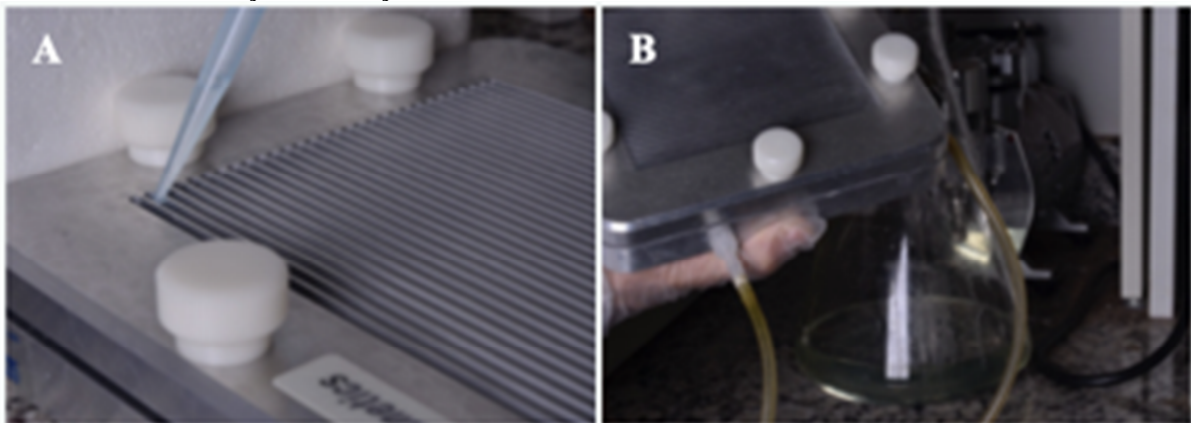
Figura 10 - Processamento das amostras. A: Desnaturação do DNA das amostras de biofilme; B: Neutralização das amostras com adição 800 μL de acetato de amônio 5 M.



Fonte: Própria (2022)

Uma vez finalizados o processamento das amostras e a marcação das sondas, foi feita a aplicação das mesmas sobre as membranas. A membrana de nylon carregada positivamente (Hybond N+, GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido) foi posicionada no interior de um aparato metálico denominado Minislot 30 (Immunetics, Cambridge, MA, EUA), o qual possui 30 canaletas. As 28 diferentes amostras de DNA e os dois padrões de quantificação foram depositados no interior das canaletas individuais com auxílio de pipetas automáticas de precisão (Figura 11A). Depois de 5 minutos, o excesso da solução foi removido com bomba a vácuo (Figura 11B). A membrana foi removida do Minislot 30 e colocada em invólucro de papel kraft. O DNA concentrado na membrana foi fixado por aquecimento a 120°C em estufa (SX 1.2 DTME, Sterilifer Ind. e Com. Ltda., Diadema, SP, Brasil).

Figura 11- **A:** Aplicação das amostras de DNA e padrões de comparação 10^5 e 10^6 em canaletas individuais; **B:** Remoção da solução do *Minislot 30* com uma bomba a vácuo.

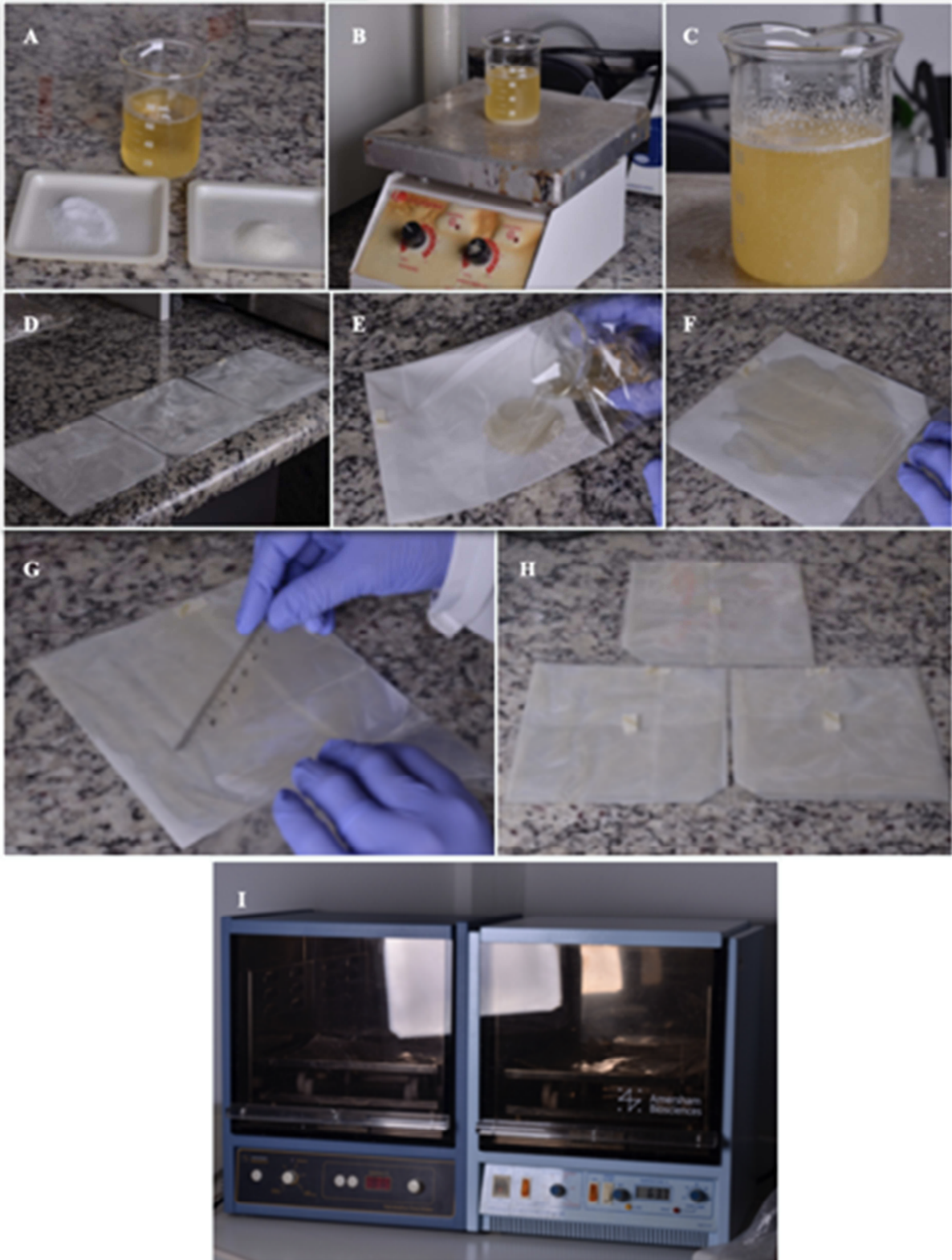


Fonte: Própria (2022)

A membrana foi pré-hibridizada a 63,5°C, por 6 horas, em uma solução contendo NaCl 1 M (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) e *Blocking reagent* (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido) diluídos em 30 mL de *Hybridization Buffer* (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido) (Figura 12).

Figura 12 - A: Reagentes para o preparo da solução de pré-hibridização (NaCl 1 M, *Blocking reagent* e 30 mL de *Hybridization Buffer*); **B:** Mistura dos reagentes para preparar a solução de pré-

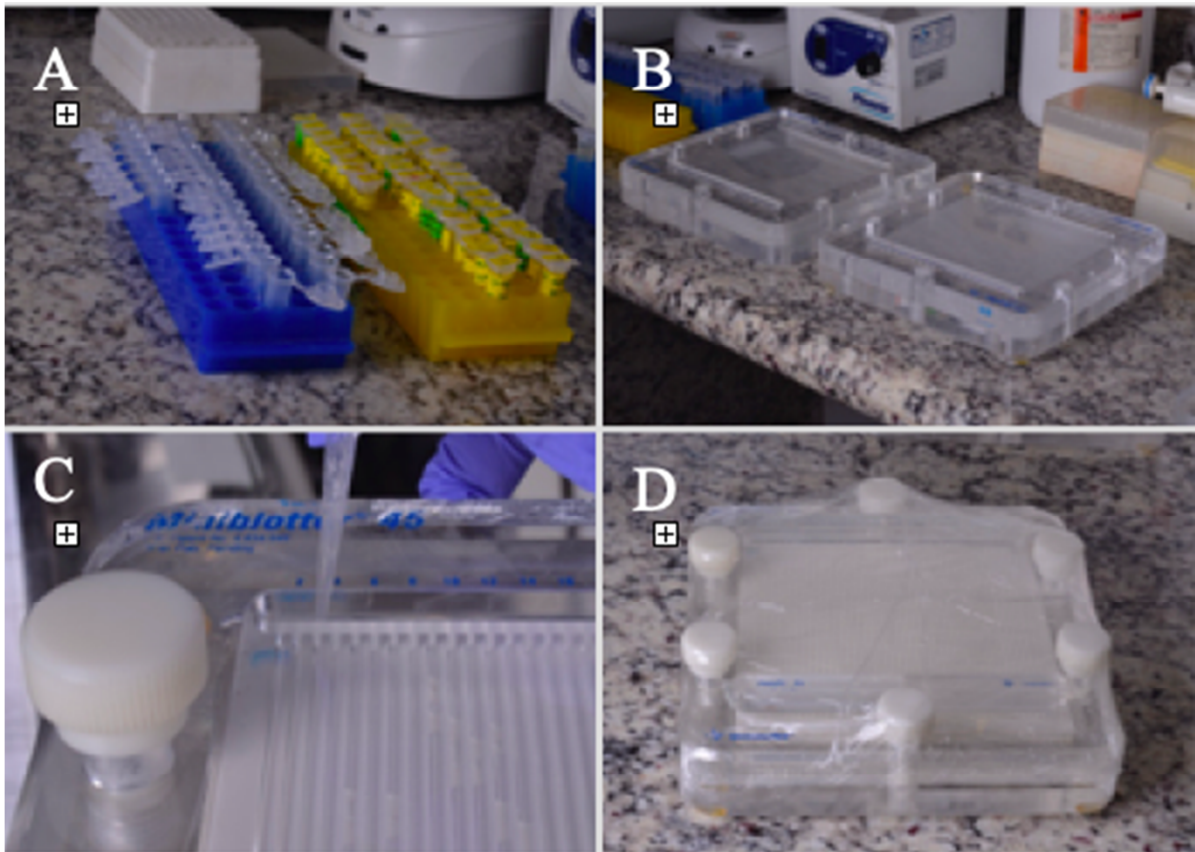
hibridização **C**: Solução de pré-hibridização homogênea; **D**: Membrana embalada em um invólucro de plástico; **E**: Aplicação da solução preparada sobre a membrana **F**: Espalhamento da solução na membrana **G**: Distribuição da solução na membrana; **H**: Fechamento das membranas no invólucro de plástico **I**: Pré-hibridização no forno específico em 63,5°C, durante 6 horas.



Fonte: Própria (2022)

Após esse período, a membrana foi posicionada no *Miniblotter* 45 (Immunitics, Cambridge, MA, EUA) (Figura 13B) de modo que as linhas com o DNA das amostras e dos padrões ficassem posicionadas perpendicularmente às canaletas do aparato. Então, 160 μ L de sonda genômica das 40 espécies-alvo foram depositadas no interior de cada canaleta (Figura 13C). Para evitar o ressecamento da membrana, o *Miniblotter* 45 foi embalada em filme de PVC e em saco plástico (Figura 13D). Nesse momento, uma nova reação de hibridização ocorreu, para isso, o conjunto foi levado ao forno de hibridização a 63,5°C, sob agitação controlada, por 16 horas (Figura 13D). No total, 8 membranas foram processadas.

Figura 13 - **A:** Sondas genômicas marcadas; **B:** A: *Miniblotter* 45 para aplicação das sondas genômicas marcadas; **C:** Sondas aplicadas individualmente nas canaletas do dispositivo; **D:** Embalagem do dispositivo e posicionamento para a reação de hibridização em forno a 63,5°C, durante 16 horas.



Fonte: Própria (2022)

Depois da hibridização, as membranas foram removidas e lavadas sob agitação vigorosa em um forno de hibridização para remover as sondas que não hibridizaram completamente. Duas lavagens iniciais de 30 minutos cada foram realizadas, a 67,5°C, com 500 mL de uma solução contendo Urea 2 M (Sigma Chemical Co.), Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) 0,1% (Sigma Chemical Co.), NaH₂PO₄ 50 mM (pH=7; Sigma Chemical Co.), NaCl 150 mM (Sigma Chemical Co.), MgCl₂ 1mM (Sigma Chemical Co.) e *Blocking Reagent* (GE

Heal-thcare). Posteriormente, foram feitas duas lavagens adicionais de 15 minutos, em temperatura ambiente, com 500 mL de uma solução contendo Tris 1 M (Sigma Chemical Co.), NaCl 2 M (Sigma Chemical Co.) e MgCl₂ 1M (Sigma Chemical Co.).

Em seguida, toda a superfície da membrana foi mantida em contato com 3 mL do reagente de detecção CDP-Star® (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido) por 30 minutos para que ocorresse a reação de quimioluminescência.

Em uma câmera escura, as membranas foram posicionadas individualmente sobre filmes de autorradiografia (HyperFilm, GE Healthcare), no interior de um cassete de autorradiografia (Hypercassete, Buckinghamshire, Reino Unido) (Figura 14). Depois de 1 hora, os filmes expostos foram revelados em soluções de processamento radiográfico convencional (Kodak, Rochester, NY, EUA). Dessa forma, foram obtidos 8 filmes autorradiográficos que evidenciaram os sinais positivos de hibridização.

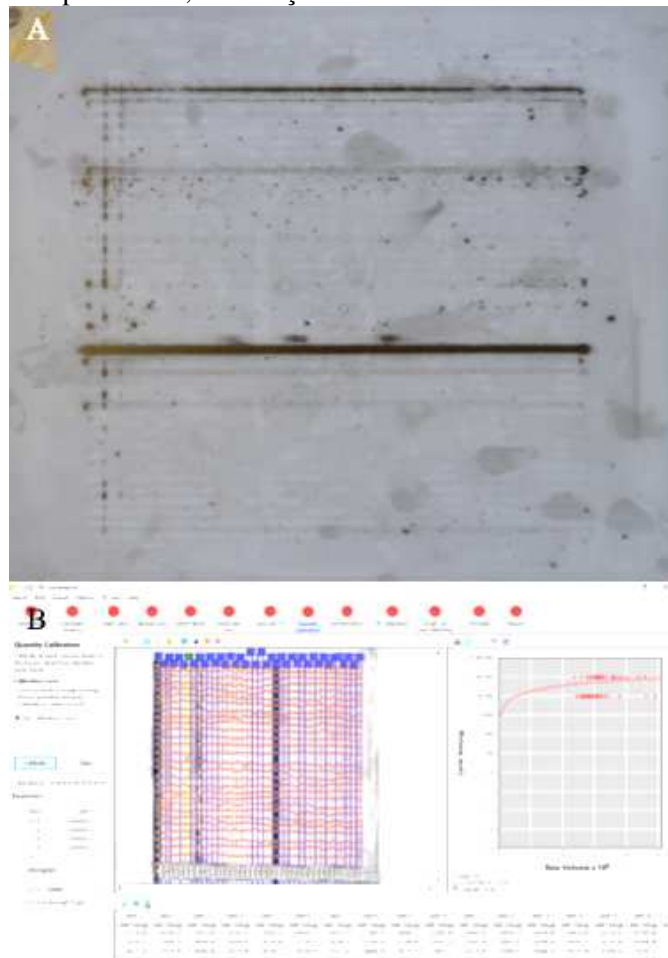
Figura 14 – Membrana posicionada no cassete de autorradiografia.



Fonte : Própria (2022)

Os filmes revelados foram fotografados (Figura 15A) e as imagens foram analisadas em software específico CLIQS 1D® (Totalab, Newcastle, Inglaterra) para determinar o número aproximado de microrganismos nas amostras avaliadas a partir da comparação da intensidade dos sinais de hibridização em relação aos padrões contendo 10⁵ e 10⁶ células das 40 espécies-alvo (Figura 15B).

Figura 15 - A: filmes autorradiográficos com os sinais de hibridização; **B:** Imagem da membrana vista no *software* CLIQS 1D® e Comparação de todos os sinais delimitados com os padrões contendo 10^5 e 10^6 células de cada espécie-alvo, e obtenção dos resultados.



Fonte: Própria (2022)

3.11 Análise dos Dados

Os dados da perda de torque foram submetidos à análise de normalidade e ao teste de homogeneidade de variância de um fator no software R PROJECT (The R Foundation, Viena, Áustria).

Os dados das contagens dos microrganismos foram submetidos a análise estatística do tipo Wald e a análise do tipo ANOVA no software R PROJECT (The R Foundation, Viena, Áustria). Nessa análise foi feita a comparação dos grupos com o mesmo tipo de conexão e com o mesmo tipo de pilares protéticos.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Perda de torque

A estatística descritiva para análise da perda de torque para cada um dos grupos está apresentada na tabela 3.

Tabela 3 - Estatística descritiva da perda de torque para os diferentes grupos (%)

	N	Média	Erro padrão	95% intervalo de confiança	
				Limite inferior	Limite superior
CM-PE	10	25,088	2,8420	18,658	31,517
CM-UCLA	9	37,932	6,6315	22,639	53,224
HE-UCLA	10	22,757	1,4267	19,529	25,984
HE-PP	10	22,480	2,0477	17,847	27,112
TRI-UCLA	10	32,7940	4,4763	22,667	42,920
TRI-PP	10	26,3270	5,3526	14,218	38,435

A tabela 4 apresenta a análise de variância para perda de torque entre os grupos estudados.

Tabela 4- ANOVA da perda de torque

	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	Sig
Entre os grupos	1805,626	5	361,125	2,166	0,072
Dentro do grupo	8835,903	53	166,715		
Total	10641,530	58			

É possível observar que não houve diferença estatística significativa para perda de torque ($p=0,072$) entre os diferentes grupos após a ciclagem termomecânica.

4.2 Avaliação da contagem de microrganismos na interface implante/pilar

A tabela 5 apresenta a estatística descritiva da contagem de microrganismos na interface implante/pilar dos 6 grupos avaliados pela técnica de hibridização Checkerboard DNA-DNA.

Tabela 5. Estatística descritiva da contagem de microrganismos na interface implante/pilar para os diferentes grupos.

Grupo		Min	1º Quartil	Mediana	Média	3º Quartil	Max.	NA's
CM-PE	Ciclagem Termomecânica	98371	129469	157781	186499	199948	1628827	2585
	Ciclagem Térmica	99421	123805	162969	287124	197077	1718710	2825
CM-UCLA	Ciclagem Termomecânica	88439	139919	146321	161842	161429	1281879	2585
	Ciclagem Térmica	89784	137390	146442	175713	183373	1770503	2825
HE-UCLA	Ciclagem Termomecânica	86398	92474	96517	122001	136941	653536	2585
	Ciclagem Térmica	86857	91313	95889	121814	137283	307805	2825
HE-PP	Ciclagem Termomecânica	68303	108885	133070	228794	191947	1250634	2585
	Ciclagem Térmica	72599	112560	142647	205956	183968	952347	2825
TRI-UCLA	Ciclagem Termomecânica	36633	56780	62982	70546	80531	477530	2585
	Ciclagem Térmica	37018	55401	61628	70300	79335	499896	2825
TRI-PP	Ciclagem Termomecânica	92671	109582	113230	114996	116362	248442	2585
	Ciclagem Térmica	93538	107763	111157	114475	115660	228617	2825

Para as amostras que foram submetidas a ciclagem termomecânica, as contagens mais altas da mediana foram registradas para as amostras CM-PE (157781). Já a mediana com a contagem mais baixa foi registrada para as amostras TRI-UCLA (62982).

De modo semelhante, para as amostras submetidas à ciclagem térmica, as contagens mais altas da mediana foram registradas para as amostras CM-PE (162969). Já a mediana com a contagem mais baixa foi registrada para as amostras TRI-UCLA (61628).

A tabela 6 apresenta o teste de Wald e, de forma confirmatória, o teste ANOVA, avaliando os grupos CM-PE, CM-UCLA, HE-UCLA, HE-PP, TRI-UCLA e TRI-PP.

Tabela 6 - Análise estatística do tipo Wald (WTS) e do tipo ANOVA (ATS) para avaliação dos diferentes grupos.

	Média por postos	Efeito relativo do tratamento (RTE)	Estatística do tipo Wald (WTS) e Estatística do tipo ANOVA (ATS)		
			Estatística	Grau de liberdade	Valor <i>p</i>
Ciclagem Termomecânica CM-PE	422,107	0,527	8,77	1	0,003
Ciclagem Termomecânica CM-UCLA	378,892	0,472			
Ciclagem Térmica CM-PE	402,632	0,502	1,146	1	0,284
Ciclagem Térmica CM-UCLA	398,367	0,497			
Ciclagem Termomecânica HE-UCLA	296,725	0,370	207,937	1	3,870e-47
Ciclagem Termomecânica HE-PP	504,275	0,629			
Ciclagem Térmica HE-UCLA	384,51	0,480	63,096	1	1,968e-15
Ciclagem Térmica HE-PP	416,49	0,519			
Ciclagem Termodinâmica TRI-UCLA	219,332	0,273	1131,603	1	4,469e-248
Ciclagem Termodinâmica TRI-PP	581,667	0,726			
Ciclagem Térmica TRI-UCLA	372,167	0,464	160,9581	1	6,987e-37
Ciclagem Térmica TRI-PP	428,832	0,535			

Na tabela é possível observar que houve diferença estatística para os grupos com conexão interna do tipo Cone Morse com diferentes pilares ($p=0.003$) após a ciclagem termomecânica, sendo que o grupo CM-PE apresentou os maiores valores de contaminação (157781). Porém, para os mesmos grupos após a ciclagem térmica, não houve diferença estatística ($p=0.284$).

Por sua vez, os grupos com conexão do tipo HE apresentaram diferenças estatísticas para os grupos submetidos a ciclagem termomecânica ($3.870e-47$). Nessa situação, a mediana do grupo HE-PP apresentou os maiores valores de contaminação (133070). Para os mesmos

grupos submetidos à ciclagem térmica, também houve diferença estatisticamente significativa (1.968e-15). Da mesma maneira, a mediana do grupo HE-PP apresentou os maiores valores de contaminação (133070).

Além disso, os grupos com conexão Tri canal apresentaram diferenças estatísticas significativas para os grupos submetidos a ciclagem termomecânica (4.469e-248), sendo o que o grupo TRI-PP apresentou os maiores valores de contaminação (113230). Para o grupo submetido à ciclagem térmica, também houve diferença estatisticamente significativa (6.987e-37). De forma semelhante, a mediana do grupo TRI-PP apresentou os maiores valores de contaminação (111157).

A tabela 7, apresenta uma análise estatística do tipo Wald (WTS) e, de forma confirmatória, o teste ANOVA (ATS), avaliando as diferentes conexões com o mesmo tipo de pilar (UCLA).

Tabela 7 - Análise estatística do tipo Wald (WTS) e do tipo ANOVA (ATS) para avaliação dos grupos CM-UCLA, HE-UCLA e TRI-UCLA.

Grupos	Média por postos	Efeito relativo do tratamento (RTE)	Estatística do tipo Wald (WTS)			Estatística do tipo ANOVA (ATS)		
			Estatística	Grau de liberdade	Valor P	Estatística	Grau de liberdade	Valor P
Ciclagem Termomecânica CM-UCLA	910.357	0.758						
Ciclagem Termomecânica HE-UCLA	643.135	0.535	250.998	2	0	1102.411	1.9	0
Ciclagem Termomecânica TRI-UCLA	248.007	0.206						
Ciclagem Térmica CM-UCLA	336.806	0.7						
Ciclagem Térmica HE-UCLA	178.801	0.371	164.128	2	2.291e-36	78.788	1.836	12.516e-32
Ciclagem Térmica TRI-UCLA	205.881	0.427						

Quando comparadas os três tipos de conexões com o mesmo pilar submetidas a ciclagem termomecânica, a contagem mais alta foi registrada para o grupo CM-UCLA e a contagem mais baixa para TRI-UCLA. Verifica-se que a diferença na contagem bacteriana, entre os diferentes tipos de conexão protética, foi significativa. Já quando comparadas os três tipos de conexões com o mesmo pilar submetidos à ciclagem térmica, a contagem mais alta foi registrada para o grupo CM-UCLA e a contagem mais baixa para o grupo HE-UCLA. Verifica-se que a diferença na contagem bacteriana, entre os diferentes tipos de conexão protética, foi significativa.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Esse estudo laboratorial avaliou a perda de torque e a contagem de microrganismos no interior de implantes de diferentes conexões após ciclagem termomecânica e térmica.

A realização desse estudo justifica-se pelo fato de não existir um consenso na literatura, sobre qual o tipo de conexão protética apresenta menor infiltração bacteriana ao comparar implantes nacionais. Esses resultados podem contribuir para melhor entendimento do tema, com o intuito de promover a saúde dos tecidos peri-implantares em longo prazo, visto que a principal causa das perdas tardias em implantes dentários está associada à contaminação bacteriana na interface implante/pilar (Lauritano *et al.* 2020; Sasada *et al.* 2017; Carinci *et al.* 2016; Lopez *et al.* 2016).

A hipótese nula testada neste estudo foi parcialmente rejeitada, pois não houve diferença significativa entre a perda de torque depois da ciclagem termomecânica, mas houve diferença significativa na contagem de microrganismos na maioria das interfaces implante/pilar dos grupos estudados, tanto em condições estáticas (após ciclagem térmica) quanto após testes termomecânicos.

Com relação ao torque, todos os grupos apresentaram perda após os ciclos termomecânicos. Entretanto, ao comparar a perda de torque entre os grupos não existiram diferenças significativas.

A literatura mostra que uma das complicações mais frequentes dos implantes dentários é a perda de torque do parafuso do pilar (Alsubaiy *et al.* 2020). Dixon *et al.* (1995) reportaram porcentagem de perda de torque entre 16.1% e 25%. Entretanto, Jorge *et al.* (2013) demonstraram perda entre 19.7% e 39%.

Ainda não há um consenso sobre a relação entre o tipo de conexão e a perda de torque. Alguns estudos *in vitro* demonstram que a performance das conexões internas é melhor que a das conexões externas (Park *et al.* 2010, Jorge *et al.* 2013; Feitosa *et al.* 2013). Outros autores afirmam que os implantes com conexões externas apresentam melhor manutenção do torque do parafuso do pilar (Ha *et al.* 2011; Kim *et al.* 2014; Shin *et al.* 2014). E, existem também outros estudos que não verificaram relação entre o tipo de conexão e a perda de torque, o que coincide com os resultados deste estudo.

A perda de torque pode estar relacionada a diversos fatores, como o material, o desenho do parafuso, o tipo de pilar, o efeito de assentamento, e as cargas internas (Piermatti *et al.* 2006; Tsuge *et al.* 2008; Coppedê *et al.* 2013; Pardal-Pelaez *et al.* 2017).

Em 2017, Pardal-Pelaez *et al.* realizaram uma revisão sistemática, na qual foram avaliados 10 estudos que testaram implantes com parafusos de diferentes conexões, materiais e desenhos com torques entre 20 a 45 Ncm. Nesses estudos, os implantes foram submetidos a ciclos entre 16667 a 1 milhão com forças aplicadas de 0 a 400 N, de forma estática e com deslocamento, e com angulações de 0°, 15°, 17°, 25° e 30°. Os resultados mostraram que após a ciclagem a porcentagem de perda de torque variou entre 16.1% a 39%, o que coincide com os resultados obtidos nesta pesquisa.

As variações nos resultados deste estudo e dos estudos anteriores podem ser explicadas pelas diferentes metodologias aplicadas. Pois diferenças nos números de ciclos, na carga, nas angulações de aplicação de carga, nos desenhos do parafuso e no torque aplicado podem influenciar nos dados obtidos.

Especificamente, neste estudo, foi utilizada metodologia com vários fatores que simulam os processos de mastigação. O uso de cargas paralelas ao longo eixo do implante com movimentos laterais da mesa do equipamento consegue simular os movimentos cêntricos e excêntricos que ocorrem durante a trituração dos alimentos. Além disso, as variações de temperatura replicam de forma próxima as diferentes mudanças que acontecem na boca quando são ingeridas bebidas quentes e frias.

Em relação aos dados microbiológicos, todos os conjuntos implante/pilar estudados tiveram contagem de microrganismos no interior da conexão protética. Tanto para o grupo submetidos a ciclagem termomecânica, quanto para os grupos submetidos a ciclagem térmica.

Estes resultados coincidem com a literatura científica. Existem autores que apresentaram estudos *in vitro* que demonstraram colonização de microrganismos na conexão interna dos implantes através da interface implante/pilar em condições estáticas (Do Nascimento et al. 2008; Do Nascimento et al. 2009; Proff et al. 2005; Duarte et al. 2006; Do Nascimento et al. 2011). Além disso, outros autores observaram colonização em condições dinâmicas (Steinebrunner et al. 2005; Amjadi et al 2021) e em pesquisas *in vivo* (Callan et al. 2005; Cosyn et al. 2011).

Adicionalmente, estes resultados são justificados por outros autores que descrevem que os sistemas de implantes de duas peças apresentam micro espaços entre o implante e o conector protético independente do tipo de conexão (Teixeira et al., 2011; Passos et al., 2013; Do Nascimento et al., 2015; Bittencourt et al. 2021).

Do Nascimento et al. (2015), afirmaram que esses microespaços não podem ser maiores do que 120 µm, pois o tamanho médio dos microrganismos da cavidade oral é dentre 1,1 a 1,5 µm de diâmetro e de 2 a 6 µm de comprimento.

Como as pré-cargas menores do que os valores recomendados pelos fabricantes podem resultar na infiltração de microrganismos no interior do implante (Gratton *et al.* 2001), a contaminação de microrganismos apresentada em todos os grupos pode estar relacionada à perda de torque após ciclagem.

Nos resultados, a mediana dos grupos com conjuntos implante/pilar CM-PE registraram maiores contagens de microrganismos e os grupos com os conjuntos implante/pilar TRI-UCLA registraram os menores valores.

Lauritano *et al.* (2020) fizeram uma revisão narrativa que avaliaram a colonização de microrganismo nos diferentes tipos de conexões implante/pilar. Dentre os artigos selecionados, alguns constataram resultados favoráveis para os implantes com conexão cônica pois demonstraram superioridade com relação à performance de selamento implante/pilar, à formação do microgap, à manutenção do torque e à estabilidade do pilar.

De maneira semelhante, a maioria dos artigos científicos concluem que os implantes do tipo cone morse apresentam menor infiltração de microrganismos (Khraisat *et al.* 2004; Resende *et al.* 2015; Guerra *et al.* 2016; Gehrke *et al.* 2017). Entretanto, neste estudo, um achado interessante foi verificado, visto que os grupos com os implantes do tipo cone morse apresentaram a maior contagem de microrganismos.

Esse resultado, possivelmente, ocorreu devido à perda de torque apresentada, o que pode ter aumentado o tamanho do microgap e, com as forças termomecânicas, foram gerados micromovimentos que promoveram um efeito bomba (Do inglês “*pump effect*”). Este fenômeno de infiltração é explicado pelo efeito das forças oclusais que é criado quando a junção implante/pilar apresenta micro movimentos e modificações no tamanho do micro gap, o que favorece a entrada de microrganismos no interior da interface (Siadat *et al.* 2016; Do Nascimento *et al.* 2011; Do Nascimento *et al.* 2012). Mesmo que o efeito bomba pode ter ocorrido em todos os grupos, as características das conexões cônicas podem ter favorecido o aprisionamento de microrganismos, quando comparado com as conexões de hexágono externo e trichannel, as quais, podem permitir um fluxo de entrada e saída dos microrganismos na interface implante/pilar, o que resultou em menor contagem.

Além disso, alguns autores têm reportado altos índices de *S aureus* nos implantes com conexões cônicas pelas características de tamanho e motilidade (Texeira *et al.* 2011; Ellakany *et al.* 2021). Mesmo que nesse estudo não foi feita a contagem individual dos microrganismos, uma possível justificativa para esse resultado, seria uma alta quantidade deste tipo de bactérias na saliva e nos implantes.

Com relação aos implantes de conexão trichanel, ainda existe pouca literatura científica que estude a microfiltração bacteriana de implantes com este tipo de conexão. Porém, a literatura existente, apresenta resultados contraditórios com relação à infiltração de microrganismos. Enquanto Steinebrunner et al. (2005) mostraram maior infiltração de microrganismos quando comparada com outros 4 sistemas de implantes, Kushali et al. (2022), mostraram menor microfiltração quando comparada com conexões cônicas, cônicas com três estrias e octogonais. Nos resultados obtidos neste estudo, os implantes com a conexão do tipo trichanel apresentaram a menor contagem de microrganismos. Esses resultados podem estar justificados porque este tipo de conexão de precisão apresenta um formato específico que pode diminuir os micromovimentos e o efeito bomba, reduzindo assim, a entrada de microrganismos no interior da interface implante/pilar.

Nas comparações entre os grupos com os mesmos tipos de conexão protética, os únicos que não tiveram diferença significativa foram os grupos CM-PE e CM-UCLA quando submetidos a ciclagem térmica. Porém, após a ciclagem termomecânica, houve diferença estatística significativa. Além disso, os grupos HE-UCLA e HE-PP, e TRI-UCLA e TRI-PP tiveram diferenças significativas tanto após os testes termomecânicos, quanto após os testes térmicos.

A revisão sistemática de Mishra et al. (2017), a qual avaliou a microfiltração em diferentes tipos de interface implante/pilar que foram submetidas a ciclagem térmica e termomecânica, apresentou resultados coincidentes com os dessa pesquisa, pois as maiores contagens de microrganismos foram as dos grupos que receberam cargas dinâmicas. A contaminação de todos os grupos está justificada pela presença do microgap na interface implante/pilar. Entretanto, existe maior presença de microrganismos nos corpos submetidos a ciclagem termomecânica pelo efeito bomba.

Além disso, alguns autores têm demonstrado que as diferenças no tamanho dos microgaps estão relacionadas com o tipo de material do pilar e com métodos de confecção (Kano et al. 2007; Oyagüe et al. 2009; Tiozzi et al. 2008; Pereira et al. 2017). Neste estudo, todos os pilares utilizados foram pré-fabricados, sendo que o material utilizado para confecção dos PP e os PE foi titânio e o material dos pilares do tipo UCLA foi cobalto-cromo.

A maior parte da literatura científica disponível, compara os diferentes tipos de desadaptação da conexão implante/pilar de pilares que passaram por processos de fundição e de pilares pré-fabricados (Kano et al. 2007; Molinero-Mourelle et al. 2021; de Vasconcelos et al. 2022). Entretanto, não existe literatura comparando essa variável com diferentes tipos de pilares pré-fabricados.

Nesta pesquisa, os pilares UCLA de cobalto cromo, quando comparados aos pilares de titânio, apresentaram menores valores de contagem de microrganismos. Esses resultados podem ser explicados ao levar em consideração que os pilares de titânio utilizados neste estudo, tinham maior altura quando comparados aos pilares de cobalto cromo. Isso, pode gerar maior braço de alavanca e promover maior micromovimentação do pilar ao receber as forças aplicadas.

Nas comparações entre os grupos com o mesmo tipo de pilar, a mediana dos conjuntos implante/pilar registraram maiores contagens de microrganismos para CM-UCLA e os grupos com os conjuntos implante/pilar TRI-UCLA registraram os menores valores. Esses valores tiveram diferenças significativas tanto após os testes termomecânicos, como após os testes térmicos.

Pouca literatura existente avalia a infiltração de microrganismo com pilares do tipo UCLA. Ramos et al. (2014), estudaram a capacidade de selamento e o ajuste da interface implante/pilar em diferentes marcas de implantes com conexão do tipo HE e com e sem pilares UCLA pré-fabricados. Mesmo nos implantes com bases pré-fabricadas de cobalto cromo, nenhum tipo de sistema apresentou selamento. Além disso, todas as interfaces implante/pilar apresentaram microgap.

Os resultados desta pesquisa foram coincidentes com a ausência de selamento dos pilares do tipo UCLA nos implantes do tipo HE e nos outros tipos de conexões avaliadas.

É importante mencionar que estudos anteriores que avaliaram a microfiltração de microrganismo na interface implante/pilar estavam restritos a algumas bactérias específicas (Barbosa et al. 2009; Do Nascimento et al. 2009; Callan et al. 2005; Cosyn et al. 2011). Neste estudo foi utilizado saliva humana para simular de forma mais similar o ambiente da cavidade oral como introduzido por Do Nascimento et al. (2011).

Entretanto, uma das limitações deste estudo é que a saliva utilizada neste estudo não foi suplementada, o que pode gerar diferenças na proliferação de microrganismos quando comparada ao meio bucal. Isso ocorre pela degradação do DNA do microrganismo associado a enzimas proteolíticas e/ou endonucleasas (Cowman & Baron 1993; Cascales et al. 2007). Mesmo avaliando as amostras 7 dias depois da incubação na saliva humana, a morte celular pode ter acontecido em pequenos níveis por uma insuficiência de nutrientes.

Também, é importante levar em consideração que a técnica de hibridização *Checkerboard* DNA- DNA pode detectar determinadas espécies alvos no estudo que tiveram suas sondas preparadas a partir do DNA (Socransky et al., 2004). Dessa forma, as espécies não-cultiváveis ou sem o genoma determinado não podem ser detectadas por este método.

Técnicas moleculares baseadas no sequenciamento do gene 16S podem apresentar informações complementares sobre a contaminação de microrganismos na interface implante/pilar (Nascimento et al., 2016; De Freitas et al., 2018). Além disso, na técnica *Checkerboard* DNA-DNA, as sondas de DNA são construídas usando todo o genoma da espécie-alvo, o que pode aumentar a probabilidade de reações cruzadas entre espécies relacionadas. Também, existe a possibilidade de ligações inespecíficas do reagente de marcação das sondas com outras macromoléculas quando a proporção de DNA é baixa (Socransky et al., 2004).

Outra limitação deste estudo está associada à ausência de microscopia e/ou microtomografia para quantificar o gap horizontal e vertical entre as diferentes conexões dos implantes e pilares utilizados. Também é importante mencionar que este estudo avaliou uma única marca de implantes, portanto os resultados estão limitados a um mesmo sistema.

Atualmente, os estudos científicos não fornecem conclusões definitivas sob qual é o tipo de conexão que apresenta menor vedamento microbiano. Segundo Lauritano et al (2020), os estudos laboratoriais mostram resultados conflitantes devido às variações entre os modelos experimentais, técnicas de avaliação microbiológica e diferenças entre as marcas de implantes dentários.

Portanto, novas pesquisas que comparem diferentes tipos de marcas com as diversas conexões e pilares do ponto de vista da perda de torque e da contagem de microrganismos, podem contribuir para o entendimento do tema, para assim, ser possível compreender e prevenir a perda tardia dos implantes dentários.

Adicionalmente, os pesquisadores e as empresas que desenvolvem implantes dentários devem tentar diminuir o microgap e as micromovimentações presentes na interface implante/pilar. Isso pode ser feito melhorando o ajuste entre as peças e desenvolvendo conexões que apresentem menores desadaptações. Outra alternativa, é estudar materiais com propriedades antimicrobianas para recobrir a interface implante/pilar para controlar a colonização bacteriana nessa região.

Os resultados obtidos neste estudo não devem ser generalizados, entretanto, trazem informações complementares para melhor entendimento do assunto. Ao levar em consideração que as condições orais de carga e mudanças térmicas depois de certo tempo podem gerar perda de torque no parafuso de retenção, em qualquer tipo de conexão protética, seria interessante reapertar periodicamente as peças para evitar pré-cargas menores do que os valores recomendadas pelos fabricantes. Isso poderia evitar a entrada dos microrganismos na interface implante/pilar. Além disso, deve-se destacar a importância do ajuste da conexão

implante/pilar e os materiais dos componentes, pois esses fatores são determinantes para conseguir a melhor adaptação possível (Karl & Irastorza-Landa, 2018). A seleção de conexões de precisão e pilares pré-fabricados com materiais adequados diminuirá os espaços do microgap e a micromovimentação diante das forças presentes na cavidade oral. Dessa maneira, pode-se diminuir a infiltração de microrganismos no interior da interface implante/pilar. Segundo a literatura científica atual (Ellakany et al. 2021; do Nascimento et al. 2019; Dias et al. 2018) e os resultados desta pesquisa, não existe nenhum tipo de sistema de duas peças com total vedamento de microrganismos. Entretanto, a conexão do tipo trichanel com pilares adequados parece ser promissora por apresentar menores contagens de microrganismos quando comparada com conexões do tipo Cone Morse e Hexágono externo.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Dentro das limitações deste estudo *in vitro* e de acordo com os resultados obtidos, é possível concluir que todos os grupos apresentaram perda do torque após da ciclagem termomecânica. Entretanto, não houve diferença significativa nos diferentes grupos analisados.

Com relação a passagem de microorganismos, todos os grupos estudados apresentaram contaminação. Na contagem de microrganismos, houve diferença significativa entre a quantidade de microorganismos no interior dos implantes com a mesma conexão protética após ciclagem termomecânica. Além disso, houve diferença significativa entre a quantidade de microorganismos no interior dos implantes de diferentes conexões protéticas com o mesmo tipo de pilar após ciclagem termomecânica. Os implantes de conexões TRI apresentaram quantidades inferiores de microrganismos no interior dos implantes quando comparadas a conexões do tipo CM e HE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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;10:387–416.
2. AEN/CTN 106- Dentistry. Norm ISO 14801. Dynamic fatigue test for endosseous dental implants. 2008.
3. Afrashtehfar KI, Afrashtehfar CD. Lack of association between overload and peri-implant tissue loss in healthy conditions. *Evid Based Dent.* 2016;17(3):92-93.
4. Akour SN, Fayyad MA, Nayfeh JF. Finite element analyses of two antirational design of implant fixtures. *Implant Dentistry.* 2005;14(1):77-81.
5. Albayrak H, Gumus HO, Tasdemir Z. Does abutment preparation affect abutment screw joint stability? An in vitro study. *The Journal of Prosthetic Dentistry.* 2021;125(3):500.
6. Al Jabbari YS, Fournelle RA, Zinelis S, Iacopino AM. Biotribological behavior of two retrieved implant abutment screws after long-term use in vivo. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2012;27(6):1475-1480.
7. Al-Sahan MM, Al Maflehi NS, Akeel RF. The influence of tightening sequence and method on screw preload in implant superstructures. *International Journal of Prosthodontics.* 2014;27(1):76-79.
8. Al-Otaibi HN, Almutairi A, Alfarraj J, Algesadi W. The effect of torque application technique on screw preload of implant-supported prostheses. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2017;32(2):259-263.
9. Albrektsson T, Zarb GA, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1986;1(1):11-25.
10. Albrektsson T, Zarb GA. Current Interpretations of the Osseointegrated Response: Clinical Significance. *International Journal of Prosthodontics.* 1993;6(2):95-105.
11. Albrektsson T, Buser D, Chen ST, Cochran D, DeBruyn H, Jemt T, et al. Statements from the Estepona Consensus Meeting on Peri-implantitis. *Clinical Implant Dentistry and Related Research.* 2012;14(6):781-782.
12. Albrektsson T, Buser D, Sennerby L. Crestal. Bone Loss and Oral Implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research.* 2012;14(6):783-91.
13. Albrektsson T, Chrcanovic B, Östman PO, Sennerby L. Initial and long-term crestal bone responses to modern dental implants. *Periodontology 2000.* 2017;73(1):41-50.
14. Alonso-Pérez R, Bartolomé JF, Pradiés G. Original vs compatible stock abutment-implant connection: an in vitro analysis of the internal accuracy and mechanical fatigue behaviour. *Journal of Prosthodontic Research.* 2022;66(3):476-483.

15. Alshehri M, Albaqiah H. Antimicrobial Efficacy of Materials Used for Sealing the Implant Abutment Screw Hole: An In Vitro Evaluation. *Implant Dent.* 2017;26(6):911-914.
16. Alsubaiy E. Abutment screw loosening in implants: A literature review. *Journal of Family Medicine & Primary Care.* 2020;9(11):5490-5494.
17. Al-Turki LE, Chai J, Lautenschlager EP, Hutten MC. Changes in prosthetic screw stability because of misfit of implant-supported prostheses. *Int J Prosthodont.* 2002;15(1):38-42.
18. Amjadi M, Khajavi A, Youssefi N, Barjini N, Kazemi Z. The effect of dynamic loading on bacterial microleakage of the dental implant fixture-abutment interface: An in vitro study. *J Indian Prosthodont Soc.* 2021;21(4):420-424.
19. Assunção WG, Barão VAR, Delben JA, Gomes EA, Garcia IR. Effect of unilateral misfit on preload of retention screws of implant-supported prostheses submitted to mechanical cycling. *Journal of Prosthodontic Research.* 2011;55(1):12-18.
20. Ayllón JM, Navarro C, Vázquez J, Domínguez J. Fatigue life estimation in dental implants. *Engineering Fracture Mechanics.* 2014;123:34-43.
21. Bacchi A, Regalin A, Bhering CLB, Alessandretti R, Spazzin AO. Loosening torque of Universal Abutment screws after cyclic loading: influence of tightening technique and screw coating. *The Journal of Advanced Prosthodontics.* 2015;7(5):375-379.
22. Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF, Oliveira VC, Nascimento CD, Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. Clinical trial for evaluation of *Ricinus communis* and sodium hypochlorite as denture cleanser. *J Appl Oral Sci.* 2017;25(3):324-334.
23. Baggi L, Cappelloni I, Girolamo MD, Maceri F, Vairo G. The influence of implant diameter and length on stress distribution of osseointegrated implants related to crestal bone geometry: A threedimensional finite element analysis. *The Journal of Prosthetic Dentistry.* 2008;100(6):422-31.
24. Barbosa GAS, Bernardes SR, Neves FD, Fernandes Neto AJ, Mattos MdGCdM, Ribeiro RF. Relation between implant/abutment vertical misfit and torque loss of abutment screws. *Braz Dent J.* 2008;19(4):358-363.
25. 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.
26. Bernardes SR, Mattos MdGCdM, Hobkirk J, Ribeiro RF. Loss of preload in screwed implant joints as a function of time and tightening/untightening sequences. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implantes.* 2014;29(1):89-96.
27. Binon PP, McHugh MJ. The effect of eliminating implant/abutment rotational misfit on screw joint stability. *Int J Prosthodont.* 1996;9(6):511-9.

28. Binon PP. Implants and components: entering the new millennium. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2000;15(1):76-95.
29. Bittencourt ABBC, Melo Neto CLdM, Penitente PA, Pellizer EP, dos Santos DM, Goiato MC. Comparison of the Morse Cone Connection with the Internal Hexagon and External Hexagon Connections Based on Microleakage – Review. *Prague Medical Report*. 2021;122(3):181-190.
30. Bordin D, Witek L, Fardin VP, Bonfante EA, Coelho PG. Fatigue Failure of Narrow Implants with Different Implant-Abutment Connection Designs. *Journal of Prosthodontics*. 2018;27(7):659-64.
31. Borie E, Orsi IA, Noritomi PY, Kemmoku DT. Three-Dimensional Finite Element Analysis of the Biomechanical Behaviors of Implants with Different Connections, Lengths, and Diameters Placed in the Maxillary Anterior Region. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016; 31(1):101-10.
32. Bozkaya D, Müftü S. Mechanics of the taper integrated screwed-in (TIS) abutments used in dental implants. 2005;38(1):87-97.
33. Brånemark PI. Vital microscopy of bone marrow in rabbit. *Scand J Clin Lab Invest*. 1959;11(Suppl.38):1-82.
34. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1977;16(Suppl):1–132.
35. Brånemark PI. Osseointegration and its experimental studies. *J Prosthet Dent*. 1983;50:399-410.
36. Breeding LC, Dixon DL, Nelson EW, Tietge JD. Torque required to loosen single-tooth implant abutment screws before and after simulated function. *International Journal of Prosthodontics*. 1993;6(5):435-439.
37. Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK, Buser D, Mellonig JT, Cochran DL. Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *J Dent Res*. 2003;82(3):232-7.
38. Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, et al. Peri-implant Inflammation Defined by the Implant-Abutment Interface. *Journal of Dental Research*. 2006;85(5):473-8.
39. Bulaqi HA, Mousavi Mashhadi M, Safari H, Samandari MM, Geramipناه F. Effect of increased crown height on stress distribution in short dental implant components and their surrounding bone: A finite element analysis. *J Prosthet Dent*. 2015 Jun;113(6):548-57.
40. Buser D, Martin W, Belser UC. Optimizing Esthetics for Implant Restorations in the Anterior Maxilla: Anatomic and Surgical Considerations. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2004;19(7):43-61.

41. Buser D, Chappuis V, Belser UC, Chen S. Implant placement post extraction in esthetic single tooth sites: when immediate, when early, when late? *Periodontol.* 2017;73(1):84-102.
42. 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;76:115–120.
43. Carinci F, Lauritano D, Cura F, Lopez MA, Bassi MA, Confalone L, Pezzetti F. Prevention of bacterial leakage at implant-abutment connection level: An in vitro study of the efficacy of three different implant systems. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2016;30(Suppl. 1):69–73.
44. Cascales E, Buchanan SK, Duché D, Kleanthous C, Lloubés R, Postle K et al. Colicin biology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 2007;71:158–229.
45. Ceruso FM, Barnaba P, Mazzoleni S, Ottria L, Gargari M, Zuccon A, Bruno G, Di Fiore A. Implant-abutment connections on single crowns: a systematic review. *Oral Implantol.* 2017;10:349–353.
46. Cerutti-Kopplin D, Rodrigues Neto DJ, do Valle AL, Pereira JR. Influence of reverse torque values in abutments with or without internal hexagon indexes. *The Journal of Prosthetic Dentistry.* 2014;112(4):824-827.
47. Chambrone L, Chambrone L, Lima LAPA. Effects of occlusal overload on peri-implant tissue health: a systematic review of animal-model studies. *Journal of Periodontology.* 2010;81(10):1367-1378.
48. Chang M, Wennström JL, Ödman P, Andersson B. Implant supported single-tooth replacements compared to contralateral natural teeth. Crown and soft tissue dimensions. *Clinical Oral Implants Research.* 1999;10(3):185-94.
49. Charalampakis G, Belibasakis GN. Microbiome of peri-implant infections: lessons from conventional, molecular and metagenomic analyses. *Virulence.* 2015;6(3):183-7.
50. Chun HJ, Cheong SY, Han JH, Heo SJ, Chung JP, Rhyu IC, Choi YC, Baik HK, Ku Y, Kim MH. Evaluation of design parameters of osseointegrated dental implants using finite element analysis. *Journal of Oral Rehabilitation.* 2002;29(6):565-74.
51. 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):286-295.
52. Coppedê AR, Bersani E, Mattos MdGdC, Rodrigues RCS, Sartoti IAM, Ribeiro RF. Fracture resistance of the implant-abutment connection in implants with internal hex and internal conical connections under oblique compressive loading: An in vitro study. *Int J Prosthodont.* 2009;33(3):283–286.
53. Coppedê AR, Faria ACL, Mattos MdGCd, Rodrigues RCS, Jamil Awad S, Ribeiro RF. Mechanical Comparison of Experimental Conical-Head Abutment Screws with Conventional Flat-Head Abutment Screws for External-Hex and Internal Tri-Channel

- Implant Connections: An In Vitro Evaluation of Loosening Torque. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2013;28(6):321-9.
54. Corey R, Zeltner M, Özcan M. Fracture strength of implant abutments after fatigue testing: A systematic review and a meta-analysis. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2016;52:333-345.
 55. 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;13:286–295.
 56. Cowman RA, Baron SS. Comparison of aminopeptidase activities in four strains of mutants group oral streptococci. *Infection and Immunity*. 1993;61:182–186.
 57. Delben JA, Barão VARB, dos Santos PH, Assunção WG. Influence of abutment type and esthetic veneering on preload maintenance of abutment screw of implant-supported crowns. *Journal of Prosthodontics*. 2014;23(2):134-139.
 58. Degidi M, Nardi D, Piattelli A. One abutment at one time: non-removal of an immediate abutment and its effect on bone healing around subcrestal tapered implants. *Clinical Oral Implants Research*. 2011;22(11):1303-7.
 59. De Freitas AR, Silva TSd, Ribeiro RF, Albuquerque Junior RF, Pedrazzi V, do Nascimento C. Oral bacterial colonization on dental implants restored with titanium or zirconia abutments: 6-month follow-up. *Clin Oral Invest*. 2018;22:2335–2343.
 60. De Miranda RG, Colombo APV. Clinical and microbiological effectiveness of photodynamic therapy on primary endodontic infections: a 6-month randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2018;22(4):1751-1761.
 61. De Oliveira Silva TS, Alencar SMM, Valente VS, de Moura CDVS. Effect of internal hexagonal index on removal torque and tensile removal force of different Morse taper connection abutments. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2017;117(5):621-627.
 62. De Santis D, Cucchi A, Rigoni G, Longhi C, Nocini PF. Relationship Between Primary Stability and Crestal Bone Loss of Implants Placed with High Insertion Torque: A 3-Year Prospective Study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2016;31(5):1126-34.
 63. De Souza RF, Nascimento C, Regis RR, Silva-Lovato CH, Paranhos HF. Effects of the domestic use of a disclosing solution on the denture biofilm: a preliminary study. *J. Oral Rehabil*. 2009;36:491-497.
 64. De Souza JG, Neto AR, Filho GS, Dalago HR, de Souza Júnior JM, Bianchini MA. Impact of local and systemic factors on additional peri-implant bone loss. *Quintessence Int*. 2013 May;44(5):415-24.
 65. Desvarieux M, Demmer Rt, Jacobs Jr Dr, Rundek T, Boden- Albala B, Sacco RI, Papapanou Pn. Periodontal bacteria and hypertension: the oral infections and vascular disease epidemiology study (INVEST). *J Hypertens*. 2010;28(7):1413-1421.

66. Desvarieux M, Demmer Rt, Jacobs Dr, Papapanou Pn, Sacco Rl, Rundek T. Changes in clinical and microbiological periodontal profiles relate to progression of carotid intima-media thickness: the Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology study. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(6):e000254.
67. De Vasconcelos JEL, de Matos JDM, Queiroz DA, Lopes G.d.R.S, de Lacerda BCGV, Bottino MA et al. Implant-Abutment Misfit after Cyclic Loading: An In Vitro Experimental Study. *Materials.* 2022;15(15):5341.
68. Dias ECLCM, Sperandio M, Napimoga MH. Association Between Implant-Abutment Microgap and Implant Circularity to Bacterial Leakage: An In Vitro Study Using Tapered Connection Implants. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2018;33(3):505-511.
69. Diez JSV, Brigagão VC, Cunha LG, Neves ACC, Silva-Concílio LR. Influence of diamond like carbo-coated screws on the implant-abutment interface. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2012;27(5):1055-1060.
70. Dittmer MP, Dittmer S, Bochers L, Kohorst, Meike Stiesch. Influence of the interface design on the yield force of the implant–abutment complex before and after cyclic mechanical loading. *Journal of Prosthodontic Research.* 2012;56:19-24.
71. Dixon D, Breeding L, Sadler J, McKay M. Comparison of screw loosening, rotation, and deflection among three implant designs. *J Prosthet Dent.* 1995;74:270–8.
72. Donath K. *Manual de Implantodontia. Clínica.* Artmed, 2003, capítulo 3.
73. Do Nascimento C, Barbosa RES, Issa JPM, Watanabe E, Ito IY, Albuquerque RF Jr. Bacterial leakage along the implant- abutment interface of pre-machined or cast components. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37:177–180.
74. Do Nascimento C, Albuquerque Jr RF, Issa JPM, Ito IY, Lovato da Silva CH, Paranhos HF, de Souza RF. Use of the DNA checkerboard hybridization method for detection and quantitation of *Candida* species in oral microbiota. *Can J Microbiol.* 2009;55(5):622-626.
75. Do Nascimento C, Barbosa RES, Issa ZPM, Watanabe E, Ito IY, Albuquerque RF Jr. Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to evaluate the internal contamination of dental implants and comparison of bacterial leakage with cast or pre-machined abutments. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20:571–577.
76. Do Nascimento C, Pedrazzi V, Miani PK, Moreira LD, de Albuquerque RF Jr. Influence of repeated screw tightening on bacterial leakage along the implant-abutment interface. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(12):1394-7.
77. 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):3039-40.
78. Do Nascimento C, Miani PK, Watanabe E, Pedrazzi V, de Albuquerque RF, Jr. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of an external-hex implant after saliva incubation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2011;26(4):782-7.

79. Do Nascimento C, Miani PK, Pedrazzi V, Gonçalves RB, Ribeiro RF, Faria AC, Macedo AP, de Albuquerque RF Jr. Leakage of saliva through the implant-abutment interface: in vitro evaluation of three different implant connections under unloaded and loaded conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27(3):551-60.
80. Do Nascimento C, Pita MS, Pedrazzi V, de Albuquerque Junior RF, Ribeiro RF. In vivo evaluation of *Candida* spp. adhesion on titanium or zirconia abutment surfaces. *Arch Oral Biol*. 2013;58(7):853-61.
81. Do Nascimento C, Ikeda LN, Pita MS, Silva RCP, Pedrazzi V, Albuquerque Junior RF, Ribeiro RF. Marginal fit and microbial leakage along the implant-abutment interface of fixed partial prostheses: An in vitro analysis using Checkerboard DNA-DNA hybridization. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2015;114(6):831-838.
82. Do Nascimento C, Pita MS, Calefi PL, de Oliveira Silva TS, Dos Santos JB, Pedrazzi V. Different sealing materials preventing the microbial leakage into the screw-retained implant restorations: an in vitro analysis by DNA checkerboard hybridization. *Clin Oral Implants Res*. 2017;28(2):242-250.
83. Do Nascimento C, Nogueira Fernandes FHC, Teixeira W, Pedrazzi V. Iodoform and silver-coated abutments preventing bacterial leakage through the implant-abutment interfaces: In vitro analysis using molecular-based method. *Archives of Oral Biology*. 2019;105:65-71.
84. Duarte AR, Rossetti PH, Rossetti LM, Torres SA, Bonachela WC. In vitro sealing ability of two materials at five different implant- abutment surfaces. *J Periodontol*. 2006;77:1828-1832.
85. Ellakany P, Mahrous AA, Al Eraky DM, Albarrak A, AlJindan R, Fouda SM. Evaluation of Bacterial Leakage in Platform-Switching Dental Implant with Morse Taper Connection Under Thermocycling and Loading Effects: In Vitro Study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2021;36(1):68-74.
86. Elsayed A, Wille S, Al-Akhali M, Kern. Effect of fatigue loading on the fracture strength and failure mode of lithium disilicate and zirconia implant abutments. *Clinical Oral Implants Research*. 2018;29(1):20-27.
87. Feitosa PCP, de Lima APB, Silva-Concílio LR, Brandt WC, Claro Neves AC. Stability of external and internal implant connections after a fatigue test. *Eur J Dent*. 2013;7(3):267-271.
88. Ferro KJ, Morgano SM, Driscoll CF, Freilich MA, Guckes AD, Knoernschild KL et al. The glossary of Prosthodontic Terms: Ninth Edition. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2017;17(5S):e1-e105.
89. Gehrke SA, Delgado-Ruiz RA, Prados-Frutos JC, Prados-Privado M, Dedavid BA, Marín JMG, et al. Misfit of Three Different Implant Abutment Connections Before and After Cyclic Load Application: An In vitro study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2017;32(4):822-829.

90. Geng JP, Ma QS, Xu W, Tan KBC, Liu GR. Finite element analysis of four thread-form configurations in a stepped screw implant. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2004;31(3):233-9.
91. Gratton DG, Aquilino SA, Stanford CM. Micromotion and dynamic fatigue properties of the dental implant–abutment interface. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2001;85(1):47-52.
92. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the Abutment-Implant Interface of Osseointegrated Implants: A Comparative Study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 1999;14(1):94-100.
93. Guerra E, Pereira C, Faria R, Jorge AO, Bottio MA, Melo RM. The impact of conical and nonconical abutments on bacterial infiltration at the implant-abutment interface. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2016;36(6):825–831.
94. Guzaitis KL, Knoernschild KL, Viana MA. Effect of repeated screw joint closing and opening cycles on implant prosthetic screw reverse torque and implant and screw thread morphology. *J Prosthet Dent*. 2011;106(3):159-69.
95. Ha CY, Lim YJ, Kim MJ, Choi JH. The influence of abutment angulation on screw loosening of implants in the anterior maxilla. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011;26:45–55.
96. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiol Immunol*. 2008;23(3):196-205.
97. Han K, Lee J, Shin SW. Implant- and tooth-supported fixed prostheses using a high-performance polymer (Pekkton) framework. *International Journal of Prosthodontics*. 2016;29(5):451-454.
98. Hernigou P, Queinnec S, Flouzat Lachaniette CH. One hundred and fifty years of history of the Morse taper: From Stephen A. Morse in 1864 to complications related to modularity in hip arthroplasty. *Int. Orthop*. 2013;37:2081–2088.
99. Ishikawa-Nagai S, Weber HP, Park SE, Da Silva JD. Optical phenomenon of peri-implant soft tissue. Part II. preferred implant neck color to improve soft tissue esthetics. *Clinical Oral Implants Research*. 2007;18(5):575-580.
100. 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.
101. Jemt T, Book K. Prosthesis misfit and marginal bone loss in edentulous implant patients. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11:620-62.
102. Jepsen S, Berglundh T, Genco R, Aass AM, Demirel K, Derks J, et al. Primary prevention of periimplantitis: Managing peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015;42(S16):152-7.
103. Jiries Y, Brosh T, Matalon S, Perlis V, Ormianet Z. Effects of aging torque controllers on screw tightening force and bacterial micro-leakage on the implant-abutment complex. *Materials*. 2022;15(2):620.

104. Jorge JRP, Barao VAR, Delben JA, Assuncao WG. The Role of Implant/Abutment System on Torque Maintenance of Retention Screws and Vertical Misfit of Implant-Supported Crowns Before and After Mechanical Cycling. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013;28:415–22.
105. Jung RE, Sailer I, Hämmerle CH, Attin T, Schmidlin P. In vitro color changes of soft tissues caused by restorative materials. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2007; 27; 3: 251-257.
106. Jung RE, Holderegger C, Sailer I, Khraisat A, Suter A, Hämmerle CH. The effect of all-ceramic and porcelain-fused-to-metal restorations on marginal peri-implant soft tissue color: a randomized controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008; 28; 4: 357-365.
107. Kano SC, Binon PP, Bonfante G, Curtis DA. The effect of casting procedures on rotational misfit in castable abutments. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22(4):575-9.
108. Karl M, Kelly R. Influence of loading frequency on implant failure under cyclic fatigue conditions. *Dental Materials*. 2009;25(11):1426-1432.
109. Karl M, Irastorza-Landa A. In Vitro Characterization of Original and Nonoriginal Implant Abutments. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2018;33(6): 1229–1239.
110. Khongkhunthian P, Khongkhunthian S, Weerawatprachya W, Pongpat K, Aunmeungtong. Comparative study of torque resistance and microgaps between a combined Octatorx-cone connection and an internal hexagon implant-abutment connection. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2015;113(5):420-424.
111. Khraisat A, Akihiko H, Shuichi Nomura OM. The effect of lateral cyclic loading on abutment screw loosening of external hex implant system. *J. Prosthet. Dent*. 2004;91(4):326–334.
112. Kim Y, Oh T, Misch CE, Wang H. Occlusal considerations in implant therapy: clinical guidelines with biomechanics rationale. *Clinical Oral Implants Research*. 2004;16(1):26-35.
113. Kim KS, Han JS, Lim YJ. Settling of Abutments into Implants and Changes in Removal Torque in Five Different Implant-Abutment Connections. Part 1: Cyclic Loading. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2014;29:1079–84.
114. Kitamura E, Stegaroiu R, Nomura S, Miyakawa O. Biomechanical aspects of marginal bone resorption around osseointegrated implants: considerations based on a three-dimensional finite element analysis. *Clinical Oral Implants Research*. 2004;15(4):401-412.
115. Krishnan V, Tony Thomas C, Sabu I. Management of abutment screw loosening: review of literature and report of a case. *J Indian Prosthodont Soc*. 2014;14:208-14.

116. Kushali R, Maiti S, Girija SAS, Jessy P. Evaluation of Microbial Leakage at Implant Abutment Interface for Different Implant Systems: An In Vitro Study. *J Long Term Eff Med Implants*. 2022;32(2):87-93.
117. Lafaurie GI, Sabogal MA, Castillo DM, Rincón MV, Gómez LA, Lesmes YA, Chambrone L. Microbiome and Microbial Biofilm Profiles of Peri-Implantitis: A Systematic Review. *J Periodontol*. 2017;88(10):1066-1089.
118. Lauritano D, Moreo G, Lucchese A, Viganoni C, Limongelli L, Carinci F. The Impact of Implant-Abutment Connection on Clinical Outcomes and Microbial Colonization: A Narrative Review. *Materials (Basel)*. 2020;13(5):1131.
119. Lazzara RJ, Porter SS. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006;26(1):9-17.
120. Lee CK, Karl M, K JR. Evaluation of test protocol variables for dental implant fatigue research. *Dental Materials*. 2009;25(11):1419-1425.
121. Lemos CAA, Verri FR, Bonfante EA, Santiago Júnior JF, Pellizzer EP. Comparison of external and internal implant-abutment connections for implant supported prostheses. A systematic review and meta- analysis. 2018;70:14-22.
122. Lira-Junior R, Akerman S, Klinge B, Bostrom Ea, Gustafsson A. Salivary microbial profiles in relation to age, periodontal, and systemic diseases. *PLoS One*. 2018;13(3):e0189374.
123. Lindhe J, Meyle J; Group D of European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8 Suppl):282-5.
124. Londono J, Marafie Y. A device to hold implant abutments for extraoral preparations. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 2009;102(1):55-56.
125. Lopez MA, Bassi MA, Confalone L, Gaudio RM, Lombardo L, Lauritano D. The influence of “conical plus octagonal” internal connection on implant survival and success rate: A retrospective study of 66 fixtures. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*. 2016;30(Suppl. 1): 49–54.
126. Lowe RA. Direct preparation of preexisting implant abutments. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect*. 2004;6:98–102.
127. Maeda Y, Satoh T, Sogo M. In vitro differences of stress concentrations for internal and external hex implant–abutment connections: a short communication. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2006;33(1):75-8.
128. McGlumphy EA, Mendel DA, Holloway JA. Implant screw mechanics. *Dental Clinics of North America*. 1998;42(1):71-89.
129. Medeiros RM. Avaliação da adaptação marginal de componentes sobre implantes, de torque interno e convencionais, submetidos a diferentes torques de inserção.

[Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Programa de pós-graduação em saúde e desenvolvimento da Região Centro-Oeste; 2012.

130. Mishra SK, Chowdhary R, Kumari S. Microleakage at the Different Implant Abutment Interface: A Systematic Review. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(6):10-15.
131. Molinero-Mourelle P, Cascos-Sanchez R, Yilmaz B, Lam WYH, Pow EHN, Highsmith JDR, et al. Effect of Fabrication Technique on the Microgap of CAD/CAM Cobalt-Chrome and Zirconia Abutments on a Conical Connection Implant: An In Vitro Study. *Materials (Basel).* 2021;14(9):2348.
132. Mombelli A, Müller N, Cionca N. The epidemiology of peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research.* 2012;23(s6):67-76.
133. Moraes SLD, Verri FR, Santiago Jr JF, Almeida DAF, Lemos CAA, Gomes JML, et al. Three-dimensional finite element analysis of varying diameter and connection type in implants with high crown-implant ratio. *Braz Dent J.* 2018;29(1):36-42.
134. Nascimento CD, Pita MS, Fernandes FHNC, Pedrazzi V, de Albuquerque Junior RF, Ribeiro RF. Bacterial adhesion on the titanium and zirconia abutment surfaces. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(3):337-343.
135. Nascimento C, Pita MS, Santos Ede S, Monesi N, Pedrazzi V, Albuquerque Junior RF, et al. Microbiome of titanium and zirconia dental implants abutments. *Dent Mater.* 2016;32(1):93-101.
136. Oh T, Yoon J, Misch CE, Wang H. The causes of early implant bone loss: myth or science? *Journal of Periodontology.* 2002;73:322-333.
137. Ostman PO, Hellman M, Albrektsson T, Sennerby L. Direct loading of Nobel Direct and Nobel Perfect one-piece implants: a 1-year prospective clinical and radiographic study. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(4):409-18.
138. Oyagüe RC, Turrión AS, Toledano M, Monticelli F, Osorio R. In vitro vertical misfit evaluation of cast frameworks for cement-retained implant-supported partial prostheses. *J Dent.* 2009;37:52-58.
139. Pardal-Peláez B, Montero J. Preload loss of abutment screws after dynamic fatigue in single implant-supported restorations. A systematic review. *J. Clin. Exp. Dent.* 2017;9:1355-1361.
140. Park JK, Choi JU, Jeon YC, Choi KS, Jeong CM. Effects of Abutment Screw Coating on Implant Preload: Preload on Screw Coating and Connection Types. *J Prosthodont.* 2010;19:458-64.
141. Park SE, Weber H-P, Ishikawa-Nagai S, Da Silva JD. Optical phenomenon of peri-implant soft tissue. Part I. Spectrophotometric assessment of natural tooth gingiva and peri-implant mucosa. *Clinical Oral Implants Research.* 2007;18(5):569-574.
142. Passos SP, Gressler May L, Faria R, Özcan M, Bottino MA. Implant-abutment gap versus microbial colonization: Clinical significance based on a literature review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013;101(7):1321-8.

143. Peck MT, Chrcanovic BR. Chemical and Topographic Analysis of Eight commercially Available Dental Implants. *J Contemp Dent Pract.* 2016;17(5):354-60.
144. Pereira J, Morsch CS, Henriques B, Nascimento RM, Benfatti CA, Silva FS, et al. Removal torque and biofilm accumulation at two dental implant-abutment joints after fatigue. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2016;31:813–819.
145. Pereira LMS, Sordi MB, Magini RS, Calazans Duarte AR, Souza JCM. Abutment misfit in implant-supported prostheses manufactured by casting technique: An integrative review. *Eur J Dent.* 2017;11(4):553-558.
146. Peres MA, Barbato PR, Reis SCGB, Freitas CHSdM, Antunes JLF. Perdas dentárias no Brasil: análise da Pesquisa Nacional de Saúde Bucal 2010. *Rev Saúde Pública.* 2013;47(supl 3):78-89.
147. Pérez-Chaparro PJ, Duarte PM, Shibli JA, Montenegro S, Lacerda Heluy S, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. The Current Weight of Evidence of the Microbiologic Profile Associated With Peri-Implantitis: A Systematic Review. *J Periodontol.* 2016;87(11):1295-1304.
148. Pesqueira AA, Goiato MC, Filho HG, Monteiro DR, Santos DMd, Haddad MF, et al. Use of Stress Analysis Methods to Evaluate the Biomechanics of Oral Rehabilitation With Implants. *Journal of Oral Implantology.* 2014;40(2):217-28.
149. Piattelli A, Vrespa G, Petrone G, Iezzi G, Annibali S, Scarano A. Role of the Microgap Between Implant and Abutment A Retrospective Histologic Evaluation in Monkeys. *Journal of Periodontology.* 2003;74(3):346-52.
150. Piermatti J, Yousef H, Luke A, Mahevich R, Weiner S. An In Vitro Analysis of Implant Screw Torque Loss With External Hex and Internal Connection Implant Systems. *Implant Dent.* 2006;15:427–35.
151. Pierrisnard L, Renouard F, Renault P, Barquins M. Influence of implant length and bicortical anchorage on implant stress distribution. *Clinical Implant Dentistry and Related Research.* 2003;5(4):254-62.
152. Pintinha M, Camarini ET, Sábio S, Pereira JR. Effect of mechanical loading on the removal torque of different types of tapered connection abutments for dental implants. *The Journal of Prosthetic Dentistry.* 2013;110(5):383-388.
153. Pita MS, do Nascimento C, Dos Santos CGP, Pires IM, Pedrazzi V. Experimental conical-head abutment screws on the microbial leakage through the implant-abutment interface: an in vitro analysis using target-specific DNA probes. *Clin Oral Implants Res.* 2017;28(7):e68-e75.
154. Pjetursson BE, Brägger U, Lang NP, Zwahlen M. Comparison of survival and complication rates of tooth-supported fixed dental prostheses (FDPs) and implant-supported FDPs and single crowns (SCs). *Clinical Oral Implants Research.* 2007;18(3):97-113-113.

155. Pjetursson BE, Valente NA, Stranding M, Zwahlen M, Liu S, Sailer I. A systematic review of the survival and complication rates of zirconia-ceramic and metal-ceramic single crowns. *Clin Oral Implants Res.* 2018;29(16):199-214.
156. Proff P, Steinmetz I, Bayerlein T, Dietze S, Fanghänel J, Gedrange T. Bacterial colonisation of interior implant threads with and without sealing. *Folia Morphol.* 2005;65:75–77.
157. Raffaini FC, Freitas AR, Silva TSO, Cavagioni T, Oliveira JF, Albuquerque Junior RF, Pedrazzi V, Ribeiro RF, do Nascimento C. Genome analysis and clinical implications of the bacterial communities in early biofilm formation on dental implants restored with titanium or zirconia abutments. *Biofouling.* 2018;34(2):173-182.
158. Ramos MB, Pegoraro LF, Takamori E, Coelho PG, Silva TL, Bonfante EA. Evaluation of UCLA Implant-Abutment Sealing. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2014;29(1):113-120.
159. Ranieri R, Ferreira A, Souza E, Arcoverde J, Dametto F, Gade-Neto C, Seabra F, Sarmiento C. The bacterial sealing capacity of Morse taper implant-abutment systems in vitro. *J. Periodontol.* 2015;86(5):696-702.
160. Rakic M, Grusovin MG, Canullo L. The Microbiologic Profile Associated with Peri-Implantitis in Humans: A Systematic Review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2016;31(2):359-68.
161. Resende CCD, Castro CG, Pereira LM, Prudente MS, Zancopé K, Davi LR, et al. Influence of the prosthetic index into morse taper implants on bacterial microleakage. *Implant Dent.* 2015;24(5):547–551.
162. Ribeiro CG, Maia ML, Scherrer SS, Cardoso AC, Wiskott HW. Resistance of three implant-abutment interfaces to fatigue testing. *J Appl Oral Sci.* 2011;19(4):413-20.
163. Ricomini Filho AP, Fernandes FS, Straioto FG, da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Preload losse and bacterial penetration on different implant-abutment interface after fatigue testing. *J Prosthet Dent.* 2001;21:123-129.
164. Sailer I, Stawarczyk B, Jung RE, Hämmerle CHF, Sailer T. In vitro study of the influence of the type of connection on the fracture load of zirconia abutments with internal and external implant-abutment connections. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants.* 2009;24(5):850-858.
165. Salvi GE, Cosgarea R, Sculean A. Prevalence and Mechanisms of Peri-implant Diseases. *J Dent Res.* 2017;96(1):31-37.
166. Sasada YAB, Cochran DL. Implant-abutment connections: A review of biologic consequences and peri implantitis implications. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2017;32:1296–1307.
167. Scarano A, Perrotti V, Piattelli A, Iaculli F, Iezzi G. Sealing Capability of Implant-Abutment Junction under Cyclic Loading: A Toluidine Blue in Vitro Study. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials.* 2015;13(3):293-295.

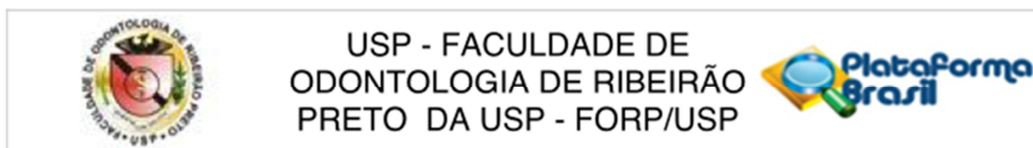
168. Schmitt CM, Nogueira-Filho G, Tenenbaum HC, Lai JY, Brito C, Döring H, Nonhoff J. Performance of conical abutment (Morse Taper) connection implants: A systematic review. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102:552–574.
169. Schroeder A, Pohler O, Sutter F. Gewebsreaktion auf ein Titan-Hohlzylinderimplantat mit Titan-Spritzschichtoberfläche. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 1976;86:713–727.
170. Segundo Ade L, Pisani MX, Nascimento Cd, Souza RF, Paranhos HdeF, Silva-Lovato CH. Clinical trial of an experimental cleaning solution: antibiofilm effect and integrity of a silicone-based denture liner. *J Contemp Dent Pract*. 2014;15(5):534-42.
171. Sennerby L, Meredith N. Implant stability measurements using resonance frequency analysis: biological and biomechanical aspects and clinical implications. *Periodontol* 2000. 2008;47:51-66.
172. Serino G, Ström C. Peri-implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20(2):169-74.
173. Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(10):975-82.
174. Shin HM, Huh JB, Yun MJ, Jeon YC, Chang BM, Jeong CM. Influence of the implant-abutment connection design and diameter on the screw joint stability. *J Adv Prosthodont*. 2014;6:126.
175. Siadat H, Arshad M, Mahgoli HA, Fallahi B. Microleakage evaluation at implant-abutment interface using radiotracer technique. *J Dent (Tehran)*. 2016;13:176-83.
176. Siamos G, Winkler S, Boberick KG. Relationship between implant preload and screw loosening on implant-supported prostheses. *J Oral Implantol*. 2002;28(2):67-73.
177. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. “Checkerboard” DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*. 1994;17:788-792.
178. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*. 1998;25(2):134-144.
179. 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):352-62.
180. 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;20:875-881.
181. Steinebrunner L, Wolfart S, Ludwig K, Kern M. Implant–abutment interface design affects fatigue and fracture strength of implants. *Clin. Oral Implants Res*. 2008;19(12):1276–1284.

182. Subramani K, Jung RE, Molenberg A, Hämmerle CHF. Biofilm on Dental Implants: A Review of the Literature. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2009;24(4):616-26.
183. Sutter F, Schroeder A, Buser DA. The new concept of ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants: Part 1. Engineering and design. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1988;3:161–172.
184. Tallarico M, Canullo L, Caneva M, Özcan M. Microbial colonization at the implant-abutment interface and its possible influence on periimplantitis: A systematic review and meta-analysis. *J Prosthodont Res*. 2017;61(3):233-241.
185. Teixeira W, Ribeiro RF, Sato S, Pedrazzi V. Microleakage into and from two-stage implants: An in vitro comparative stud. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011;26:56–62.
186. Teles RP, GURSKY Lc, FAVERI M, ROSA EA, TELES FR, FERES M, SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD. Relationships between subgingival microbiota and GCF biomarkers in generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2010;37(4)313-323.
187. Tioosi R, Rodrigues RC, de Mattos Mda G, Ribeiro RF. Comparative analysis of the fit of 3-unit implant-supported frameworks cast in nickel-chromium and cobalt-chromium alloys and commercially pure titanium after casting, laser welding, and simulated porcelain firings. *Int J Prosthodont*. 2008;21:121–123.
188. Totou D, Naka O, Mehta SB, Banerji S. Esthetic, mechanical, and biological outcomes of various implant abutments for single-tooth replacement in the anterior region: a systematic review of the literature. *International Journal of Implant Dentistry*. 2021;7(1):1-17.
189. Triches TC, Zimmermann GS, de Freitas SFT, Ximenes M, Vieira RS, Cordeiro MMR. Efficacy of a single session protocol for endodontic treatment in primary teeth: in vivo study. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2018;19(1):47-55.
190. Trulsson M, van der Bilt A, Carlsson GE, Gotfredsen K, Larsson P, Müller F, Sessle BJ, Svensson P. From brain to bridge: masticatory function and dental implants. *J Oral Rehabil*. 2012;39(11):858-77.
191. Tsuge T, Hagiwara Y, Matsumura H. Marginal fit and micro- gaps of implant-abutment with internal anti-rotation con- figuration. *Dent Mater J*. 2008;27:29–34.
192. Tsuge T, Hagiwara Y. Influence of lateral-oblique cyclic loading on abutment screw loosening of internal and external hexagon implants. *Dent Mater J*. 2009;28:373–81.
193. Verdugo CL, Núñez GJ, Avila AA, San Martín CL. Microleakage of the prosthetic abutment/ implant interface with internal and external connection: In vitro study. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25:1078–1083.
194. Verri FR, Pellizzer EP, Rocha EP, Pereira JA. Influence of length and diameter of implants associated with distal extension removable partial dentures. *Implant Dentistry*. 2007;16(3):270-6.

195. Winkler S, Ring K, Ring JD, Boberick KG. Implant screw mechanics and the settling effect: overview. *J Oral Implantol*. 2003;29(5):242-5.
196. Xia D, Lin H, Yuan S, Bai W, Zhen G. Dynamic fatigue performance of implant-abutment assemblies with different tightening torque values. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2014;24(6):2143-2149.
197. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2000;27(9):648-57.
198. Yao KT, Kao HC, Cheng CK, Fang HW, Huang CH, Hsu ML. Mechanical performance of conical implant-abutment connections under different cyclic loading conditions. *J Mech Behave Biomed Mater*. 2019;90:426-32.
199. Yuseung Yi, Seong-Joo Heo, Jai-Young Koak, Seong-Kyun Kim. A retrospective comparison of clinical outcomes of implant restorations for posterior edentulous area: 3-unit bridge supported by 2 implants vs 3 splinted implant-supported crowns. *Journal of Advanced Prosthodontics*. 2022;14(4):223-235.
200. Zavanelli RA, Magalhaes JB, Paula WN, Zavanelli AC. Critérios e orientações para a seleção de pilares intermediários em implantodontia. In: Associação Brasileira de Odontologia; Pinto T, Neves FD, Riesco MG, organizadores. *Pro Odonto Implante e Periodontia - Programa de Atualização em Implantodontia e Periodontia: Ciclo 9*. Porto Alegre: Artmed Panamericana; 2015. p. 9-47. (Sistema de Educação Continuada a Distância; v. 2).
201. Zembic A, Sunjai Kim, Zwahlen M, Kelly JR. Systematic Review of the Survival Rate and Incidence of Biologic, Technical, and Esthetic Complications of Single Implant Abutments Supporting Fixed Protheses. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2014;29:99-116.

ANEXOS

ANEXO 1


PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP
DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo de diferentes conexões internas implante/pilar protético: transmissão de tensões e capacidade de vedamento bacteriano sob condições estáticas e pós carregamento termomecânico.

Pesquisador: ANSELMO AGOSTINHO SIMIONATO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 25836819.2.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de Sao Paulo

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.968.932

Apresentação do Projeto:

Envio de Emenda, solicitando a inclusão de novos pesquisadores e prorrogação de prazo por 12 meses para a entrega do relatório final do projeto. Os pesquisadores informaram que devido à Pandemia do Covid-19 houve paralisação das atividades laboratoriais e clínicas, o que inviabilizou as atividades previstas para o projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Envio de Emenda.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os mesmos descritos inicialmente no projeto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O pedido de emenda foi feito através de formulário específico, devidamente preenchido.

Os pesquisadores Adriana Cláudia Faria Lapria Queiroz, Victor Barboza da Mata e Daniel Zuluaga Goyeneche, foram incluídos no projeto da Plataforma Brasil e o cronograma foi atualizado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Endereço: Avenida do Café s/n° - Bloco K , sala k,10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-4102 **E-mail:** cep@forp.usp.br

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: “Estudo de diferentes conexões internas implante/pilar protético: transmissão de tensões e capacidade de vedamento bacteriano sob condições estáticas e pós carregamento termomecânico”,

Pesquisador(es): *Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro, Profa. Dra. Renata Cristina Silveira Rodrigues, Prof. Dr. Cássio do Nascimento, Anselmo Agostinho Simionato*

Responsável: *Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro*

Você está sendo convidado a participar da nossa pesquisa sobre a contaminação bacteriana em implantes dentários. Esta pesquisa tem como objetivo verificar o vedamento bacteriano entre implante dentário e pilar protético. O estudo será realizado com análises laboratoriais de amostras de placa bacteriana formada sobre os diferentes tipos de implantes odontológicos.

Para a pesquisa, o participante será convidado a doar um pequeno volume de saliva (5 mL – que representam aproximadamente uma colher de chá). A coleta do material tem uma duração prevista de 5 minutos, e você receberá instruções do pesquisador de como deverá ser feita a doação da saliva (cuspir pequenas quantidades em um recipiente). A sua saliva será utilizada como meio de contaminação dos implantes que serão estudados, simulando o que acontece na boca do paciente. A saliva será utilizada exclusivamente para o desenvolvimento desta pesquisa em laboratório. A coleta da saliva será realizada no Laboratório de Diagnóstico Odontológico Molecular, localizado na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, Bloco D, sala 113, permanecendo no biorrepositório do laboratório até o final dos testes, quando será jogada fora.

Você não terá nenhum gasto com essa pesquisa, mas terá a garantia de ressarcimento e/ou indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Você somente doará a saliva e sua participação não causará qualquer risco a sua saúde. O único desconforto possível após a participação pode ser a sensação de “boca seca” ou sede após a doação de saliva. Como benefício à sua participação nesta pesquisa será oferecido uma instrução de higiene oral. Além disso, os resultados desta pesquisa poderão contribuir para reduzir os problemas inflamatórios relacionados aos tratamentos com implantes. Os resultados obtidos serão divulgados em revistas científicas e/ou apresentados em congressos. Será garantido o sigilo de seus dados pessoais e sua identidade não será divulgada.

RESULTADOS DA PERDA DE TORQUE

Resultado da Perda de Torque							
Grupos	Corpo de Prova	Torque	Retorque	Destorque	Perda de torque	Perda de torque (%)	
CM-PE	1	35,2	35	24,9	10	28,86	
	2	35,2	35	22,7	12	35,14	
	3	35,2	36	25,3	11	29,72	
	4	35,2	36	21,8	14	39,44	
	5	35,2	35	25,3	10	27,71	
	9	35	35,5	26,4	9	25,63	
	10	35,4	35	30,9	4	11,71	
	11	35,5	35,4	28,4	7	19,77	
	12	35,2	35,1	28,2	7	19,66	
	13	35,2	35,5	30,8	5	13,24	
	CM-UCLA	16	35	35,4	11	24	68,93
		17	35	35,2	18	17	48,86
		18	32,4	32,3	20	12	38,08
19		Parafuso espanado	Parafuso espanado	Parafuso espanado	-	-	
23		35	35,5	35	1	1,41	
24		35	37	22	15	40,54	
25		35	35	17	18	51,43	
26		35	35	21	14	40,00	
27		35	35,4	22	13	37,85	
28	35	35	30	5	14,29		
HE-UCLA	1	35	35	28	7	20,00	
	2	35	36	28	8	22,22	
	3	35	36	27	9	25,00	
	4	35	35	26	9	25,71	
	5	35	35	26	9	25,71	
	9	35	36	28	8	22,22	
	10	35	33	26	7	21,21	
	11	35	35	24	11	31,43	
	12	35	35	29,8	5	14,86	
	13	35	38	30,7	7	19,21	

Resultado da Perda de Torque						
HE-PP	16	35	35	28	7	20,00
	17	35	35	26	9	25,71
	18	35	35	23	12	34,29
	19	35	35	27	8	22,86
	20	35	35	29	6	17,14
	24	35	35	27	8	22,86
	25	35	35	28	7	20,00
	26	35	35	24	11	31,43
	27	38	37	31	6	16,22
	28	35	35	30	5	14,29
TRI-UCLA	1	35	38	31	7	18,42
	2	35	35	18	17	48,57
	3	36	35	13	22	62,86
	4	36	35	27	8	22,86
	5	36	36	26	10	27,78
	7	35	35	26	9	25,71
	8	35	35	28	7	20,00
	9	35	35	26	9	25,71
	10	35	35	22	13	37,14
	11	36	36	22	14	38,89
	TRI-PP	16	35	35	21	14
17		37	35	11	24	68,57
18		35	35	26,5	9	24,29
19		35	36	29,5	7	18,06
20		35	35	29,9	5	14,57
24		35	35	29	6	17,14
25		35	35	25	10	28,57
26		35	35	27	8	22,86
27		35	35	31	4	11,43
28		37	36	29,6	6	17,78