UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

MÁRIO EDUARDO JAWORSKI

Avaliação do vedamento bacteriano em três diferentes conexões de implante/pilar (hexágono externo, interno e cone Morse) em modelo estático e após ciclagem termomecânica: teste *in vitro*

Ribeirão Preto
2019

MÁRIO EDUARDO JAWORSKI

Avaliação do vedamento bacteriano em três diferentes conexões de implante/pilar (hexágono externo, hexágono interno e cone Morse) em modelo estático e após ciclagem termomecânica: teste *in vitro*

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de Doutor em Odontologia

Área de concentração: Biologia Oral

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro

Versão Corrigida

Ribeirão Preto
2019

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Versão corrigida da Dissertação/Tese. A versão original se encontra disponível na Unidade que
aloja o Programa

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus USP – Ribeirão Preto

Jaworski, Mário Eduardo

Avaliação do vedamento bacteriano em três diferentes conexões de
implante/pilar (hexágono externo, hexágono interno e cone Morse) em modelo
estático e após ciclagem termomecânica: teste *in vitro*. Ribeirão Preto, 2019.

CXXII.: il.; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão
Preto/USP. Área de Concentração: Biologia Oral.

Orientador: Ribeiro, Ricardo Faria

1. Contaminação. 2. Implante dentário. 3. Microbiologia.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Jaworski, Mário Eduardo

Título: Avaliação do vedamento bacteriano em três diferentes conexões de implante/pilar (hexágono externo, hexágono interno e cone Morse) em modelo estático e após ciclagem termomecânica: teste *in vitro*.

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Odontologia

Área de Concentração: Biologia Oral

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Presidente:

Prof. Dr. _____

Assinatura: _____

Examinadores:

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, primeiramente à minha esposa Maria Cristina, companheira em tantas horas e desafios, trouxe paz e serenidade em momentos que achei que seria impossível continuar. A meus filhos Guilherme e Fernanda, principais motivos para melhorar como pessoa e cidadão. Dedico também a meu pai Tadeo, um professor universitário dedicado e entusiasta desse país, e à minha mãe Shirley, dona de casa vitoriosa em batalhas pela vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, minha base e apoio em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador Prof. Ricardo Faria Ribeiro, um verdadeiro mestre em sua essência, exemplo de dedicação e carisma.

À Profa. Dra. Ivete A. M. Sartori por acreditar no meu potencial e me incentivar na busca do aperfeiçoamento e a uma permanente qualificação.

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Biologia Oral, na pessoa do Coordenador, Prof. Dr. Márcio Mateus Beloti, pelo aprendizado e dedicação.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, por ter me aberto as portas e oferecido a oportunidade de crescimento profissional.

Em especial à Dra. Ana Cláudia M. Melo, minha tutora na especialização e mestrado, verdadeiro orgulho e privilégio em ter sido seu aluno.

Um especial agradecimento também a meu compadre e amigo Adércio Buche, dono do laboratório que realizou as coroas metálicas utilizadas neste estudo, trabalhando com qualidade, agilidade e profissionalismo.

Agradeço à empresa Neodent e ao Dr. Geninho Thomé, pela doação dos implantes e componentes protéticos, depositando muita confiança no meu trabalho.

Agradeço também à doutoranda Monica Surek pelo auxílio na área Microbiológica e pelo controle das amostras realizado nas dependências do laboratório de Farmácia e Bioquímica da UFPR.

Aos meus colegas do Doutorado e Mestrado que trouxeram suas experiências a nosso convívio e enriqueceram muito as aulas do curso.

À Dra. Adriana Cláudia Lapria Faria Queiroz, técnica responsável do Laboratório de Estudos Biomecânicos em Prótese e Implantes por participar efetivamente de nosso projeto.

À Jaqueline Gomes Lucas, Maria Fernanda Soares e Carina Machado Pereira pelo auxílio na execução da parte prática do trabalho.

E ainda, à Dra. Francine Baldin Able, jovem talento que aprendi a admirar e respeitar como futura promessa na pesquisa científica brasileira.

À CAPES, pelo suporte ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Biologia Oral.

Por fim a todos que direta ou indiretamente contribuíram ou confiaram em meu sonho e se tornaram peças importantes para que ele acontecesse.

Meu muito obrigado!

RESUMO

RESUMO

Jaworski ME. **Avaliação do vedamento bacteriano em três diferentes conexões de implante/pilar (hexágono externo, hexágono interno e cone Morse) em modelo estático e após ciclagem termomecânica: teste *in vitro*.** Ribeirão Preto, 2018. 90p. Tese (Doutorado em Biologia Oral), Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

O objetivo deste estudo foi comparar a passagem bacteriana em três diferentes conexões pilar/implante: hexágono externo (HE), hexágono interno (HI) e cone Morse (CM), em modelos estáticos e após ciclagem termomecânica, utilizando ensaio laboratorial microbiológico. *Material e Método:* Foram utilizados 30 implantes de cada uma das três conexões, subdivididos em dois grupos de 15 implantes, metade para o ensaio estático e metade submetido a carregamento cíclico. Todos os implantes foram perfurados com fresa de 1,0 mm na extremidade apical até atingir a câmara interna. Em seguida foram instalados os respectivos munhões com parafusos passantes nos três grupos, utilizando os torques recomendados pelo fabricante e aferidos por torquímetro digital. Os orifícios dos parafusos foram fechados com resina composta fotopolimerizável e nesses pilares foram cimentadas coroas metálicas Cobalto-cromo, confeccionadas em formato de canino. Os conjuntos implante/pilar/coróa foram subdivididos em dois subgrupos de 15 implantes cada, sendo que o subgrupo A não recebeu ensaio de ciclagem e o subgrupo B recebeu testes de cargas cíclicas ao longo eixo de (2×10^6 ciclos termomecânicos 5 Hz, ângulo de 90 graus e temperatura entre 5° - 55° C) em máquina de ensaios de simulação pneumática Biopdi. No preparo das amostras para o ensaio microbiológico, todos os implantes foram inseridos individualmente em uma tampa de silicone padrão de tubo de ensaio, de maneira que a porção correspondente ao componente protético ficasse no interior desse tubo. Com uma seringa descartável estéril, foi injetado caldo *Brain Heart Infusion* (BHI), acima do nível da junção pilar/implante. Todas as amostras foram esterilizadas por raios gama com 20Kgy, (IPEN, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - São Paulo, Brasil). Após esta etapa, os vedamentos apicais foram removidos e com seringa estéril foi inoculado caldo BHI contendo bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25922) em fase log de crescimento. Para garantir a vitalidade bacteriana a cada 7 dias foi adicionado caldo de crescimento. Todos os conjuntos ficaram incubados por 28 dias a 37°C. As análises de turvamento foram feitas diariamente, a fim de detectar alteração do meio de cultura. Ao final de 28 dias todas as amostras que apresentaram resultados positivos, foram semeadas em meio ágar Rapid *E.coli*2 e incubadas a 44°C para confirmar se o crescimento bacteriano encontrado correspondia à cepas bacterianas de *E. coli*. *Resultados:* Pelo menos uma amostra de cada grupo apresentou contaminação pela passagem bacteriana, com exceção do subgrupo CM que não sofreu carga cíclica. O grupo que apresentou maior contaminação foi o grupo HE, com o subgrupo B com três amostras positivas. *Conclusão:* Os implantes HE e CM quando submetidos a testes mecânicos de força, apresentaram piores resultados em comparação ao teste estático. O grupo HI apresentou resultado semelhante entre os dois subgrupos. Em números totais os melhores resultados foram obtidos pelo grupo de conexão CM, seguido por HI e HE.

Palavras-chave: Contaminação. Implante dentário. Microbiologia.

ABSTRACT

ABSTRACT

Jaworski ME. **Evaluation of the bacterial seal in three different implant/abutment connections (external hexagon, internal hexagon and Morse taper) in static model and after thermomechanical cycling: in vitro test.** Ribeirão Preto, 2018. 90p. Tese (Doutorado em Biologia Oral), Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

The objective of this study was to compare the bacterial passage in three different pillar / implant connections: external hexagon (HE), internal hexagon (HI) and Morse cone (CM) in static models and after thermomechanical cycling using microbiological laboratory test. Material and Method: 30 implants were used for each of the three connections, subdivided into two groups of 15 implants, half for the static test and half for cyclic loading. All implants were drilled with a 1.0 mm cutter at the apical end until reaching the inner chamber. Then, the respective trunnions were installed with through screws in the three groups, using the torques recommended by the manufacturer and measured by a digital torque wrench. The screw holes were closed with light-cured composite resin and cemented Cobalt-Chrome metal crowns were cemented into these posts. The implant / abutment / crown assemblies were subdivided into two subgroups of 15 implants each, with subgroup A not receiving a cycling test and subgroup B receiving cycling loads tests (2×10^6 thermomechanical cycles 5 Hz, 90 degree angle and temperature between 5° - 55° C) in a Biopdi pneumatic simulation test machine. In the preparation of the samples for the microbiological test, all implants were individually inserted into a standard test tube silicone cap, so that the portion corresponding to the prosthetic component remained within that tube. With a sterile disposable syringe, Brain Heart Infusion (BHI) broth was injected above the level of the abutment / implant junction. All samples were sterilized by 20Kg gamma rays (IPEN, Nuclear and Energy Research Institute - São Paulo, Brazil). After this step, the apical seals were removed and with a sterile syringe BHI broth containing *Escherichia coli* bacterium (ATCC 25922) was inoculated in log growth phase. To ensure bacterial vitality every 7 days growth broth was added. All sets were incubated for 28 days at 37 ° C. The turbidity analyzes were performed daily in order to detect alteration of the culture medium. At the end of 28 days all samples that showed positive results were seeded in Rapid E.coli2 agar medium and incubated at 44°C to confirm if the bacterial growth found corresponded to the *E. coli* bacterial strains. Results: At least one sample from each group showed contamination by bacterial passage, with the exception of the CM subgroup that did not undergo cyclic loading. The group that presented the highest contamination was the HE group, with the subgroup B with three positive samples. Conclusion: HE and CM implants submitted to mechanical force tests had worse results than the static test. The HI group presented similar results between the two subgroups. In total numbers the best results were obtained by the CM connection group, followed by HI and HE

Keywords: Contamination. Dental implant. Microbiology

ABREVIATURAS

ATCC	- <i>American Type Culture Collection</i>
BHI	- <i>Brain Heart Infusion</i>
C	- Centígrados
CM	- Cone Morse
FORP	- Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
GAL	- Galactosidase
GLUC	- Glucoronidase
Kgy	- Unidade de radiação absorvida
HE	- Hexágono externo
HI	- Hexágono interno
Hz	- Hertz
ILAPEO	- Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico
IPEN	- Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
N	- Newton
POC	- Perda óssea crestal
UFC	- Unidades formadoras de colônias
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
USP	- Universidade de São Paulo
μl	- Microlitro

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. REVISÃO DA LITERATURA	31
2.1 Aspectos biológicos	33
2.2 Aspectos biomecânicos	37
2.3 Aspectos microbiológicos	48
3. PROPOSIÇÃO	69
4. MATERIAIS E MÉTODOS	73
4.1 Preparo dos implantes	75
4.2 Preparo pilar/implante	76
4.3 Ensaio de Ciclagem Termomecânica	81
4.4 Preparo para o ensaio microbiológico	82
4.5 Ensaio microbiológico	86
4.6 Método de análise dos dados	88
4.7 Controles	88
5. RESULTADOS	93
5.1 Testes Estatísticos	98
6. DISCUSSÃO	105
7. CONCLUSÃO	117
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121

1 INTRODUÇÃO

Os Implantes dentários intra-ósseos confeccionados em titânio revolucionaram a Odontologia moderna, possibilitando a reabilitação de pacientes com edentulismo total ou parcial. Ao longo dos anos, muitos estudos científicos foram realizados, comprovando o bom comportamento biomecânico deste sistema e o sucesso da osseointegração^{3,4,16,17,37}. Pesquisas de Adell em 1982 e Albrektsson e Zarb em 1993, descreveram como critério de sucesso para reabilitação implantossuportada, uma perda óssea ao redor dos implantes de até 1,0mm no primeiro ano pós-instalação, seguida de perdas menores que 0,2mm nos anos subsequentes.^{1,3} Nesta época, os desenhos dos implantes apresentavam uma interface de conexão externa de mesmo diâmetro que o pilar protético. Em 2006, Lazzara e Porter observaram que ao promover a redução do tamanho do componente protético ocorriam menores perdas ósseas marginais. Essa alteração do desenho da conexão recebeu a denominação de plataforma *switching*.^{14,15,22,43,63} Estimulados pelas respostas ósseas ao novo formato de conexão, vários estudos foram realizados para compreender melhor a biomecânica osso-implante,^{4,5,11,16,19} contudo ainda hoje não foi possível estabelecer um consenso sobre os fatores desencadeantes das perdas ósseas marginais e dos fatores que promovem a manutenção da resposta inflamatória local.^{4,16,30}

Apesar da reabsorção óssea inicial ao redor dos implantes de corpo único ser mínima, tanto por redução na colonização microbiana como pela ausência dos micromovimentos entre os componentes, a grande maioria dos implantes utilizados possuem duas peças. Isso garante uma variabilidade de opções de componentes protéticos e permite solucionar situações clínicas desfavoráveis. Mesmo com a alta tecnologia utilizada pela indústria para obter peças de qualidade e menor desajuste, a união entre o implante e o pilar apresenta um *microgap*, que segundo alguns autores^{31,36,38,52,54,57} pode facilitar a colonização microbiana,^{8,9,12,26,34} resultando em respostas inflamatórias do hospedeiro, com consequente remodelação óssea.^{17,33,40} Em contrapartida, alguns pesquisadores apontam a correlação de

micromovimentos na interface implante/componente protético como fator determinante para a ocorrência da reabsorção óssea.^{22,43,45,52,72} Outra linha de pesquisa, considera que a remodelação ocorre pela necessidade tecidual local em reestabelecer um novo espaço biológico frente à microbiota periodonto-patogênica.^{11,22,58}

Atualmente os estudos científicos vêm demonstrando uma crescente preocupação sobre colonização microbiana e seu impacto na longevidade dos implantes dentários.^{34,65,66,68} O Encontro Internacional de *Brainstorming* sobre fatores etiológicos e de risco da peri-implantite, realizado pelo grupo Montegrotto (Pádua, Itália), alertou sobre o aumento alarmante da doença peri-implantar, descrita como o resultado do desequilíbrio entre a resposta do hospedeiro e a carga bacteriana.^{16,17} Os principais microrganismos envolvidos na peri-implantite são bactérias gram-negativas anaeróbias, microrganismos oportunistas, vírus *Epstein-Barr* e cepas anaeróbias gram-positivas não sacarolíticas.^{2,16,17,81} O que não está totalmente definido são os fatores etiológicos desencadeantes deste processo inflamatório. Também não estão definidos os papéis mecânicos e biológicos das macro e microestruturas da relação implante/pilar com o tecido peri-implantar.^{45,51,71,79,80} A literatura concorda que o acúmulo de biofilme representa um importante fator etiológico.^{42,70} Contudo, a extensão dos danos da inflamação está associada ao tempo de duração e mecanismos de defesa do paciente.^{18,20,47,53,65} Parece provável que a doença peri-implantar tenha um caráter multifatorial e os fatores tenham pesos diferentes para cada indivíduo. A falta de eficácia dos atuais métodos de tratamento da peri-implantite, pode ser resultado de pouca compreensão da flora microbiana. Alguns trabalhos sinalizaram êxito contra as doenças peri-implantares quando realizaram a descontaminação mecânica associada a meios químicos da superfície do implante.^{39,61,66} Todavia, não se pode esquecer que existe uma via de contaminação bacteriana oriunda da cavidade interna dos implantes que passa pela junção pilar/implante e

pode oferecer suporte a uma nova colonização do biofilme às áreas que sofreram descontaminação.^{6,17,61}

A realização de estudos microbiológicos, principalmente com o desenvolvimento de novas metodologias,^{41,82} contribuem para o conhecimento da via de passagem bacteriana do interior do implante e sua importância na manutenção da doença peri-implantar. Entretanto as dificuldades na padronização do modelo experimental, como por exemplo, reprodução das condições físicas bucais, escolha do microrganismo, experimento uni ou bidirecional e quantidade de material inoculado, têm dificultado a interpretação segura dos resultados obtidos. Considerando-se a importância da interface implante/pilar protético para a manutenção do nível ósseo, o objetivo deste trabalho é avaliar o selamento contra infiltração bacteriana entre três sistemas de implantes fabricados por uma mesma empresa de maneira estática e com simulação de cargas cíclicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos biológicos

Adell et al., 1981, realizaram acompanhamentos clínicos anuais em 2768 pacientes em um período de 15 anos (1965-1980). Deste acompanhamento analisou 130 maxilares reabilitados com 895 implantes, dos quais 81% na maxila e 91% na mandíbula (com tempo de observação de 5-9 anos). A avaliação do comportamento ósseo na amostra, mostrou perda óssea na mandíbula de 0,3 - 1,0mm, e na maxila de 0,1 – 0,6mm. Após o primeiro ano foi observada perda óssea anual de 0,1 – 0,8mm na mandíbula e 0,1 – 0,6mm na maxila.

Albrektsson et al., em 1986, elaboraram critérios para determinar o sucesso de implantes orais. Segundo os autores os implantes não devem apresentar mobilidade quando testados clinicamente e também não devem apresentar radiolucência peri-implantar quando radiografados. Além disso, a perda óssea vertical deve ser inferior a 0,2mm anualmente, após o primeiro ano em função e deverá ser observada ausência de sinais e sintomas de infecção. Sendo considerados aceitáveis os níveis de 85% de sucesso ao final de um período de 5 anos, e 80% após 10 anos.

O'Mahony et al., em 2000, realizaram estudo com objetivo de examinar implantes perdidos por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura a fim de identificar padrões no pilar e prótese que poderiam ter contribuído para a perda do implante. Quarenta e cinco implantes, removidos de 40 pacientes, foram examinados. Os pacientes não apresentavam nenhum dos fatores de risco normalmente indicados, como diabetes, fumo, radioterapia e imunossupressão. O tempo médio dos implantes em função foi de 4 anos. Todos os implantes apresentaram acúmulo de placa e cálculo com variados graus de maturação e espessura. Os autores concluíram que é importante que os clínicos planejem reabilitações que minimizem o potencial de sobrecarga oclusal e o acúmulo de placa, sendo importante que os pacientes tenham máximo acesso à higiene oral.

Hermann et al., em 2001, compararam dados radiográficos de avaliação dos níveis de crista óssea peri-implantar com resultados histométricos a fim de avaliar a correlação entre os dois métodos. Cinquenta e nove implantes cilíndricos de titânio grau IV (Straumann AG, Waldenburg, Suíça) foram instalados em áreas edêntulas de mandíbulas de 5 cães, intercalando-se implantes submersos e não submersos. Após 3 meses, pilares foram adaptados e aos 6 meses radiografias padronizadas e exame histológico foram realizados. O coeficiente de correlação de Pearson para as duas técnicas foi de 0,993 ($P < 0,001$). Os autores concluíram que a técnica radiográfica proposta permitiu realizar uma avaliação altamente precisa dos níveis de crista óssea peri-implantar.

Piatelli et al., em 2003, realizaram avaliação histológica retrospectiva em macacos a respeito da resposta óssea de implantes instalados 1 a 2mm acima da crista alveolar (grupo 1), ao nível da crista alveolar (grupo 2) e 1 a 1,5mm abaixo da crista (grupo 3). Os grupos apresentavam, respectivamente, 15, 12 e 13 implantes cada. No grupo 1 foi observado $0,13 \pm 0,12$ mm de ganho ósseo na direção coronal. No grupo 2, perda óssea vertical de $2,1 \pm 0,29$ mm e, no grupo 3, perda óssea média de $3,6 \pm 0,46$ mm. Os autores concluíram que quando o *microgap* é movido coronalmente, para fora da crista óssea alveolar, ocorre menor perda óssea.

Lazzara e Porter, em 2006, publicaram acompanhamento radiográfico de casos em que implantes com diâmetros aumentados, 5,0 a 6,0mm, receberam pilares de diâmetro padrão de 4,1mm. Tal situação é denominada plataforma *switching*. Foi observada perda óssea vertical menor do que a esperada após o tempo de acompanhamento de 13 anos. De acordo com os autores, essa observação sugere que o processo biológico de perda óssea foi alterado em função do reposicionamento mais interno da borda externa da plataforma do implante.

Degidi et al., em 2008, avaliaram histológica e histomorfometricamente um implante (Ankylos, Dentsply Friadent, Mannheim, Alemanha) instalado em um paciente do gênero

masculino de 29 anos. O implante havia sido posicionado 2mm intraósseo, e apresentava-se clinicamente saudável e em função após um período de quatro semanas. Os autores relataram a necessidade da remoção do implante por questões psicológicas do paciente, e esta foi realizada com auxílio de uma fresa trefina de 5,5mm de diâmetro. A peça óssea contendo o implante foi preparada e seccionada para análise microscópica. Os autores descreveram que os cortes histológicos não mostraram perda óssea marginal, não foram encontradas bolsas infraósseas e era possível observar ao nível do ombro do implante a presença de tecido conjuntivo denso com poucas células inflamatórias. Nova formação óssea foi observada em contato direto com a superfície do implante, sendo a porcentagem de contato ósseo de $65,3 \pm 4,8\%$. Os autores concluíram que pilares de menor diâmetro que o corpo do implante (plataforma *switching*) em combinação com micromovimentos e *microgaps* pode proteger os tecidos moles e duros peri-implantares e assim garantir uma ausência de reabsorção óssea.

Canullo et al. em 2009, conduziram estudo clínico, cujo objetivo foi avaliar a resposta óssea ao redor de implantes submetidos à carga imediata usando o conceito da plataforma *switching*. Vinte e dois pacientes, com idades variando de 32 a 76 anos (média de $50 \pm 14,46$ anos) foram incluídos na amostra e aleatoriamente divididos em dois grupos: grupo experimental com 11 implantes e pilar de 3,8mm plataforma *switching* (teste) e grupo controle com 11 implantes com pilar tradicional de 5,5mm. Foi realizado um acompanhamento radiográfico dos pacientes por um período médio de 25 meses. Todos os implantes foram considerados osseointegrados com sucesso. Os resultados mostraram uma perda óssea média de 0,25mm na superfície mesial e 0,36mm na superfície distal no grupo experimental. E, 1,13mm na superfície mesial e 1,25mm na superfície distal no grupo controle. Os valores médios no grupo experimental foram significantes em relação ao grupo controle, sendo assim, os autores concluíram que a redução do diâmetro da plataforma do pilar pode fornecer estabilidade ao nível do osso alveolar peri-implantar.

Calvo-Guirado et al. em 2009, realizaram estudo clínico prospectivo cujo objetivo foi avaliar o índice de sobrevivência e a resposta da crista óssea ao redor de implantes unitários reabilitados de acordo com o conceito da plataforma *switching*. Sessenta e um implantes imediatos foram instalados e submetidos à avaliação clínica e radiográfica: no dia da instalação, após 15 dias e 1, 2, 3, 6, 8 e 12 meses. Os parâmetros clínicos observados foram a análise de frequência de ressonância (ISQ) através do aparelho (Osstell mentor device, Gotenburgo - Suécia). Foram estabelecidas medidas iniciais da espessura da mucosa queratinizada na face vestibular, a presença ou ausência de supuração e a profundidade de sondagem. Os resultados mostraram perda óssea horizontal aproximadamente, após 12 meses, de 0,08mm e 0,09mm nas faces mesial e distal, respectivamente. Não foram observadas diferenças significantes entre a média inicial do ISQ ($71,1 \pm 6,2$) e após 12 meses ($75,8 \pm 6,9$), assim como na espessura de mucosa queratinizada. A profundidade de sondagem média variou de 3mm (face vestibular) a 3,7mm (faces proximais). Os autores observaram que o índice de sobrevivência observado foi de 96,7% e mínima perda óssea ao redor dos implantes.

Proper et al., em 2009, realizaram estudo multicêntrico prospectivo com o objetivo de comparar as alterações na crista óssea ao redor de implantes instalados de acordo com três protocolos cirúrgicos: convencional não submerso, submerso e submerso com pilar reduzido. Sessenta pacientes parcialmente edêntulos foram incluídos no estudo em 12 diferentes centros, resultando em um total de 360 implantes instalados (60 em cada grupo). Exames clínicos incluindo a mobilidade do implante, higiene oral, presença ou não de infecção peri-implantar e condições dos tecidos moles foram realizados no momento da instalação dos implantes e após 12 e 24 meses. Avaliação em radiografias periapicais, nos mesmos tempos, foi realizada a fim de mensurar a resposta da crista óssea peri-implantar nas superfícies mesial e distal. Três implantes controle falharam. Todos os implantes com plataforma aumentada instalados submersos e 92% dos não submersos não exibiram perda óssea. Os implantes com

plataforma e pilar de mesmo diâmetro exibiram mais perda óssea que aqueles com plataforma aumentada. Os autores concluíram que o uso do conceito da plataforma *switching* e de implantes com plataforma aumentada, quando comparados com implantes cilíndricos instalados segundo protocolo cirúrgico convencional, reduz significativamente a perda óssea peri-implantar.

Fetner et al., em 2015, realizaram pesquisa para determinar perdas ósseas marginais em implantes instalados em 3 profundidades: nível ósseo, 1,5mm e 3mm intra-ósseos. A pesquisa foi realizada em mandíbulas de 6 cães, onde foram instalados 36 implantes cone Morse (Ankylos, Dentsply) bilateralmente em áreas previamente preparadas e edêntulas. Os implantes foram divididos em grupos de 3 para cada lado da mandíbula. O período de cicatrização ocorreu em 3 meses, então foram instalados os pilares protéticos e após mais 3 meses os animais foram sacrificados. Peças foram removidas e escaneadas por tomografia microcomputadorizada (micro-CT) e analisadas histologicamente. Os resultados mostraram menores perdas ósseas marginais nos 2 grupos intra-ósseos em relação ao de nível ósseo. Entretanto, ocorreram menores diferenças significativas entre os grupos 0-1,5mm em relação aos grupos de 0-3 mm, sendo que o grupo 3mm teve a menor perda óssea entre todos os grupos estudados. Essa diferença é provavelmente resultado da redução dos efeitos do *microgap*, uma vez que a conexão cone Morse reduz o fluxo bacteriano pelo *microgap*, causando menor inflamação na área diminuindo a perda óssea local.

2.2 Aspectos biomecânicos

Gross et al., em 1999, realizaram estudo comparativo sobre diferentes torques de inserção e sua relação com o grau de microinfiltração de fluídos, na interface pilar/implante de diferentes sistemas de implantes. Os sistemas avaliados foram: Spline (Sulzer Calcitek, Califórnia, EUA), CeraOne (Nobel Biocare), ITI (Straumann, Waldenburg, Suíça), Steri-Oss

(Steri-Oss, Califórnia, EUA) e 3i (Implant Innovations, Flórida, EUA). Os implantes foram seccionados em seu ápice formando um canal até a base da câmara do parafuso do pilar. Os pilares foram instalados com torques de 10N.cm a 20N.cm. Uma solução de violeta de genciana foi introduzida no interior dos implantes. O ápice de cada implante foi conectado ao sistema de pressão de 2-atm, por meio de tubos de silicone, sendo que a extremidade do pilar permanecia mergulhada em água destilada. O vazamento de violeta de genciana foi medido por espectrofotômetro. Controles após 5, 20 e 80 minutos do início da pressão detectaram vazamentos em todos os sistemas, porém notou-se que na medida em que o torque de fechamento aumentava, estes eram reduzidos. A análise da variância mostrou interação significativa entre torques de fechamento e vazamentos nas microfissuras de forma que a utilização do torque recomendado pelo fabricante pode reduzir o extravasamento de líquidos pela interface pilar/implante.

Scarano et al., em 2005, em estudo retrospectivo avaliaram a presença de *microgap* entre pilares e implantes em sistemas cimentados e parafusados que tiveram implantes removidos por falha. A amostra foi composta por 272 implantes removidos por diversas razões, exceto por complicações mecânicas. Em 170 implantes as próteses eram parafusadas e em 102 cimentadas. Em todo o grupo parafusado foi observada presença de *microgap* de 60µm ao nível da conexão implante/pilar e de colonização bacteriana. No grupo cimentado, foi observado *microgap* de 40µm, sendo que o cimento preenchia os espaços e não havia presença de bactérias. Os autores concluíram que o *microgap* presente nos pilares parafusados pode ser um fator crítico para colonização bacteriana.

Kozlovsky et al., em 2007, avaliaram o impacto da sobrecarga em implantes com superfície usinada na presença ou ausência de inflamação peri-implantar experimentalmente induzida. O experimento foi conduzido em 4 cães Beagle, de dois anos de idade, nos quais 4 pré-molares inferiores foram extraídos bilateralmente. Após 3 meses, 4 implantes de

hexágono interno (Hi-Tec Implant Ltd., Israel) de 3,75 x 10mm foram instalados ao nível da crista óssea alveolar de acordo com protocolo em dois estágios. Após o período de cicatrização, os pilares foram adaptados tanto em supra como infra oclusão em relação aos dentes antagonistas. Em cada cão, fio dental foi adaptado unilateralmente ao redor dos pilares para promover acúmulo de placa. No outro lado, escovação foi realizada três vezes por semana. Os implantes com peri-implantite induzida apresentaram índices inflamatórios maiores. A sobrecarga aumentou a porcentagem de BIC de forma significativa e resultou em leve reabsorção da crista óssea. Os autores concluíram que a sobrecarga agravou a reabsorção óssea induzida pelo acúmulo de placa.

O trabalho de Panza et al., em 2010, comparou a força de contra-torque entre implantes hexágono externo (HE) e implantes hexágono interno (HI) e conexões retas e anguladas a 17°. Foram utilizadas 10 amostras para cada grupo, os pilares foram inseridos com 20N.cm de torque e submetidos a testes de carga cíclica com força de 100 a 120N e frequência de 250.000 ciclos, simulando 3 meses de atividade mastigatória. Após os ensaios mecânicos as amostras foram analisadas em microscópios ópticos e realizado a soltura dos pilares e medida a força de contra-torque. Os resultados demonstraram haver diferenças entre os grupos analisados, sendo que os grupos com pilares angulados apresentaram maior valor de contra-torque que os grupos de pilares retos. Segundo os autores, a frequência do ensaio mecânico é fundamental para análise da fadiga das estruturas analisadas e a dinâmica do torque e contra-torque entre pilar e implante sofre influência do tipo de conexão e angulação entre as peças.

Fernandez et al., em 2011, compararam o torque de afrouxamento de munhões retos conectados a implantes de conexão Hexagonal Interna (HI) com pilares sólidos retos instalados em implantes de conexão Morse (CM), antes e após ensaio de ciclagem mecânica. Os autores utilizaram 20 implantes todos da marca De Bortolli (São Paulo, Brasil), dividindo-

os em dois grupos de 10 implantes. Cada implante HI e CM foi conectado a um pilar correspondente e dado torque de 32N.cm e 25N.cm respectivamente com torquímetro analógico e após dez minutos os conjuntos foram reapertados. Os conjuntos implante/pilar foram inseridos em corpos de prova a base de resina epóxi e foram submetidos a um ensaio de ciclagem mecânica com força de 80N, frequência de 4Hz em 360.000 ciclos por amostra ao longo eixo e 30 graus, segundo os autores equivalente a 14 meses de função mastigatória. Após o ensaio mecânico foi realizada a soltura dos parafusos dos pilares e os resultados entre os valores de torque das amostras e os valores de torque de afrouxamento foram analisados estatisticamente. Foi observado que existe correlação consistente entre a diminuição do torque e o ensaio de fadiga aplicado no grupo dos implantes HI, já que a carga diminuiu significativamente o torque de afrouxamento. As amostras do implante CM mostraram um aumento nos valores de contra-torque quando comparado aos valores iniciais de torque de apertamento, demonstrando melhora significativa no desempenho, após a ciclagem mecânica. Na conexão Morse houve um aumento expressivo do valor de contra-torque após a ciclagem, em relação à conexão HI.

Koutouzis et al., em 2011, analisaram a geometria de 14 implantes de conexão Morse e com inserção interna (grupo 1) e 14 implantes Morse com inserção por meio de um montador de implante (grupo 2) submetidos a cargas cíclicas e teste microbiológico. Foram instalados pilares protéticos indicados e com torque de 25N.cm para o grupo 1 e de 35N.cm para o grupo 2, de acordo com as recomendações dos fabricantes. Dois implantes de cada grupo foram utilizados para controle positivo e negativo. As amostras foram fixadas em um disco metálico e sofreram simulação de carga cíclica, força de 15N por 500.000 ciclos, simulando dois anos de carga mastigatória. Durante o teste as peças estavam imersas em solução bacteriana *E. coli* substituída a cada 18 horas. Após 48 horas as amostras foram soltas e foi medido o torque de afrouxamento de cada peça, anotando a diferença entre o torque

inicial de aperto e o de contra-torque. Imediatamente após os testes de torque outro pesquisador coletou com *swab* estéril amostras bacterianas no interior dos implantes e pilares para análise de crescimento bacteriano. As peças não foram desinfetadas externamente. Observaram uma contaminação entre as 14 peças do grupo 1 e 12 contaminações entre as 14 peças do grupo 2. Os implantes no Grupo 1 exibiram um aumento no valor do torque em contraste com os implantes no Grupo 2 que apresentaram uma diminuição. Diferentes desenhos de implantes podem influenciar no risco de contaminação de microrganismos orais no *microgap* pilar/implante e assim exercer o potencial risco de perda óssea marginal. Os autores concluíram também que apesar das limitações do estudo, os testes mecânicos são um importante meio de avaliar a colonização bacteriana em implantes dentários.

Meleo et al. (2012) realizaram estudo *in vitro* utilizando a técnica da microtomografia para comparar 3 tipos de conexões cônicas. Ankylos associado a pilar com parafuso passante, Straumann com pilar com parafuso passante e Bicon (sistema *locking taper*) com pilar sólido. O sistema Straumann apresentou altura de contato interno de 0,5mm, um diâmetro de 1,4mm e uma superfície de contato de 5,08mm², o sistema Ankylos obteve altura de contato de 1,7mm, diâmetro de 1,2mm e superfície de contato de 13,55mm² e o sistema Bicon teve média de altura de contato interno de 2,7mm, diâmetro de 1,0mm e superfície de contato de 17,32mm². Os autores salientam também a utilização da microtomografia em pesquisa de implantes dentários pela possibilidade de investigação de um objeto em condições naturais sem ser invasiva ou destrutiva. E, relatam que o desajuste entre implante/pilar aumenta o estresse mecânico e pode ocasionar problemas biológicos nos tecidos peri-implantares.

Fauroux et al. em 2012, realizaram estudo avaliando a passagem de gás Nitrogênio entre pilar-implante de 4 sistemas diferentes de implantes. Foram selecionados no estudo 5 implantes de cada sistema: Branemark, One Morse System, Intra-lock e Ankylos Plus Connection, e seus respectivos pilares. Todos os implantes foram perfurados em seus ápices e

parcialmente inseridos num tubo de vidro com cola epóxi. Os pilares foram incorporados aos implantes com torque manual e assim os conjuntos foram submetidos à pressão de gás Nitrogênio, em câmara atmosférica experimental. Foram mensuradas as diferenças de pressão na área do pilar e na área do ápice, por três vezes. Em seguida, os pilares receberam novo aperto com torquímetro e valores recomendados pelos fabricantes: Branemark 35 N.cm, One Morse 35 N.cm, Intra-lock 35 N.cm e Ankylos Plus 15 N.cm, e novamente foram submetidos ao teste de pressão. Após análise dos resultados, foi observado que todos os sistemas apresentaram melhor desempenho do aperto com torquímetro ao manual. O sistema Branemark apresentou resultados semelhantes ao sistema Intra-lock. O maior vazamento entre as amostras foi do sistema One Morse. O estudo sugere que o *design* da conexão não é a característica mais importante para a passagem pilar-implante e fatores relacionados com fabricação e qualidade de engenharia podem influenciar no espaço pilar-implante.

Butignon et al., no ano de 2013, avaliaram a eficácia de 3 tipos de pilares e a manutenção do torque antes e após carregamento mecânico cíclico. Analisaram também, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), possíveis microdeformações nas estruturas dos implantes e componentes. Foram utilizados 45 implantes (Neodent, Curitiba, Brasil), divididos em 3 grupos experimentais com 15 pilares usinados de titânio (Ti), 15 pilares usinados de ouro (Au) e 15 pilares usinados em zircônia (ZrO_2). O torque para a inserção dos pilares foi o recomendado pelo fabricante, sendo 32 N.cm para os pilares metálicos e 20 N.cm para a zircônia. Em cinco implantes de cada grupo foi realizado um teste de flexão estática e os outros 10 foram utilizados para medir a força de remoção (contra-torque), antes e depois dos testes cíclicos mecânicos. Cada munhão recebeu cobertura metálica fundida arredondada e cimentada com cimento temporário (Provy-Dentsply). As cargas cíclicas utilizadas foram de $0,5 \times 10^6$ ciclos, 15 Hz entre 11 e 211 N e ângulo de 30 graus. Após as análises em microscopia eletrônica observaram que os pilares Ti e ZrO_2

apresentaram resistência mecânica similar. Os valores de pré-carga foram reduzidos em todas as amostras que sofreram teste de carga cíclica assim como todos os implantes desses grupos apresentaram alterações estruturais quando analisados em MEV. E, entre todos os grupos analisados o maior valor de perda do contra-torque ocorreu no grupo ZrO_2 e os pilares de ouro tiveram valores intermediários.

Castro et al., em 2014, realizaram estudo comparativo histológico e histomorfométrico a nível do osso marginal em duas conexões de implantes diferentes (hexágono externo e cone Morse). Seis cães adultos foram previamente preparados com remoção dos pré-molares inferiores. Após um período de cicatrização de 3 meses foram instalados implantes de hexágono externo (Titamax CM Cortical - Neodent, Curitiba, Brasil) a nível ósseo e de conexão Morse (3i, Implantes Inovações, Palm Beach, FL) 2mm intraósseo. Cada animal recebeu 3 implantes. Após três meses os animais foram sacrificados e amostras removidas para análise histológica e histomorfométrica. Não foram observados infiltrados inflamatórios celulares, reação de corpo estranho ou células gigantes multinucleadas em nenhum dos grupos de implantes. Os implantes com conexão externa apresentaram maior remodelação e perda óssea em comparação aos implantes de conexão Morse, no qual o osso permaneceu até o ombro do implante e em alguns casos encostado a superfície do pilar protético. O fato pode ser explicado, em parte, pela maior resistência contra passagem bacteriana dos implantes cone Morse. O hexágono externo apresenta um gap mais próximo ao tecido ósseo, concentra uma alta porcentagem de infiltrado celular inflamatório, ocasionando maior perda óssea.

Bernardes et al., no ano de 2014, avaliaram a perda do pré-torque em junções parafusadas de três plataformas de implantes: Hexágono Externo (HE), Hexágono Interno (HI) e Conexão Morse (CM) da marca Neodent (Curitiba, Brasil), e seus respectivos pilares sob sequência de torque e contra-torque com intervalos de 5 minutos. Foram confeccionados 5 implantes de cada plataforma, todos sem as roscas externas e preservando suas demais

características. Cada implante foi montado verticalmente em um cilindro de resina acrílica autopolimerizável e conectado ao aparelho que media a tensão da inserção do pilar ao implante. Cada amostra foi submetida a 5 sequências de torque e contra-torque com intervalo de 5 minutos cada. Baseado nos resultados da pesquisa, os autores notaram não haver perda significativa de pré-carga em nenhum dos grupos estudados após 5 minutos de espera e novo torque. Mas, as conexões cônicas demonstraram maior resistência estrutural do que o HI, independente de carga de 20 ou 32N.cm.

Moris et al., realizaram experimento em 2015 com a intenção de comparar dois diferentes diâmetros de conexão de pilar (3.8 e 4.8mm), unidas a coroas cimentadas ou parafusadas, antes e depois de submetidas a simulação de forças mastigatórias. Foram utilizados 40 conjuntos pilar/implante, 20 com diâmetro 4.8mm, sendo que 10 implantes foram inseridos a coroas cimentadas e 10 a coroas parafusadas. Os outros 20 implantes com diâmetro de 3.8mm, foram divididos em 2 subgrupos também unidos a coroas cimentadas e a coroas parafusadas. Os pilares foram inseridos com 20N.cm, torque recomendado pelo fabricante (Dabi Atlante Ribeirão Preto - SP), aferido por torquímetro digital. Coroas metálicas em Ni-Cr-Ti (Tilite Luminite Press, Talladium), foram aderidas com Temp Bond NE (Kerr, Califórnia-EUA) nos grupos de amostras cimentadas. A escolha deste cimento se deve ao fato das coroas serem removidas para realizar medições de forças de aperto nos parafusos do pilar após os testes cíclicos. Foram simulados três variações de movimentos oclusais: oclusão, desocclusão e forças excêntricas laterais. Os conjuntos estavam submersos em água deionizada e receberam 300.000 ciclos de carga correspondendo a 1 ano de forças de mastigação normal. Soltura de parafusos e fratura de pilar ocorreram no decorrer do experimento. Após os testes os autores concluíram que a diferença de diâmetro do pilar e o modelo cimentado ou parafusado não afetou a perda de torque dos parafusos dos pilares, contudo os diâmetros reduzidos de 3,8mm sofreram maiores perdas de torque.

Galindo-Moreno et al., 2015, avaliaram perdas ósseas marginais (MBL) de implantes instalados durante o período de dezoito meses. Foram instalados duzentos e quarenta e seis implantes pelo mesmo cirurgião. Cento e cinquenta e seis implantes de conexão interna cônica (Astra Tech/Denstply) e 90 implantes de conexão externa (Microdent Implant Systems). A MBL variou de 0 a 3,56 mm. Os autores comentam que em pesquisas utilizando implantes com tipos de conexões diferentes, da mesma empresa, as diferenças nos resultados ocorrem em função do desenho da conexão. Concluíram que a perda óssea marginal é significativamente maior em torno de implantes com conexão externa do que em torno daqueles com conexão interna.

Pereira et al., 2016, realizaram estudo *in vitro* com 60 implantes dentais (Neodent, Curitiba, Brasil), 30 de conexão Morse (CM) e 30 de conexão hexagonal externa (HE). Os implantes receberam pilares sólidos e, os valores de aperto dos parafusos respeitaram a orientação do fabricante, 15N.cm e 32N.cm respectivamente. Os conjuntos pilar\implante foram submetidos a uma simulação de carga com força normal de 50N e 1,2Hz por 500.000 ciclos em meio de crescimento contendo um preparado de saliva humana por um período de 72 horas. Foram avaliadas as forças de remoção dos pilares de 10 amostras de cada um dos grupos após os testes de fadiga e os pilares desparafusados foram imersos em proteases a fim de liberar o biofilme e mensurar as unidades formadoras de colônias (UFC) para análise de densidade óptica. Amostras também foram preparadas e seccionadas transversalmente para análise do *microgap* e adaptação da junção pilar/implante. Os resultados obtidos mostraram diminuição significativa nos valores médios do torque de remoção nos pilares HE e CM após testes de fadiga em meio de biofilme durante 72 horas. Observaram aumento significativo nos tamanhos de *microgap* para ambas as articulações após testes cíclicos. As conexões HE revelaram tamanhos de *microgap* mais elevados do que os registrados para as conexões CM e

os valores médios da densidade do biofilme e das UFC viáveis foram significativamente mais baixos nos pilares CM do que nos pilares HE.

Em 2016, Vigolo et al. realizaram estudo retrospectivo para avaliar clinicamente implantes unitários de conexão externa e interna. Foram avaliados os implantes unitários, instalados em 27 consultórios odontológicos particulares de 1º de janeiro de 2003 a 31 de dezembro de 2007. A amostra incluiu 1.159 pacientes e 2.010 implantes. A taxa de sobrevida dos implantes foi de 98,9%. Não houve diferença entre os dois tipos de implantes em relação à fratura de restauração e afrouxamento de parafuso do implante. Foi relatado que a maioria dos pacientes (94,6%) não desenvolveu nenhum tipo de doença peri-implantar, 85 pacientes (4,7%) apresentaram perda óssea superior a 0,2mm/ano (46,5% nos grupos de conexão interna e 39,3% nos grupos de conexão externa) e não ocorreu diferença significativa na tendência de perda óssea entre os dois tipos de conexão.

Prado et al., em 2016, propuseram avaliar *in vitro* o efeito do biofilme na perda de torque do pilar e possíveis desgastes das superfícies de conexão interna nos implantes dentários. A ideia surgiu ao observarem que substâncias ácidas do biofilme promovem diminuição do pH e podem induzir a corrosão dos materiais estruturais metálicos e que, por outro lado, os biofilmes são formados por glicoproteínas e atuam como lubrificantes diminuindo o atrito entre as superfícies de contato de conexões implante-pilar. Para a pesquisa utilizaram 10 implantes de conexão Morse e seus respectivos pilares. Os conjuntos foram imersos em um meio de biofilme com bactérias da saliva, por 72 horas. O principal resultado deste estudo *in vitro* foi a diminuição dos valores médios de torque no implante/pilar após imersão em um biofilme. No entanto, o dano à conexão interna dos implantes foi reduzido após o contato com o biofilme. Estes resultados sugerem que os biofilmes têm efeito lubrificante que diminui o atrito no contato das superfícies. E, que, ao longo do tempo, pode levar ao afrouxamento das conexões.

Scarano, em 2016, realizou estudo por microtomografia tridimensional para analisar as superfícies de contato implante-pilar em dois tipos de conexões de implante. Um total de 40 implantes foi utilizado neste estudo *in vitro*, dez para cada grupo sendo um modelo de hexágono interno e três modelos de conexões Morse. Segundo o autor, apesar de existirem no interior dos implantes numerosas lacunas e espaços internos, nos modelos cone Morse as conexões mostraram excelente adaptação com menores *microgaps* entre o implante e o pilar.

Sasada e Cochran, em 2017, realizaram revisão da literatura sobre as influências de diversos modelos de conexões implante/pilar e, analisaram também, as perdas ósseas em modelos de implantes cone Morse. Relataram que o motivo para a melhor reação biológica pode estar relacionado com a redução das bactérias pelo melhor vedamento das conexões cônicas internas. O comprimento da face de contato do cone e o ângulo das paredes internas podem ser diferentes para cada fabricante e podem influenciar no deslocamento bacteriano. Do ponto de vista mecânico, quanto menor for o ângulo tipo Morse mais alta será a estabilidade. Menor grau do ângulo pode levar a maior desgaste entre o corpo do implante e do pilar, resultando em maior contato entre as duas partes.

Mishra et al., em 2018, realizaram revisão da literatura de janeiro de 2012 a dezembro de 2016 com o objetivo de avaliar a capacidade de vedamento contra microinfiltração em diferentes conexões de implantes. Selecionaram 30 artigos, os quais indicaram que a microinfiltração é muito menor nos implantes cone Morse em comparação com outras conexões. Além disso, os estudos mostraram que a microinfiltração é maior em condições de carga dinâmica em comparação com a estática. Os autores concluíram que resultados promissores foram encontrados nos modelos Morse quando testados de modo estático e sob carregamento. E que, os pilares de zircônia são mais propensos a microinfiltração que os de titânio e deveriam ser usados apenas em casos que necessitem de muita estética.

2.3 Aspectos microbiológicos

Quirynem et al., em 1994, concluíram existir duas possíveis vias de penetração bacteriana: interface implante-pilar e parafuso do pilar protético. Os autores realizaram ensaios microbiológicos *in vitro*, utilizando 32 conjuntos implante-pilar do sistema Branemark (Nobel Pharma) em grupos parcialmente e totalmente imersos em meio inoculado com flora oral por sete dias.

Jansen et al., em 1997, analisaram *in vitro* 13 implantes e pilares protéticos de nove sistemas diferentes, inoculando 0,5µl de suspensão de *Escherichia coli* no interior dos implantes mergulhados em caldo de cultura por 14 dias. Também avaliaram o *microgap* entre implante e componente protético por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise se estendeu do 1º ao 14º dia. A diferença do número de amostras que apresentaram infiltração ao fim de 14 dias foi pequena, e na maioria dos casos a infiltração ocorreu nos dois primeiros dias. Neste estudo uma amostra de cada sistema foi escolhida e analisada no MEV, revelando que o valor médio para todos os sistemas foi inferior a 5µm. Os testes demonstraram haver presença microbiana em todos os sistemas analisados, com menor índice para o sistema Frialit-2.

Bessimo et al., em 1999, realizaram estudo *in vitro* sobre a infiltração bacteriana do *gap* implante/pilar. Foi inoculada a quantidade de 2 microlitros de cultura de *Staphylococcus aureus* ZIB 6901 na porção interna do hexágono de 30 implantes Ha-Ti Implant System (Mathys Corporation, Bettlach, Suíça) que receberam seus respectivos pilares. Foram confeccionadas coroas metálicas com um parafuso fixado transversalmente e anexadas ao pilar. Depois, mais 2 microlitros eram inoculados por meio de pipetas na cavidade superior das coroas. Após desinfecção externa com etanol a 70%, as amostras eram submersas em 4ml de caldo de soja e inoculadas a 37°C, e incubadas por 4 a 11 semanas. Observaram uma amostra positiva na quarta semana, sendo uma amostra que foi totalmente submersa. Não foi

verificado extravasamento do material da cavidade interna do implante para o meio de cultura em nenhuma amostra teste após uma semana.

Piatelli et al., em 2001, compararam em estudo *in vitro* a infiltração bacteriana e a passagem de fluídos na porção interna de conexões cimentadas e parafusadas sobre implantes. Nesse estudo foram utilizados 12 implantes com pilares retidos por cimentação e 12 pilares retidos por parafusos. Tiras de cone de papel absorvente de 4mm, foram colocadas no interior de cada implante e então parafusados ou cimentados aos respectivos pilares. Os conjuntos foram totalmente imersos em solução de toluidina por 30 horas. Os pilares foram desparafusados ou seccionados e os cones de papel avaliados se estavam corados ou não. A avaliação ocorreu por microscopia eletrônica de varredura e análise de infiltração de fluídos e de bactérias. Outra fase do experimento avaliou a infiltração bacteriana do meio externo para o interno pela imersão dos conjuntos pilar-implantes em meios de suspensão de *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados evidenciaram que próteses retidas por parafuso apresentam maior *gap*, com medidas de 7 μ m e as próteses cimentadas ficaram entre 3 a 7 μ m. Nenhuma penetração de fluídos ou de bactérias foi observada nos componentes das próteses cimentadas. Contudo, segundo os autores, dependendo da solubilidade do cimento no meio intraoral, poderia haver dissolução do material de cimentação e exposição do *gap*.

Quirynen et al., em 2002, realizaram revisão de literatura, tendo como foco principal a peri-implantite e os fatores microbiológicos associados à sua prevalência. De acordo com os autores o risco para a osseointegração é dependente dos mecanismos de defesa do paciente, da duração da infecção, da configuração e superfície do implante. Alguns implantes parecem estar mais sujeitos à sobrecarga oclusal, enquanto outros sistemas são mais propensos ao acúmulo de placa. Implantes em pacientes parcialmente edêntulos em contraste com os totalmente edêntulos podem ser facilmente colonizados por patógenos periodontais. Por outro

lado, ainda não está estabelecido se a história pregressa de periodontite é um fator de risco significativo para a sobrevivência do implante.

Callan et al., em 2005, realizaram estudo utilizando análise de sonda de DNA para identificar as bactérias periodontopáticas que habitam as superfícies internas e roscas de parafuso de implantes *in situ*. Para este estudo foram selecionados 32 pacientes com 54 implantes osseointegrados. Foi observado que as bactérias colonizaram as superfícies dentro de 25 dias após a cirurgia de segundo estágio e instalação do pilar. Metade das amostras apresentou contaminação em seu interior, a quantidade de bactérias encontradas nas superfícies internas positivas foi: 41,9% *A. actinomycetemcomitans*; 60,5% *T. forsythensis*; 44,2% *C. recto*; 60,5% *E. corrodens*; 48,8% *F. nucleatum*; 46,5% *P. gingivalis*; 55,8% *P. intermedia*; e 51,2% *T. denticola*. Quanto à variedade de microrganismos, somente 23,3% das superfícies do implante foram positivas para um único micróbio, aproximadamente 50% apresentaram quatro ou mais espécies bacterianas e 14% das superfícies internas foram positivas para os oito tipos de microrganismos. Entretanto, resultado negativo foi obtido em todas as amostras das roscas dos parafusos. Ao contrário das bactérias que colonizam superfícies externas dos implantes, aquelas que se alojam no interior estão protegidas dos mecanismos de defesa do hospedeiro e podem persistir por longos períodos de tempo, criando um ambiente propício para as infecções peri-implantares recorrentes. Demonstraram a viabilidade da translocação de bactérias dos remanescentes dentais para os implantes.

Broggini et al., em 2005, estudaram a relação da posição da interface pilar/implante com a sustentação da inflamação marginal peri-implantar e a perda óssea. Para o estudo foram instalados 30 implantes SLA (Institut Straumann AG, Waldenburg, Suíça) nos dois lados da mandíbula de 5 cães da raça *Foxhound*, em diferentes alturas intraósseas: 2,5mm, 1,5mm e 0,5mm supracrestal e subcrestal. Os pilares foram conectados após 3 meses e removidos com intervalos de 4, 8 e 10 semanas. Após um período de 6 meses da instalação dos implantes

foram preparadas peças para análise histológica e histomorfométrica com objetivo de quantificar as células inflamatórias nos diferentes níveis ósseos. Os resultados apontam que ocorre um significado aumento de neutrófilos para a interface mais subcrestal, tendo ainda os autores indicando que existe correlação da profundidade da interface pilar/implante com a intensidade do processo inflamatório local e, conseqüentemente, com a perda óssea.

Dibart et al., em 2005, testaram *in vitro* a capacidade de selamento de um sistema de implantes (Bicon, Boston, EUA) com plataforma cone Morse em um experimento dividido em duas fases. Na primeira fase, utilizando-se 10 implantes e 10 pilares, a capacidade de selamento para evitar que bactérias do meio externo atingissem a porção interna foi testada. As unidades implante/pilar foram imersas em tubos de cultura contendo 10mL de uma mistura de bactérias (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotipo b ATCC cepa 43718, *Streptococcus oralis* ATCC cepa 35037, e *Fusobacterium nucleatum* ATCC cepa 10953). As amostras foram incubadas por 24 horas em câmara de anaerobiose a 37°C. Na segunda fase do trabalho, a capacidade de selamento para evitar infiltração bacteriana foi testada. Foi utilizada uma mistura de ágar bacteriano a 2% preparado acrescido de um corante. Um décimo de microlitro foi aplicado na porção apical de quatro pilares, sendo 1 utilizado como controle positivo, três como teste e 1 pilar não recebeu a solução para ser o controle negativo. Todas as peças foram submersas em caldo de infusão e incubados em câmaras de anaerobiose a 37°C por 72 horas. Não houve infiltração em nenhuma das fases. Os autores concluíram que o selamento do sistema cone Morse é hermético.

Steinebrunner et al., em 2005, avaliaram a infiltração bacteriana na interface implante/pilar por meio de um novo modelo *in vitro* com carga cíclica. Foram testados cinco diferentes sistemas de implante com 8 combinações implante/pilar para coroas unitárias de molares. Uma suspensão de 5µL de bactérias foi inoculada na porção interna dos implantes. Todos os conjuntos foram imersos em caldo de cultura e submetidos ao simulador de

mastigação com 1.200.000 ciclos e 120 N. Diferenças estatisticamente significativas entre os sistemas foram observadas. Todas as amostras mostraram infiltração bacteriana, sendo que o sistema Canlog (hexágono interno), obteve melhores resultados frente à infiltração em comparação com os outros sistemas. Os autores concluíram que o grau de penetração bacteriana em um determinado sistema é uma condição multifatorial que depende da adaptação entre o implante e o pilar, do grau de micromovimentos entre os componentes e do torque usado para conectá-los.

Sterer et al., em 2008, realizaram estudo clínico com 14 pacientes que receberam a instalação de 59 implantes (Brånemark system e Centerpulse system) e avaliaram a produção de mau odor, em diferentes profundidades de inserção de mucosa, com variação de 1 a 4mm. O cicatrizador era removido e então realizada a medida de profundidade transmucosal em quatro pontos, sendo reportada a mais profunda. As análises foram realizadas no período de 3 a 4 semanas com a remoção do cicatrizador, onde foi mensurada a volatilidade sulfídrica (aparelho Halimeter; Interescan, Chatsworth) e a quantidade de bactérias anaeróbias. As bactérias eram removidas por meio de pontas de papel e depositadas em meio de cultura contendo 2 ml de decarboxilase e incubadas a 37°C por 72 horas. Os autores concluíram que existe uma possível relação da produção de mal odor com a profundidade da mucosa dos implantes dentais de 2 peças. Isso seria justificado pela presença de bactérias anaeróbicas dentro da interface pilar/implante.

Aloise et al., em 2010, realizaram estudo microbiológico comparando a passagem de bactéria *Streptococcus sanguinis* em dois sistemas de conexão Morse: Tapped-in, Bicon e Screwed-in, Ankylos. O estudo foi realizado em 10 amostras de cada modelo de implante que foram inoculadas internamente com 0,1 mililitro de cultura de *Streptococcus sanguinis* biotipo II, através de micropipeta. As peças receberam os pilares correspondentes e torque de 25N.cm para ambas as amostras conforme indicação dos fabricantes. Todos os conjuntos

foram submersos em caldo preparado de BHI (Brain-Heart-Infusion) e incubados a 37°C por 14 dias e em situação anaeróbica. Foi relatado pelos autores que alguns testes de falhas na inoculação das amostras poderiam ocorrer e todos os conjuntos foram esfregados por 1 minuto em cultura de BHI a fim de analisar se ocorreu extravasamento externo. Após o tempo de 14 dias observaram que em 2 amostras de 10 de cada grupo houve contaminação a partir do segundo dia do experimento. Concluíram que independentemente do sistema de inserção do pilar ao implante Morse, por pressão ou por rosqueamento, existe a possibilidade de contaminação da área interna do implante ao meio externo pela interface pilar-implante e que os dois sistemas têm resultados semelhantes em relação ao vedamento bacteriano.

Teixeira et al., em 2011, realizaram estudo microbiológico comparativo entre implantes cone Morse (CM) e hexágono interno (HI) analisando a passagem bacteriana entre pilar e implante e a contaminação estática interna dos implantes. Para o estudo foram selecionados 20 implantes CM (10 para o grupo A e 10 para o B) e 20 implantes HI (10 para o grupo C e 10 para o D) e seus pilares (Neodent, Curitiba-Brasil). Para avaliar a passagem bacteriana do interior para o exterior do implante foram selecionados os grupos A e C, os pilares foram inseridos com torque de 32 e 20N.cm respectivamente e os conjuntos mergulhados em 4ml de cultura de *Streptococcus aureus* em Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas a 37°C durante 14 dias. Após este período os conjuntos foram desinfetados em álcool 70% por 3 minutos e desmontados para realizar a coleta das amostras internas dos implantes com cone de papel, as quais foram inseridas em caldo de BHI. O grupo B foi inoculado com 0,5 mililitros e o grupo D com 2 mililitros de suspensão de *Streptococcus aureus* em seu interior e inserido ao pilar com 32 e 20N.cm. Após a instalação dos pilares foram imediatamente mergulhados em 4ml de caldo BHI por 30 segundos e transferidos para outro tubo de ensaio e incubados a 37°C durante 7 dias. As amostras que apresentassem crescimento bacteriano no primeiro tubo de ensaio seriam descartadas. Para todo o

experimento 3 amostras do total de 40 foram excluídas, uma do grupo B e duas do grupo D. Os resultados apontaram que não houve diferenças estatísticas entre os grupos para o trânsito bacteriano: A com 70% de contaminação e C com 100% de contaminação, e em relação a contaminação interna dos implantes grupo B com 77,7% de contaminação e o grupo D com 100%.

Faria et al., em 2011, avaliaram 150 implantes e pilares (Conexão Sistemas de Prótese- São Paulo- Brasil) em um teste microbiológico *in vitro* e estático analisando a infiltração bacteriana por *Escherichia coli* do interior para o exterior do implante. Os implantes foram divididos em três grupos: 50 implantes e pilares hexágono externo (HE), 50 implantes e pilares hexágono interno (HI) e 50 implantes e pilares cone Morse (CM). Para este ensaio, foram inoculadas colônias de *E.coli* no ápice dos parafusos dos pilares e estes foram imediatamente anexados aos implantes com torque de 20N.cm. Os conjuntos foram esfregados em uma placa de petri com *Tryptic Soy Broth* (TSB) e permaneceram em estufa a 37°C por 24 horas para analisar possível falha e contaminação indesejada. As amostras positivas foram descartadas. Os conjuntos foram mergulhados em tubos de ensaio contendo TSB até o nível da interface implante e pilar e foram levados em estufa a 37°C por sete dias para que ocorresse turvamento do caldo caso fosse observado extravasamento bacteriano. Para analisar se havia bactérias viáveis no interior das amostras que tiveram turvamento, os autores após os sete dias, desparafusaram os conjuntos e coletaram amostras de bactérias no interior dos implantes e descartaram as que apresentaram crescimento negativo. Ao final do experimento foram observados os seguintes resultados: Grupo HE com 2 amostras descartadas por falha na inoculação e 10 por perda de viabilidade bacteriana, foram usadas no teste 38 amostras com 10,53% de contaminação; Grupo HI com 1 amostra descartada por falha na inoculação e 8 por perda de viabilidade bacteriana, 41 amostras usadas e 4,88% de contaminação; Grupo CM teve 10 amostras descartadas por inviabilidade bacteriana e um

total de 40 amostras utilizadas no teste com 7,5% de contaminação. Segundo os autores, para estes grupos de implantes analisados parece haver um baixo nível de contaminação bacteriana através da interface pilar-implante e que a infiltração foi semelhante em todos os tipos de conexões protéticas utilizadas.

Jaworski et al., em 2012, apresentaram nova metodologia para comparar o vedamento bacteriano in vitro de implantes com conexão Morse (CM) e hexagonal externa (HE). Utilizaram 24 implantes sendo 12 implantes HE e 12 implantes CM, todos previamente perfurados em seu ápice até a câmara interna. Os implantes foram então divididos em dois grupos de dez implantes para o ensaio e dois para controle positivo e negativo. Em seguida, foram instalados os munhões correspondentes a cada grupo e dado torque de 32N.cm para o grupo HE e de 10N.cm para o grupo CM como preconizado pelo fabricante. Foi obstruída a via de acesso dos parafusos dos pilares com camadas de diferentes tipos de resinas para impedir a passagem de bactérias por esta via. Os conjuntos foram então inseridos em tampas de silicone de tubos de ensaio de maneira que as interfaces pilar-implante ficassem no interior do tubo. O preenchimento dos conjuntos com BHI (Brain-Heart-Infusion) foi realizado com seringa de injeção e foi instalada outra agulha para a retirada de ar do interior dos tubos. Todo o processo foi realizado com equipamento e material estéril e em câmara de fluxo laminar, as amostras foram enviadas para esterilização por raio gama. Ao retornarem as peças foram mantidas em estufa a 37°C por dois dias e não se observou nenhum crescimento microbiano por turvamento do meio de cultura BHI, eliminando assim qualquer contaminação do processo de preparo das amostras. O ápice dos implantes foi cuidadosamente desobstruído e foi inoculado de 10 a 12 mililitros de caldo de cultura de *Escherichia coli*, e todos os conjuntos foram mantidos em estufa por 14 dias. Obtiveram como resultado: três implantes contaminados para o grupo CM e seis implantes contaminados para o grupo HE. Testes de crescimento microbiológico demonstraram que a contaminação ocorreu por *E.coli* e que não

se observou presença de bactérias nas amostras de resultado negativo. Os autores baseados nos resultados do experimento e com as limitações do estudo concluíram que implantes de *design* cone Morse tem melhor vedamento bacteriano em comparação aos implantes de hexágono externo.

Do Nascimento et al., em 2012, realizaram pesquisa *in vitro* com três diferentes plataformas de implante (20 Hexágono externo, 20 Hexágono interno e 20 conexões Morse) todos da marca Sin-Brasil. Cada grupo teve metades das amostras testadas sem carga e a outra metade após teste mecânico de carga cíclica (500.000 ciclos por 18Hz e 120N) à distância de 4mm do longo eixo do centro do implante. Os implantes foram montados com pilares cônicos correspondentes com torque de 20N.cm, e sobre estes pilares foi instalada uma estrutura metálica em forma de molar e dado torque de 10N.cm. Após o ensaio cíclico as amostras dos três grupos e as amostras que não receberam carga foram mergulhadas em saliva humana a 35°C por 7 dias. Terminado o período de incubação as amostras foram removidas e desmontadas e foram coletadas amostras bacterianas possíveis no interior dos implantes com um *microbrush* estéril e semeadas em 150µL de *TE buffer* para avaliação bacteriana por DNA *Checker-board*. Segundo os autores, as conexões tipo Morse apresentaram os menores resultados de infiltração bacteriana quando submetidas ou não a carga. Já os grupos dos implantes HE e HI que receberam carga aumentaram significativamente a contagem de microrganismos quando comparados aos implantes sem carga.

Silva-Neto et al., 2012, realizaram estudo crítico sobre as metodologias utilizadas em trabalhos de infiltração bacteriana na interface pilar/implante *in vitro* no período de 1990 a 2011. Vinte e um estudos foram eleitos para a análise após os critérios de exclusão. Os estudos microbiológicos são muito sensíveis devido ao manuseio de agentes biológicos que são susceptíveis a alterações do ambiente. Esse fato torna-se ainda mais crítico quando este método de avaliação é realizado em proporções milimétricas e com limitação das condições

de nutrição e oxigenação para os microrganismos. Os trabalhos sinalizaram que a conexão hexágono externo apresentou maiores resultados de microinfiltração, variando de 10% para 100% da quantidade total de amostras testadas, seguido por conexão de hexágono interno e cone Morse. Geralmente, a microinfiltração ocorreu nos três primeiros dias dos estudos. Concluíram que a falta de padronização dificulta a comparação de estudos o que pode explicar algumas das divergências verificadas entre eles. É sugerido para futuros estudos que os pesquisadores se concentrem no método de inoculação e análise do volume específico para os sistemas a serem estudados, bem como no emprego de concentrações mais baixas de suspensões bacterianas inoculadas e um rigoroso monitoramento.

Em 2012, um grupo de pesquisadores entre os quais os professores Tomas Albrektsson e Daniel Buser entre outros, participaram de um *meeting* sobre peri-implantite realizado em Estepona, Espanha, conhecido como *Statements from the Estepona Consensus Meeting on Peri-implantitis*. Os principais tópicos abordados foram: quando os implantes orais são instalados respeitando os protocolos estabelecidos, a taxa de sucesso estimada fica acima de 95% ao longo de 10 anos; uma quantidade limitada de perda óssea marginal (POC) pode ser uma resposta biológica à instalação do implante; alguns implantes podem demonstrar perda óssea, mas a doença pode se manter em um estado estacionário; o termo peri-implantite é aqui definido como uma infecção com supuração associada a alterações significativo de POC após o estágio de cicatrização; a mucosite é definida como inflamação da mucosa peri-implantar podendo progredir para POC; as reações de corpo estranho podem contribuir para POC; fatores de implante - material, propriedades de superfície e *design*; fatores do paciente - doença sistêmica e medicação, doença oral e comportamento; fatores relacionados ao local - volume e densidade óssea, qualidade dos tecidos moles; radiografia periapical é importante ferramenta clínica para ser utilizada na instalação, carregamento e controle do implante; e a

presença de exsudato purulento em combinação com a presença radiográfica de POC necessita intervenção terapêutica.

Kumar et al., em 2013, realizaram estudo avaliando as diferentes hipóteses para a perda óssea peri-implantar e fatores relacionados ao *design* dos implantes, assim como, tratamentos de superfície que influenciam na manutenção óssea marginal. Sobrecarga oclusal, *microgap* na interface pilar-implante, deslocamento apical do espaço biológico, desenho do pescoço do implante e micromovimento do implante e componente protético devem ser relacionados ao modelo do implante a ser utilizado. Pois, a perda óssea marginal inicial abre caminho para mais acúmulo bacteriano causando uma peri-implantite secundária e por sua vez levando a uma sobrecarga oclusal e perda do implante. Entretanto, quando mudanças na estrutura implante-pilar como tratamento de superfície (*Laser-lock*), plataforma *switching*, conexão cônica do pilar e *micro-thread* sobre o pescoço do implante têm demonstrado menores taxas de perda óssea marginal. Novos estudos devem ser realizados para garantir um melhor desenho de implante capaz de manter as estruturas peri-implantares.

Heitz et al., em 2014, realizaram revisão sistemática abordando a importância da prevenção nas taxas de sobrevivência dos implantes. Os autores alertam sobre a terapia periodontal de suporte (STP) como fator essencial para tratar precocemente a mucosite evitando assim a ocorrência da peri-implantite. Foram relacionados diversos fatores para o sucesso do tratamento: orientações de higiene bucal, próteses que propiciem acesso adequado ao controle do biofilme, redução do número de cigarros e controle de doenças periodontais e doenças sistêmicas que podem predispor a doença peri-implantar. Foi estabelecido um protocolo de tratamento para a peri-implantite instalada: debridamento não cirúrgico com ou sem produtos antimicrobianos; reavaliação da saúde peri-implantar, dentro de 1 a 2 meses; acesso cirúrgico se a resolução da peri-implantite não foi alcançada; substituição de componentes protéticos que não ofereçam o controle da placa bacteriana; inclusão do paciente

ao programa de terapia periodontal de suporte; e remoção do implante se procedimentos anteriores não apresentarem resultados positivos.

No Encontro Internacional sobre Fatores Etiológicos e de Risco da Peri-Implantite, acontecido na cidade de Montegrotto (Pádua, Itália) em agosto de 2014, Luigi Canullo, Markus Schlee, Wilfried Wagner, Ugo Covani representaram o grupo Montegrotto e relataram aumento alarmante de peri-implantite. Doença conhecida como o resultado de um desequilíbrio entre a resposta do hospedeiro e bactérias anaeróbias gram-negativas, microrganismos oportunistas, vírus *Epstein-Barr* e variedades bacterianas gram-positivas anaeróbias não sacarolíticas. Segundo os doutores, a grande dificuldade em tratar esta doença está relacionada com a compreensão insuficiente sobre fatores clinicamente desencadeantes de ordem: cirúrgicos, protéticos e biomecânicos. No evento foram analisadas revisões sistemáticas envolvendo grandes centros europeus de ensino. Os participantes foram divididos em grupos para realizar as revisões. Um protocolo detalhado e estratégia de pesquisa foi estabelecido. O grupo reforçou a definição de mucosite publicada no Documento de Consenso de Estepona em 2012 como "inflamação da mucosa peri-implantar sem perda da crista óssea progressiva discernível" e definiu a peri-implantite como um "processo inflamatório dos tecidos moles e duros, associada à perda óssea progressiva após a fase adaptativa de carga protética". Foi observado o consenso da literatura sobre o acúmulo de biofilme como fator etiológico da doença peri-implantar. Entretanto, propriedades da superfície do implante, podem criar um microambiente específico para microrganismos e modular a resposta imune local. Ao mesmo tempo, os vírus podem modificar a resposta do hospedeiro, aumentando o dano causado pela contaminação microbiológica.

Em 2014, D'Ercole realizou estudo *in vitro* para comparar implantes de hexágono interno (HI) e cone Morse (CM) (Dentoflex, São Paulo, Brasil) em relação à microinfiltração por duas cepas bacterianas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Aggregatibacter*

actinomycetemcomitans). Foram utilizados 10 implantes de cada conexão e inoculação de 0,1µL de caldo bacteriano. Os autores determinaram um período de 28 dias em estufa, fato importante porque ocorreram vazamentos na maioria das amostras depois de 14 dias. No grupo CM contaminou 4 amostras no 22º dia e 1 no 24º dia e no grupo HI ocorreram quatro amostras contaminadas no 21º dia e uma no dia 8, 13, 16 e 24. Em pilares HI e CM retidos por parafusos o *microgap* é um fator crítico para a contaminação bacteriana, entretanto a passagem de bactérias foi menor nas conexões CM, embora não significativa em comparação às conexões HI.

Pimentel et al., em 2014, realizaram experimento utilizando uma fina membrana de silicone (Medgel silicone gel, Silimed) como barreira física entre implantes de conexão hexágono externo (HE) e pilar. Quinze implantes HE foram instalados em 10 pacientes com tecidos peri-implantares saudáveis, amostras do biofilme dos *microgaps* foram coletadas antes, 30 e 90 dias após a inserção da membrana de silicone. Análise por PCR para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Tannerella forsythia* foram realizadas nos três momentos. A técnica de PCR foi escolhida porque é muito sensível e pode evidenciar pequenas quantidades de agentes bacterianos diferente do método clássico de crescimento em meio de cultura. Os autores demonstraram que a barreira mecânica não impediu a infiltração de bactérias, mas poderia reduzir o risco de sua ocorrência. No momento zero, 52% das amostras apresentavam pelo menos um dos agentes patogênicos, enquanto amostras coletadas em 30 dias apresentaram 32% e 90 dias 27%. Com base nesses resultados, sugere-se que a membrana de silicone diminuiu, mas não impediu a penetração dos agentes patogênicos avaliados na interface implante-pilar.

Canullo et al., realizaram estudo em 2015 comparando implantes em condições saudáveis e implantes que apresentassem sinais de peri-implantite. Foram selecionados 122 implantes no grupo saudável e 113 implantes no grupo com peri-implantite. Três áreas foram

analisadas: sulco peri-implantar, interior da conexão do implante e sulco do dente vizinho ao implante. Foram coletadas amostras e examinadas por PCR para dez microrganismos da flora oral. Os resultados mostraram que espécies *Prevotella intermedia*, *Prevotella micros* e *Fusobacterium nucleatum* foram os mais prevalentes nos três tipos de sítios para ambos os grupos, e os valores de prevalência foram maior no grupo com peri-implantite. As diferenças de prevalência entre os grupos foram maiores dentro da conexão do que no sulco peri-implantar. Os autores concluíram que a conexão do implante pode funcionar como um reservatório microbiano para doenças peri-implantares.

Podhorsky et al., em 2016, desenvolveram estudo *in vitro* com o objetivo de estudar a colonização bacteriana no interior de implantes previamente tratados com agentes antimicrobianos. Foram utilizados 160 implantes metade modelo Bego (Implant Systems) e outra metade modelo Xive (Dentsply Implants). Para a realização do estudo os implantes foram separados em quatro grupos tratados internamente com: A) gel de clorexidina a 0,2%, B) silicone especial, C) graxa de vedação e D) grupo controle sem nenhum tratamento. Metade de cada modelo tratado passou por termociclagem 5.000 ciclos (5°C/55°C) em água destilada. Todas as amostras foram incubadas em caldo com *Escherichia coli* por 7 dias. Após o período de incubação, foram coletadas amostras microbianas do interior dos implantes para análise por PCR e qRT-PCR. Os autores relataram que ocorreu menor infiltração bacteriana em todos os modelos que receberam agentes antimicrobianos tanto na forma estática, quanto após os testes de termociclagem. Entre os agentes antibacterianos utilizados o selantes à base de graxa, parece fornecer resultado promissor.

Gherlone et al., em 2016, realizaram estudo sobre um novo modelo de retenção de pilar onde um parafuso de cabeça cônica estabilizaria um pilar também cônico, desta maneira as forças exercidas nas paredes do pilar criariam melhor vedamento impedindo a passagem bacteriana. Foram testados 7 modelos de conexões cônicas já conhecidas no mercado e o

modelo teste, 3µL de solução contendo *Escherichia coli* foram inoculados no interior dos implantes. Os pilares correspondentes foram anexados com torques recomendados pelos fabricantes. Os conjuntos foram desinfetados externamente e foram incubados por até 96 horas. Após o período teste todas as 70 amostras dos 7 modelos cônicos apresentaram passagem bacteriana e turvamento dos meios de crescimento, no entanto no modelo experimental apenas 3 amostras de 10 apresentaram resultado positivo e assim esse novo modelo poderia apresentar vantagem na prevenção de infecção do tecido peri-implantar.

Do Nascimento et al., em 2016, realizaram estudo *in vitro* para avaliar cinco maneiras de vedação do parafuso do pilar e determinar as possíveis colônias bacterianas encontradas no interior do implante em uma análise de hibridação por DNA *Checker-board*. Foram divididos cinco grupos de 12 implantes cone Morse (CM) (3,8mm de diâmetro, 10mm de comprimento, SIN - Sistema de Implante Nacional, São Paulo, Brasil). Os implantes receberam pilares de parafuso-passante. Os orifícios de passagem dos parafusos foram fechados de cinco formas diferentes: (1) fita de politetrafluoroetileno + resina composta fotopolimerizada; (2) fita de politetrafluoroetileno + guta-percha; (3) fita de politetrafluoroetileno + resina composta fotopolimerizada; (4) algodão + guta-percha; e (5) algodão + resina composta fotopolimerizada. Outras passagens bacterianas foram vedadas. Os espécimes foram totalmente imersos em 1ml de saliva humana e incubados a 37°C durante 7 dias. Os autores observaram que nenhum dos materiais testados impediu o vazamento microbiano através do canal do acesso ao parafuso. Grande quantidade de espécies microbianas foi detectada nas partes internas dos implantes em todos os grupos. Os valores mais baixos de contagem microbiana foram registrados para fita de politetrafluoroetileno associada com resina composta. E, contagens mais altas foram observadas no grupo com algodão e resina composta fotopolimerizada.

Zipprich et al., em 2016, testou *in vitro* a infiltração bacteriana na junção pilar/implante, antes e após carregamento por meio de uma nova metodologia para simular o processo de mastigação. Foram testados 14 sistemas de implantes, cônicos (grupo 1) e planos (grupo 2). Cinco amostras de cada sistema foram perfuradas perpendicularmente aos seus eixos e anexadas finas cânulas de aço, com o objetivo de acessar o interior dos implantes sem desconectar os pilares. Os implantes foram incorporados em matrizes de resina epóxi para a instalação dos respectivos pilares e uma esfera de titânio de 8mm foi cimentada aos pilares. Os conjuntos foram esterilizados por radiação gama e sofreram simulação de mastigação com o objetivo de simular uma mastigação diária com carga equivalente a 1.200.000 ciclos/5 anos. A carga aplicada foi aumentada gradualmente de 0N ao máximo de 200N. Enquanto eram realizados os testes mecânicos, o interior do implante foi enxaguado para obter amostras microbiológicas através das cânulas metálicas. Não foi detectada contaminação bacteriana em ambos os grupos em condições estáticas. Após o carregamento, a contaminação bacteriana foi detectada em uma amostra de um espécime no grupo 1 e em duas amostras de dois espécimes no grupo 2. O estudo aplicou um carregamento dinâmico simulando uma situação clínica e possibilitou a análise tempo/dependente em relação à vedação bacteriana de diferentes sistemas de implantes. Coletando amostras do interior do implante sem a desconexão do pilar minimizou a possibilidade de erros observados em outras técnicas. As conexões implante/pilar cônicas não foram afetadas pelo aumento do carregamento dinâmico simulado neste estudo, mostrando melhor selamento bacteriano comparado as conexões planas. Consequentemente, segundo os autores, o *design* da interface do pilar e implante desempenha papel crucial em termos de colonização bacteriana.

Ronay et al., em 2016, realizaram estudo com 180 implantes instalados em modelos de acrílico e cobertos de tinta simulando a anatomia de áreas com defeitos ósseos peri-implantares. Foi avaliada a capacidade de descontaminação dessas áreas por uma abordagem

não-cirúrgica por meio de raspagem com curetas Gracey, ultrassom e jato à base de glicina em pó. Dois grupos de profissionais foram convidados a participar do estudo, estudantes de odontologia e periodontistas experientes. Os resultados mostraram que os três métodos não foram suficientes para promover a descontaminação total dos implantes. Raspagem com curetas Gracey obteve a pior porcentagem de áreas não limpas (77,5%), enquanto a taxa do ultrassom foi de 66,5% e do jato de pó de glicina de 34%. Não foi realizada avaliação específica da área da conexão, mas os autores apontaram que diferentes desenhos dos implantes podem dificultar ainda mais a sua limpeza.

Rokn et al., em 2016, realizaram estudo retrospectivo transversal avaliando a prevalência de complicações em pacientes tratados por prótese sobre implantes, sem controle de manutenção no Departamento de Odontologia da Faculdade de Teerã - Universidade de Ciências Médicas, Irã. Foram analisados 134 pacientes com 478 implantes instalados durante o período de 2001 a 2010. O estado de saúde periodontal e do implante foi avaliado para determinar a prevalência de doença peri-implantar. Cinquenta e cinco por cento dos implantes foram instalados ao nível do tecido ósseo. A prevalência de mucosite foi observada em 48,5% dos casos. Os resultados do presente estudo revelaram que em uma população, sem manutenção programada, 20% dos pacientes e 10% dos implantes estariam sujeitos a desenvolver peri-implantite em um período de 4,5 anos.

Nos estudos de Coelho et al., em 2016, foram analisados genes BMP4, FGF3, FGF10 e FGFR1 e a perda óssea peri-implantar de 215 voluntários divididos em dois grupos, com ou sem peri-implantite. Não foram descartados os indivíduos que estivessem nos grupos de fatores de risco como: fumantes, má higiene bucal, portadores de periodontite, diabetes ou portadores de outras doenças sistêmicas. Este estudo confirmou a associação de BMP4, FGF3 e haplótipos FGF10 com portadores de peri-implantite. O estudo mostrou que existe correlação entre diabetes e indivíduos com fenótipo de pouca espessura gengival com o

desenvolvimento de peri-implantite. No entanto, não ficou clara a ação do cigarro. Indivíduos que apresentam o genótipo CC para FGF3 tem aumentado o risco de peri-implantite em contraste com o genótipo TT que atua como fator de proteção.

Yoshinobu et al., 2017, realizaram pesquisa envolvendo 395 pacientes (1136 implantes) tratados em multicentros no Japão. O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência da doença peri-implantar e analisar indicadores de risco. Foi elaborado um questionário sobre os dados básicos como histórico médico, idade, tabagismo, doença sistêmica, registro de controle de placa (PCR), história e presença de periodontite, número e localização de implantes. Foram examinados clinicamente os tipos de implantes, tamanhos e desenho das próteses. A prevalência de mucosite e peri-implantite foi de 29,0% e 17,1%, respectivamente. Os autores relacionaram diversos fatores como o tabagismo, diabetes, higiene bucal e presença de tecido queratinizado como os principais fatores de risco da peri-implantite.

Polak et al., em 2017, realizaram estudo experimental em modelos artificiais de mandíbula com defeitos ósseos em vários estágios de profundidade óssea. Esses modelos receberam implantes com uma superfície preparada simulando um biofilme. Foram testadas diversas maneiras de descontaminação por meios cirúrgicos e não cirúrgicos. Os resultados mostraram que apesar da abordagem cirúrgica aumentar a acessibilidade e eficiência do tratamento, não conseguiu limpar a porção apical da parte exposta dos implantes. E, a abordagem não cirúrgica não apresentou resultados eficientes. Medidas de limpeza adicionais com agentes químicos, fotodinâmicos e biológicos devem ser testados no de tratamento de infecções peri-implantares.

Albrektsson et al., em 2017, levantam a hipótese de que a maior perda óssea que ocorre ao redor do implante até o primeiro ano tem motivos de trauma cirúrgico ou reação de corpo estranho. O próprio implante pode sofrer corrosão pela acidez da ferida cirúrgica até

cerca de 4 semanas após a cirurgia, quando a pressão de oxigênio irá se normalizar e a partir daí a corrosão de titânio também diminuirá. Segundo os autores, relatórios científicos que sugerem que existe alta incidência de peri-implantite não refletem a realidade dos consultórios. Estudos clínicos baseados em evidências mostraram que menos de 5% dos implantes modernos colocados por indivíduos treinados falharão por qualquer razão ou irão apresentar peri-implantite durante um longo período em função. A porcentagem de implantes que desenvolverão peri-implantite num período de até 10 anos é por volta de 0-2%. A presença de inflamação, por si só, não é suficiente para diagnosticar a doença. A noção original de que peri-implantite é a mesma doença bacteriana como a periodontite em torno dos dentes não pode ser aceita. Reações imunológicas provocadas por reação de corpo estranho podem constituir uma teoria alternativa para o que se denomina "peri-implantite". No entanto, bactérias podem aparecer na superfície do implante durante a reabsorção óssea marginal. Estudos clínicos que demonstram que a presença, mesmo em grandes números, dos chamados patógenos periodontais em sulcos e componentes não necessariamente mostraram a perda óssea peri-implantar, desta maneira o papel dessas bactérias ainda não está claro. É possível que essas bactérias representem uma infecção oportunista secundária, ou alternativamente as bactérias podem resultar da reação de corpo estranho. Foi mencionado no postulado de Koch que os microrganismos envolvidos na peri-implantite, quando introduzidos em um organismo, não foram capazes de causar a doença.

Sanz-Martín et al., em 2018, realizaram revisão sistemática e meta-análise para avaliar o impacto que modificações da estrutura do pilar poderiam causar à saúde do tecido peri-implantar. Além disso, avaliaram como diferenças no desenho macroscópico, topografia e tratamento de superfície influenciariam em uma reação inflamatória local. Os resultados da meta-análise, em 13 trabalhos selecionados, indicaram que os pilares de zircônia (Zr) apresentaram menor índice de bolsa peri-implantar ao longo do tempo. Esta revisão

sistemática reuniu dados de 372 pacientes com um total de 608 implantes instalados. O período médio de acompanhamento foi de 36 meses. Os autores relataram que houve aumento estatisticamente significativo da inflamação na mucosa para pilares de titânio quando comparados aos pilares de zircônia. Provavelmente pela menor retenção de biofilme na zircônia em comparação com o titânio devido às propriedades superficiais deste material, induzindo um menor grau de inflamação. O desenho macroscópico, a topografia superficial ou o tratamento de superfície, no entanto, não tiveram influência significativa na reação inflamatória dos tecidos moles.

Renvert e Polyzois, em 2018, escreveram artigo sobre peri-implantite e relataram que os melhores resultados clínicos são alcançados quando o diagnóstico e o tratamento são realizados precocemente, a intervenção quando necessária, não deve ser adiada. Dados sugerem que os compartimentos intracoronais de próteses fixas retidas por parafusos, bem como as cavidades internas dos implantes estão fortemente contaminadas e que a interface implante/pilar pode ser uma importante fonte de passagem de bactérias.

3 PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

Comparar a capacidade de vedação, frente à contaminação bacteriana na região da interface implante/pilar entre implantes de conexão hexagonal externa, interna e cone Morse de maneira estática e após teste de carga termomecânica.

HIPÓTESE

Não há diferença em relação à contaminação bacteriana na região da interface implante/pilar entre implantes de conexão hexagonal externa, interna e cone Morse em condições sem carga.

Não há diferença em relação à contaminação bacteriana na região da interface implante/pilar entre implantes de conexão hexagonal externa, interna e cone Morse após teste de carga mecânica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Preparo dos implantes

Para realização deste ensaio laboratorial foram utilizados 93 implantes, sendo que 2 foram usados como controle positivo e um negativo e o restante fizeram parte do corpo do estudo. Os implantes foram distribuídos em três grupos: Grupo 1 - com 30 implantes HE modelo Titamax Ti Cortical Plataforma 3.75 x 15.0mm; Grupo 2 - com 30 implantes HI Titamax II Plus 3.75 x 15.0mm; e Grupo 3 - com 30 implantes CM Titamax Cortical 3.75 x 15.0mm. Cada modelo de implante recebeu um pilar protético correspondente, Grupo 1 – Munhão Universal SF, Grupo 2 – Munhão Universal II Plus e Grupo 3 – Munhão Universal parafuso passante. Os grupos foram divididos em dois subgrupos com 15 implantes cada, com amostras sem (A) e com termociclagem mecânica (B) (Figura 1).

Figura 1 - Visão esquemática das amostras do estudo.

Fonte: Acervo pessoal.

Para quantificar o torque de inserção dos pilares sem a ação de atrito que poderia ocorrer nas paredes do implante CM, foi estabelecido como critério de escolha pilares com

parafuso passante. Além disso, a porção protética foi igual para os três modelos de implante, com altura de 6mm. Todos os implantes e componentes foram adquiridos de diferentes lotes de fabricação da mesma empresa (Neodent, Curitiba, Brasil).

Os implantes foram perfurados com fresa de 1,0mm na extremidade apical até atingir a câmara interna (Figura 2). Os orifícios foram inspecionados para que não ficasse nenhuma rebarba no interior dos implantes o que poderia prejudicar a comunicação entre a área interna e a cavidade apical perfurada.

Figura 2 - Perfuração com broca de 1mm de diâmetro no ápice até a porção da câmara interna do implante.

Fonte: Acervo pessoal.

4.2 Preparo Pilar/Implante

O preparo das amostras e os testes mecânicos ocorreram no Laboratório de Estudos Biomecânicos em Prótese e Implantes, do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP. Os implantes foram estabilizados em um cilindro metálico confeccionado em aço e fixados por parafuso a fim de que fossem instalados os respectivos munhões com parafuso passante (Figura 3).

Figura 3 - A) Cilindro de aço com parafuso de fixação. B) Fixação do Implante por parafuso de aço.

Fonte: Acervo pessoal.

Os conjuntos implante/pilar receberam os torques recomendados pelo fabricante com valores de 32N.cm para o Grupo 1, 20N.cm para o Grupo 2 e 15N.cm para o Grupo 3, realizados com torquímetro digital (Torque Meter TQ 8800, Instrutherm, São Paulo, Brasil) (Figura 4 e 5).

Figura 4 - Torquímetro digital TQ 8800.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 5 – Amostras dos torques realizados nos grupos HE mais superior e direito, HI centro e CM inferior.

Fonte: Acervo pessoal.

Em seguida, o orifício do pilar foi obstruído com uma fita de politetrafluoretileno (teflon), uma camada de resina temporária, marca Tempo (Fill Magic, Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil) e por último uma camada de resina flow Opallis (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brasil) para evitar que bactérias utilizassem esta região como via de passagem. O orifício perfurado no ápice do implante foi vedado com uma fina camada de resina temporária (Tempo Fill Magic, Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil) para que posteriormente fosse facilmente removido (Figuras 6 e 7).

Figura 6 – Orifícios de passagem dos parafusos passantes sendo fechados com a última camada de resina flow, ativada por fotopolimerização.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 7 – Desenho esquemático do vedamento da passagem do parafuso e do ápice do implante.

Fonte: Acervo pessoal.

Foram confeccionadas, em laboratório protético, 93 coroas metálicas. Primeiramente o análogo metálico do munhão de diâmetro 4,5 e altura interoclusal 6mm foi inserido em uma base de gesso pedra especial. Em seguida, foi adaptado o cilindro calcinável do munhão e realizado o enceramento com formato de canino (Figura 8 - A a C). O mesmo perfil protético dos três modelos de munhão, permitiu que as coroas protéticas fossem produzidas em série. Sobre o enceramento foi realizado um molde de silicone Zetalabor (Badia Polesini – Itália) para a confecção das demais cópias. Todos os modelos foram incluídos em revestimento e fundidos em Liga Cobalto/Cromo e por fim, foi realizado o acabamento e polimento (Figura 8 - D a F).

Figura 8 – Confeção das coroas metálicas e suas etapas: A - Análogo do munhão compatível a todos os modelos de plataforma, B – Cilindro calcinável antes do enceramento, C – Após o enceramento, D – Molde usado para duplicação dos enceramentos, para manter a mesma anatomia das peças, E – Coroa metálica em Cobalto-cromo após o polimento e F – conjunto de coroas finalizadas.

Fonte: Acervo pessoal.

Os implantes foram presos a cilindros de aço e as coroas protéticas foram cimentadas com cimento dual resinoso RelyX U200 (3M, Sumaré, São Paulo) (Figura 9 - A a C). Os conjuntos foram armazenados em estufa a 37⁰ C, por 24 horas para secagem antes de iniciar os testes mecânicos.

Figura 9 – A) Preparo do cimento. B) Conjuntos HI, CM e HE montados e cimentados. C) Coroa cimentada presa ao suporte de aço.

Fonte: Acervo pessoal.

4.3 Ensaio de Termociclagem Mecânica

Os conjuntos implante/pilar/coróa dos subgrupos B foram submetidos ao teste de cargas cíclicas (2.000.000 ciclos termomecânicos 5Hz e ângulo de 90 graus e temperatura entre 5°C - 55°C) em máquina de ensaios de simulação pneumática Biopdi (Biopdi, São Carlos, São Paulo, Brasil) (Figura 10 – A e B). O subgrupo A não passou pelo ensaio de termociclagem.

Figura 10 – A) Ensaio de termociclagem realizado em seis amostras por período em ângulo de 90°. B) Vista aproximada da ação mecânica nos conjuntos.

Fonte: Acervo pessoal

4.4 Preparo para o ensaio microbiológico

Os conjuntos foram preparados em capela de fluxo laminar no laboratório de Microbiologia do setor de Farmácia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), utilizando avental, máscara e luvas estéreis (Figura 11).

Figura 11 – Preparo das amostras em capela de fluxo laminar.

Fonte: Acervo pessoal.

Todos os implantes foram inseridos individualmente em uma tampa de silicone de tubo de ensaio, de maneira que a porção correspondente ao componente protético ficasse no interior do tubo. A perfuração na tampa que permitiu a colocação do implante foi realizada por meio de pinça perfuradora (Figura 12 A e B).

Figura 12 – A) Utilização da pinça perfuradora e inserção dos implantes a tampa do tubo de ensaio. B) Conferindo o fechamento apical dos implantes

Fonte: Acervo pessoal.

As tampas transpassadas com os implantes foram anexadas aos tubos de ensaio. Na área externa, foi utilizada uma fita plástica isolante adesiva, (Foxlux, Curitiba, Brasil), para selar a tampa ao tubo de ensaio, sendo da cor azul para os implantes do Grupo 1, verde para os conjuntos do Grupo 2 e vermelha para o Grupo 3. Os subgrupos B, os quais receberam carga cíclica, além das cores descritas receberam uma tarja branca (Figura 13 - A e B).

Figura 13 – A) Colagem das fitas adesivas para vedar a junção tubo de ensaio/ tampa. B) Diferenciação entre os grupos do estudo.

Fonte: Acervo pessoal.

Foi instalada uma agulha de seringa descartável estéril para liberar o ar do interior do tubo, e com outra seringa descartável estéril foi injetado caldo BHI (*Brain Heart Infusion*, Becton Dickinson, Lockesville, EUA) (Figura 14 - A e B), preenchendo o tubo com caldo de cultura até acima da junção pilar/implante (Figura 15). Foi aplicada na extremidade externa da tampa uma fina camada de resina Bisacrílica (Structur, Voco, Alemanha), promovendo íntimo contato com o corpo do implante para evitar que bactérias transitem para o interior do tubo pela lateral dos implantes (Figura 16).

Figura 14 A e B - Preenchimento dos tubos de ensaio com meio de cultura BHI, a seta amarela mostra a segunda agulha de injeção que serve como cânula de descompressão de ar.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 15 – Desenho representando o preenchimento com meio de cultura acima da junção pilar/implante e com quantidade mínima de ar residual no interior do tubo de ensaio.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 16 – Preparo da tampa da amostra com uma camada de resina bisacrilica externamente.

Fonte: Acervo pessoal.

Os conjuntos foram embalados com plástico filme e enviados imediatamente para esterilização por raios gama com 20Kgy, no IPEN, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - São Paulo, Brasil, por meio de um irradiador multipropósito de Cobalto-60, que libera ondas eletromagnéticas capazes de exterminar organismos vivos (Figura 17). O processo elimina fungos e bactérias em qualquer ciclo de vida.

Figura 17 - IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares) Centro de Tecnologia das Radiações com um Irradiador de Cobalto-60.

Fonte: Acervo pessoal.

4.5 Ensaio Microbiológico

Após o retorno das amostras da radiação gama, iniciou-se a fase de testes microbiológicos, realizados em capela de fluxo laminar no laboratório de Microbiologia do setor de Farmácia da Universidade Federal do Paraná – (UFPR), os vedamentos apicais foram removidos e com seringa estéril foi inoculado caldo BHI contendo preparado de bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922, Culti-Loops, Dartford, Reino Unido) em fase log de crescimento, com turbidez ajustada segundo tubo 0,5 da escala de *MacFarland*, ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) (Figura 18 – A e B). Com o intuito de garantir a viabilidade das bactérias em todo o tempo proposto para o ensaio, foi acrescentado meio de cultura a cada 7 dias durante o período de 4 semanas.

Figura 18 – A) Remoção da resina tempo no ápice do implante. B) aplicação de meio de crescimento contendo bactérias *Escherichia coli*.

Fonte: Acervo pessoal.

Todos os conjuntos ficaram incubados por 28 dias a 37°C. “A *Escherichia coli* é uma bactéria móvel *Gram* negativa facultativa anaeróbica em forma de bacilo, medindo de 1,0 a 1,5µm de diâmetro e entre 2,0 e 5,0µm de comprimento amplamente usada em ensaios laboratoriais e podendo ser encontrada no meio bucal de indivíduos saudáveis” (Jansen,

1997). As análises de turvamento foram feitas diariamente (Figura 19), a fim de detectar alteração do meio de cultura.

Figura 19 - Análise diária dos grupos estudados para avaliação de turvamento do meio interno indicando crescimento bacteriano.

Fonte: Acervo pessoal.

Ao final de 28 dias todas as amostras contaminadas foram abertas e submetidas à análise de crescimento bacteriano, com *swab* esterilizado e semeadas em placas de *petri* contendo ágar *RAPID'E. coli* 2, incubadas a 44°C por 24 horas. Este meio de cultura utilizado é cromogênico seletivo para uso confirmatório de *Escherichia coli* e outros coliformes em produtos alimentares. O princípio do meio depende de detecção simultânea de 2 atividades enzimáticas: β -D-Glucuronidase (GLUC) e β -D- Galactosidase (GAL). O meio contém 2 substratos cromogênicos. Um substrato, específico para GAL, leva a coloração azul o outro Substrato, específico para GLUC, leva a coloração rosa quando positivo para esta enzima. Coliformes (GAL + / GLUC-) formam colônias da cor verde, no entanto *E. coli* (GAL + / GLUC +) formam colônias violeta. A detecção de GLUC confere uma alta especificidade

para o meio de cultura, pois *Escherichia coli* é uma das únicas espécies de enterobactérias a possuir esta enzima (Figura 20).

Os dados foram analisados e confrontados com o tipo de cepa bacteriana inoculada nos ápices dos implantes e submetidos à análise de dados por teste estatístico.

Figura 20 – Placas de Petri indicando o crescimento específico de bactérias *E. Coli* através da análise cromática-coloração roxa.

Fonte: Acervo pessoal.

4.6 Método da análise dos dados

Para a análise dos dados de parâmetros quantitativos obtidos para os três grupos avaliados (conexão hexagonal externa, interna e cone Morse) foi aplicado o teste não paramétrico de Fisher (Fisher, 1970) para cada agrupamento de acordo com a hipótese do estudo. O nível de significância para todos os testes será $p < 0,05$. As análises foram realizadas utilizando pacotes de software STATA (StataCorp, College Station, Texas – EUA).

4.7 Controles

Existem muitas dificuldades técnicas ao executar um experimento microbiológico. Resultados falso-positivos podem ser obtidos com passagem bacteriana por outras vias ou por contaminações indesejadas e não previstas no estudo. Por outro lado, resultados falso-negativos podem ser erroneamente encontrados quando as cepas bacterianas estão inviáveis ou mortas. O uso de volumes reduzidos de suspensão bacteriana para inoculação com altas

concentrações e períodos mais longos de acompanhamento, acima de 7 dias, pode criar um ambiente extremamente adverso para a sobrevivência bacteriana dentro dos implantes, reduzindo a possibilidade de microinfiltração, devido à competição bacteriana.

Com a intenção de minimizar possíveis falsos resultados e analisar a metodologia foram realizados testes controles.

Controles Bacterianos

- 1)- Teste para analisar falha na esterilização gama – Ao retorno da esterilização gama as amostras permaneceram 48 horas em estufa à 37⁰C e não ocorreu nenhum crescimento bacteriano em qualquer unidade;
- 2)- Teste do caldo BHI - Positivo - Inoculação proposital em um tubo de ensaio e ocorreu crescimento bacteriano pelo turvamento do meio em 24h;
- 3)- Teste do caldo BHI – Negativo - A amostra não foi contaminada até o momento final do experimento e não foi observada nenhuma alteração do meio;
- 4)- Teste de viabilidade bacteriana – foram coletadas no sétimo dia e vigésimo primeiro dia amostras de diferentes implantes e inoculadas em tubos de ensaio estéreis e houve crescimento bacteriano, confirmando que as bactérias estavam viáveis;
- 5)- Teste específico de *Escherichia coli* – todas as amostras positivas foram semeadas em placas ágar *RAPID'E. coli* 2 a 44°C por 24 horas e apresentaram resultado confirmado para *E. Coli*.

Controles de possíveis vias de passagem bacteriana:

- 1) Teste da lateral do implante pela tampa

Foram preparadas quatro amostras, sendo duas amostras com tampas perfuradas e com o implante inserido e duas não perfuradas. Como o objetivo era avaliar a vedação da tampa

dos tubos de ensaio, não foram aplicadas a fita lateral e a resina bisacrílica. Todas as amostras continham caldo de crescimento BHI e sofreram a esterilização por raios gama. Os quatro modelos teste ficaram imersos por uma semana em caldo de cultura semeada por *E. coli*. Os resultados deram negativo nos dois modelos testados (Figura 21 - A a D).

Figura 21 - A e B) Amostras com tampas de silicone perfuradas e não perfuradas utilizadas nos testes. C) Duas amostras foram incorporadas implantes que receberam o mesmo processo de esterilização dos modelos estudados. D) Desenho esquemático dos testes microbiológicos.

Fonte: Acervo pessoal.

2) Teste da lateral da tampa e fita plástica colorida

O objetivo era avaliar a possibilidade de ocorrer contaminação lateral na tampa dos tubos de ensaio apenas com a inserção da fita plástica colorida. Para este modelo experimental

não foi efetuada a perfuração e instalação do implante. A aplicação de caldo bacteriano sobre a superfície externa do tubo de ensaio ocorreu por 7 dias. O turvamento do caldo de cultura sinalizaria a passagem bacteriana pela junção da tampa do tubo de ensaio. Ocorreram resultados negativos para a contaminação das duas amostras (Figura 22).

Figura 22 – Vista aproximada da região interna da tampa do tubo de ensaio com a aplicação de cultura BHI e *E. coli* para o teste de passagem pela lateral do tubo, não foi efetuada a perfuração central.

Fonte: Acervo pessoal.

3) Teste de passagem bacteriana pela camada de resina bisacrílica

Semelhante ao teste anterior, mas com o objetivo de testar a aplicação da resina bisacrílica. Foi realizada a perfuração da tampa (sem a instalação do implante) e posicionada a fita e aplicada a camada de resina. A observação ocorreu durante o período de uma semana também não apresentou resultados para passagens de bactérias (Figura 23).

Figura 23 – Teste da aplicação de resina bisacrílica sobre a tampa perfurada.

Fonte: Acervo pessoal.

5 RESULTADOS

Após os 28 dias de acompanhamento do estudo, foi observada contaminação bacteriana, nos subgrupos B, com ciclagem termomecânica, em três das quinze amostras do Grupo 1 (HE), uma no Grupo 2 (HI) e uma no Grupo 3 (CM). Os subgrupos A, que não receberam cargas cíclicas, mostraram melhores resultados para o vedamento bacteriano, sendo que ocorreu contaminação em apenas uma amostra do Grupo 1, em uma amostra do Grupo 2, e no Grupo 3 não houve crescimento bacteriano em nenhuma amostra (Figura 24 e 25).

Figura 24 - Amostras contaminadas: ao centro em amarelo, duas amostras de controle positivo, na esquerda: amostra HI em verde e HE em azul, sem carga; e na direita amostra CM em vermelho/branco, HI verde/branco e HE azul/branco, com carga cíclica.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 25 - A e B) Precipitado bacteriano no fundo do tubo de ensaio e turvamento do meio de crescimento indicando a penetração de bactérias via *gap* pilar/implante.

Fonte: Acervo pessoal.

Ao comparar os resultados entre os subgrupos de mesma plataforma, observa-se que o número de contaminações do Grupo 1 aumentou de uma amostra quando não carregado, para três amostras após o ensaio termomecânico. Já o Grupo 2 apresentou resultados semelhantes com uma amostra contaminada para cada situação estudada. E, no Grupo 3 não houve nenhum resultado positivo quando não submetido à carga e uma amostra contaminada quando carregado, ou seja, também apresentou um aumento de amostras contaminadas quando submetido a ciclagem (Quadro 1).

Quadro 1 – Número de contaminação em cada subgrupo.

Conexões	Nº de contaminação de amostras sem carga (subgrupo A)	Nº de contaminação de amostras com carga (subgrupo B)
Grupo 1 - Hexágono Externo	1	3
Grupo 2 - Hexágono Interno	1	1
Grupo 3 - Cone <u>Morse</u>	0	1

Fonte: Acervo pessoal.

Quando se analisa o período em que ocorreram as contaminações, os resultados apresentados para os implantes que não receberam carga cíclica, subgrupos A, foram bastante satisfatórios no que diz respeito à vedação bacteriana (Quadro 2), com um resultado positivo para o Grupo 2 no sétimo dia e no décimo segundo dia para Grupo 1, sendo que não ocorreu nenhuma contaminação no Grupo 3, indicando adaptação satisfatória das peças nos três modelos de implantes estudados. Nos subgrupos B, observa-se que o Grupo 1 apresentou contaminação no segundo, sétimo e décimo-segundo dia, entretanto no Grupo 2 houve um resultado positivo no quarto dia, e no Grupo 3 apenas no décimo primeiro dia (Quadro 3).

Quadro 2 – Relação das amostras que **não** receberam cargas cíclicas em relação ao tempo.

Tempo / Dia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		28
Grupo 1A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X	X	X
Grupo 2A	0	0	0	0	0	0	X	X	X	X	X	X	X	X
Grupo 3A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fonte: Acervo pessoal.

Quadro 3 – Relação das amostras que receberam cargas cíclicas e a cronologia da visualização do turvamento do meio.

Tempo / Dia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		28
Grupo 1B	0	X	X	X	X	X	XX	XX	XX	XX	XX	XXX	XXX	XXX
Grupo 2B	0	0	0	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Grupo 3B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X	X	X	X

Fonte: Acervo pessoal.

As amostras que não sofreram simulações de cargas cíclicas apresentaram menores valores de contaminação que as amostras que sofreram carga. Ao analisar as amostras por modelo de conexão não carregadas, o Grupo 1A em relação ao tempo, teve comportamento superior ao Grupo 2A, com o resultado positivo de contaminação ocorrendo 5 dias depois. O Grupo 3A se comportou de maneira superior aos outros dois modelos sem resultados de contaminação. Forças exercidas sobre o sistema implante/pilar ocasionadas pelo ensaio termomecânico parecem influenciar no tempo das contaminações, pois nos três modelos estudados todas as amostras iniciaram as infiltrações mais cedo nos subgrupos B que nos subgrupos A (Gráfico I e II).

Gráfico I – Resultado das amostras que **não** receberam cargas cíclicas em relação ao dia que foi visualizada a contaminação.

Fonte: Acervo pessoal.

Gráfico II - Resultado de amostras que receberam cargas cíclicas em relação ao dia que foi visualizada a contaminação.

Fonte: Acervo pessoal.

5.1 Teste estatístico

Os três modelos de plataforma foram analisados estatisticamente por testes não paramétricos de Fisher tanto em números absolutos, (soma das amostras de todos os modelos de interface) quanto em grupos separados. Observando a relação entre a passagem bacteriana, a carga (Tabela 1) ou com o desenho da conexão. (Tabela 2).

Em relação à carga:

Para tal teste as hipóteses são as seguintes:

Hipótese nula: a carga **não** está associada à contaminação.

Hipótese alternativa: a carga está associada à contaminação.

Tabela 1 – Comparação estatística das amostras com e sem carga em relação à passagem bacteriana

Carga	Não	Sim	Total
Sem carga	43	2	45
Com carga	40	5	45
Total	83	7	90

$$Fisher's\ exact = 0.434 \quad 1-sided\ Fisher's\ exact = 0.217$$

Valor de P (0.434) foi maior que 0,05. Por isso, aceita-se a hipótese nula, concluindo que a carga **não** está associada à contaminação.

Em relação ao desenho da interface:

Análise estatística realizada levando em consideração os grupos HE, HI e CM, independentemente se foram submetidos à carga ou não.

Para tal teste as hipóteses são as seguintes:

Hipótese nula: a interface **não** está associada à contaminação.

Hipótese alternativa: a interface está associada à contaminação.

Tabela 2– Comparação estatística do total de amostras de cada plataforma em relação à passagem bacteriana

Interface	Não	Sim	Total
HE	26	4	30
HI	28	2	30
CM	29	1	30
Total	83	7	90

Fisher's exact = 0.493

Valor de P (0.493) foi maior que 0,05. Por isso, aceita-se a hipótese nula, concluindo que a interface **não** está associada à contaminação.

Foram analisados separadamente os grupos que não receberam carga (Tabela 3) e os que receberam (Tabela 4), em relação à passagem bacteriana.

Sem carga

Para tal teste as hipóteses são as seguintes:

Hipótese nula: a interface **não** está associada à contaminação.

Hipótese alternativa: a interface está associada à contaminação.

Tabela 3– Comparação estatística do grupo que não foi submetido ao teste de carga em relação à passagem bacteriana

Interface sem carga	Não	Sim	Total
HE	14	1	15
HI	14	1	15
CM	15	0	15
Total	43	2	45

Pearson χ^2 (2)=1.046 Pr = 0.593

Fisher's exact 1.000

Valor de P (1) foi maior que 0,05. Por isso, aceita-se a hipótese nula, concluindo que a interface **não** está associada à contaminação.

Com carga

Para tal teste as hipóteses são as seguintes:

Hipótese nula: a interface não está associada à contaminação.

Hipótese alternativa: a interface está associada à contaminação.

Tabela 4– Comparação estatística do grupo que foi submetido ao teste de carga em relação à passagem bacteriana

Interface com carga	Não	Sim	Total
HE	12	3	15
HI	14	1	15
CM	14	1	15
Total	40	5	45

Pearson χ^2 (2) = 1.8000 Pr = 0.407 Fisher's exact 0.594

Valor de P (0.594) foi maior que 0,05. Por isso, aceita-se a hipótese nula, concluindo que a interface **não** está associada à contaminação.

Análise comparativa de cada interface, em relação à carga, HE (Tabela 5), HI (Tabela 6) e CM (Tabela 7).

Interface Hexágono Externo

Tabela 5– Comparação estatística do grupo HE com e sem carga em relação à passagem bacteriana

Interface HE	Não	Sim	Total
Sem carga	14	1	15
Com carga	12	3	15
Total	26	4	30

Fisher's exact = 0.598 1-sided Fisher's exact = 0.299

Resultado: para cada interface o valor de $P > 0.05$, não houve correlação entre contaminação e aplicação de carga para a interface **HE**.

Interface Hexágono Interno

Tabela 6– Comparação estatística do grupo HI com e sem carga em relação à passagem bacteriana

Interface HI	Não	Sim	Total
Sem carga	14	1	15
Com carga	14	1	15
Total	28	2	30

Fisher's exact = 1 1-sided Fisher's exact = 0.759

Resultado: para cada interface o valor de $P > 0.05$, não houve correlação entre contaminação e aplicação de carga para a interface **HI**.

Interface Cônica Morse

Tabela 7– Comparação estatística do grupo CM com e sem carga em relação à passagem bacteriana

Interface CM	Não	Sim	Total
Sem carga	15	0	15
Com carga	14	1	15
Total	29	1	30

Fisher's exact = 1 1-sided Fisher's exact = 0.5

Resultado: para cada interface o valor de $P > 0.05$, não houve correlação entre contaminação e aplicação de carga para a interface **CM**.

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo permitem rejeitar a hipótese nula, dado que houve diferença no comportamento de cada conexão em relação à capacidade de vedamento bacteriano.

Parece ser verdadeiro que a passagem bacteriana pode ocorrer em todos os modelos de conexões, no entanto as conexões Morse mostraram possuir melhor vedação quando comparadas às outras conexões. Inicialmente os modelos de conexão buscavam seguir um desenho muito aproximado dos modelos desenvolvidos por Branemark. Entretanto a soltura de componentes, perdas ósseas marginais e a preocupação com a melhor adaptação entre as peças levaram a necessidade de um conhecimento maior destas estruturas e sua relação com a biologia dos tecidos circundantes. Binon (1996) conduziu estudo mostrando que quanto maior a desadaptação das peças, menor será a quantidade de força necessária para que ocorra o afrouxamento do parafuso de retenção, ou seja, a estabilidade da união da conexão está diretamente relacionada à menor desadaptação dos componentes¹⁰. Desta maneira as empresas procuraram estabelecer rigorosos critérios de confecção de componentes para adquirir adaptação mais precisa. A partir de 2006, quando Lazzara e Porter publicaram suas observações sobre plataforma *switching* e a melhor estabilidade óssea, um novo paradigma foi estabelecido⁴⁶, no qual o desenho da conexão associado à excelente adaptação das peças promove a estabilidade dos tecidos peri-implantares. Assim, as empresas iniciaram o desenvolvimento de plataformas próprias, com diferentes desenhos internos de retenção do pilar e características físicas e mecânicas muito particulares^{44,67}.

De maneira geral, as três plataformas de implantes vêm desempenhando ótimos resultados clínicos, entretanto, pode ser observado que cada modelo de plataforma oferece particularidades que, ao longo do tempo, podem influenciar na estabilidade mecânica ou estética destes implantes. A realização de trabalhos comparativos proporcionam informações destas características e suas possíveis consequências clínicas. No presente experimento foi

possível comparar os três tipos de plataforma de maneira individual, estática e após a simulação de forças, e os grupos entre si.

Como esperado, o subgrupo dos implantes de conexão externa obteve o maior número de amostras positivas após simulação de cargas, com três amostras contaminadas e apenas uma amostra para o subgrupo sem carregamento. Sendo assim, é possível afirmar que este modelo de plataforma apresentou maiores deformações mecânicas quando submetido à carga e consequentemente maior desajuste e aumento do *gap* entre as peças. Este resultado é similar aos encontrados em outros estudos, como Do Nascimento et al. (2012) e Pereira et al (2016).^{28,55}.

Os implantes do modelo hexágono interno apresentaram números similares de contaminações entre os dois subgrupos estudados, com e sem carga, com uma amostra positiva em cada subgrupo. A relação entre a ciclagem das peças e o aumento da passagem bacteriana parece ter tido pouca influência para este modelo de conexão. Estes resultados vão ao encontro aos obtidos por Steinebrunner em 2005, quando comparou 5 diferentes modelos de conexões e o sistema Canlog (hexágono interno) obteve bons resultados frente a infiltração comparado aos outros sistemas⁷⁵. Entretanto Do Nascimento, em 2012, encontrou resultados diferentes para os grupos HI que receberam carga e aumentaram significativamente a contagem de microrganismos quando comparados aos implantes sem carga²⁶.

Apesar de não ter ocorrido nenhuma amostra positiva no subgrupo CM de maneira estática, houve uma amostra contaminada após o teste de carregamento. Este tipo de conexão oferece o melhor desempenho contra o trânsito bacteriano para peças que não sofreram carga. Contudo, mostrou capacidade de vedamento semelhante ao grupo HI no subgrupo que recebeu carga, ambos com uma amostra positiva. Teixeira et al. compararam estes dois sistemas de implantes em trabalho realizado em 2011 e não encontraram diferenças

significantes entre os dois modelos⁷⁷. E Mishra, em 2018, também encontrou maior infiltração no CM após receber carga, quando comparado ao modelo estático⁴⁹.

Ao comparar os sistemas, somando os implantes carregados e não carregados, nota-se que os melhores resultados foram obtidos pelos implantes CM, seguidos dos implantes HI e HE respectivamente. O mesmo foi observado na revisão de literatura realizada por Silva Neto em 2012⁷⁴.

Na comparação dos subgrupos sem carga, os implantes HI e HE obtiveram resultados semelhantes com uma amostra cada, e o subgrupo CM não apresentou nenhuma amostra com contaminação. Estes resultados demonstram boa adaptação das peças, o que provavelmente está relacionado com o cuidado no processo de fabricação dos componentes.³¹

O trabalho de Fernandez, em 2011, mostrou que testes cíclicos mecânicos poderiam aumentar os valores de torque de remoção quando comparado aos valores iniciais de torque de apertamento, diminuindo a desadaptação e consequentemente o *microgap*, em implantes de conexão Morse³². No entanto, no presente estudo, ocorreu aumento de amostras contaminadas nos implantes CM após testes de termociclagem. Sasada e Cochran (2017) levantaram a hipótese de que o comprimento da face de contato interno do cone e o ângulo das paredes internas são diferentes para cada fabricante e podem influenciar no deslocamento bacteriano⁷¹. Do ponto de vista mecânico, quanto menor for o ângulo tipo Morse maior será a estabilidade. O menor grau do ângulo pode levar ao maior desgaste entre o corpo do implante e do pilar, resultando em maior justaposição entre as duas partes. O ângulo interno dos implantes Morse fabricados pela empresa Neodent corresponde à conicidade de 11,5°.

Nos últimos 20 anos foram realizados muitos estudos de simulação de passagem bacteriana pelos *gaps* dos implantes e pilares protéticos (Quadro 4). A maioria destes estudos apresenta metodologia que inocula pequenas doses de caldo bacteriano no interior dos implantes e após a instalação do pilar mergulha o conjunto em caldo de crescimento. A

grande dificuldade em executar esta técnica consiste em dosar o volume de substrato bacteriano utilizado. Segundo Silva-Neto, em 2012, o uso de volumes reduzidos de suspensão, abaixo de 0,3µL, com altas concentrações pode criar um ambiente extremamente adverso para a sobrevivência bacteriana dentro dos implantes, reduzindo a possibilidade de microinfiltração devido à competição entre as bactérias, e assim levar a falsos resultados negativos. Por outro lado, concentrações acima de 0,7µL podem exceder a capacidade interna dos implantes ocasionando extravasamento e promovendo falsos resultados positivos⁷⁴. A facilidade de execução desta metodologia pode camuflar a grande quantidade de variáveis e falsos resultados, oferecendo informações imprecisas e de pouca confiabilidade. Inocular internamente quantidades mínimas de bactérias através de micropipetas sem encostar e contaminar as paredes dos implantes em grande número de amostras parece pouco provável.

Com o objetivo de avaliar melhor a quantidade e especificidade bacteriana utilizada em diferentes estudos, foi realizado um levantamento de 12 modelos experimentais monodirecionais, (área interna para a externa dos implantes), e as concentrações de agentes bacterianos utilizados. (Quadro 4)

Quadro 4 – Estudos de simulação de passagem bacteriana.

Autor	Ano	Volume Utilizado	Bactéria	Modelo do Implante
Jansen	1997	0,5 µL	<i>Escherichia coli</i>	13 Implantes diferentes marcas
Besimo	1999	2 µL	<i>Staphylococcus aureus</i>	Hexágono Interno
Dibart	2005	0,1 µL	<i>A. actinomycetencomitans</i> , <i>S. oralis</i> e <i>F. nucleatum</i>	Conexão Morse
Steinebrunner	2005	5 µL	<i>Escherichia coli</i>	Três sistemas de implantes de 5 diferentes marcas
Dias	2007	0,5 µL	<i>Escherichia coli</i>	Cone Morse e hexágono Externo
Dos Anjos	2009	0,1 µL	<i>Escherichia coli</i>	Três sistemas Conexão Morse de 3 marcas diferentes
Aloise	2010	0,1 µL	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Dois sistemas de conexão Morse
Teixeira	2011	0,5 µL	<i>Streptococcus aureus</i>	Cone Morse e hexágono Interno
Faria	2011	Não Informado	<i>Escherichia coli</i>	Cone Morse e hexágono Externo e Interno
Ranieri	2015	0,5 µL	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Quatro sistemas Conexão Morse
Peruzetto	2016	Não Informado	<i>Escherichia coli</i>	Dois sistemas Conexão Morse mesma marca
Khorshidi	2016	0,2 µL	<i>Streptococcus mutans</i>	Cone Morse e hexágono Externo

Fonte: Acervo pessoal.

Fica evidente que não existe padronização do volume de concentrado bacteriano, nota-se variações de 0,1µL a 5µL. Quase todos os autores mencionaram amostras descartadas por contaminação indesejada. Por meio de um estudo piloto, analisamos o volume máximo no interior dos três modelos de conexão, estudados no presente trabalho, utilizando micropipeta de volume variável Gilson (Alemanha) no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Farmácia da UFPR. Os resultados demonstraram que o volume máximo aproximado era de 10,5µl para a região interna nos implantes HE, 15µl nos implantes HI e de 12µl nos implantes CM, isso sem a perfuração apical e sem o parafuso. Parece muito provável que no momento da inserção do parafuso do pilar poderá ocorrer deslocamento do material inoculado, podendo chegar à região da interface.

A metodologia desenvolvida na Faculdade ILAPEO, descrita por Jaworski em 2012, permite que os volumes bacterianos aplicados nos testes microbiológicos não representem risco de falsos resultados, uma vez que são introduzidos através de via direta, perfuração apical, á câmara interna dos implantes, onde os pilares já se encontram parafusados⁴¹. Entretanto, também os meios de cultura utilizados podem sofrer algum tipo de contaminação durante os preparos do estudo, bactérias em suspensão no ar ou da respiração do operador podem iniciar proliferação no substrato. Nesta metodologia, todos os meios de cultura estão totalmente isentos de qualquer crescimento bacteriano indesejado porque todas as amostras foram esterilizadas por raios gama a 20Kgy antes do ensaio de inoculação. A radiação gama atravessa vidro, metal e borracha e elimina fungos e bactérias em qualquer ciclo de vida.

Importante salientar que o objetivo deste modelo experimental visa a análise do trânsito bacteriano entre o *gap* pilar/implante, para isto duas outras vias de contaminação foram bloqueadas, desta maneira, o orifício de passagem do parafuso de retenção do pilar, recebeu uma fita de politetrafluoretileno (teflon), duas camadas de resinas fotopolimerizável e cimentação de uma coroa metálica. Os resultados do experimento de Do Nascimento (2016),

que após testar cinco formas diferentes de vedação do orifício de passagem do parafuso do pilar, demonstrou que os valores mais baixos de contagem microbiana foram registrados para fita de politetrafluoroetileno associada com resina composta²⁸. A cimentação de coroas metálicas pré-fabricadas evitaria também a passagem bacteriana⁷, alguns trabalhos compararam modelos experimentais parafusados e cimentados e observaram que o cimento preenchia os espaços e não apresentava a presença de bactérias no interior das peças.^{51,72}

Outra possível via de contaminação é a superfície externa da parede do implante inserida na tampa do tubo de ensaio. Este local foi considerado crítico e não foi possível confiar apenas na justaposição que ocorre entre o metal e o silicone. Por isso, foi aplicada uma camada de resina bisacrílica externamente em torno dos implantes até a fita que unia a tampa e a parede do tubo de ensaio, vedando por completo esta terceira via. Foram realizados vários testes controles para comprovar este selamento.

O torque utilizado para instalar o pilar ao implante tem relação direta com o aumento do *gap*^{36,54,44,55}. Entretanto, alguns estudos fixaram os implantes com pinças porta agulha e utilizaram torquímetros manuais em seus experimentos, tornando o controle das medições de força difícil de ser padronizado. Para o trabalho foi utilizado torquímetro digital e as peças foram presas por parafusos a um cilindro metálico, oferecendo assim, maior segurança nos valores de torque recomendados pelo fabricante.

A escolha por bactérias *Escherichia coli*, foi estabelecida pela grande casuística na literatura e pelas características desta bactéria: apresenta mobilidade, é facultativamente anaeróbica, tem tamanho próximo de 1µm, curto tempo de proliferação (20min), pode ser encontrada no meio bucal de indivíduos saudáveis e possui meio de crescimento específico⁴⁰. Para garantir a vitalidade bacteriana, foi acrescentado a cada 7 dias caldo de crescimento BHI, na região do orifício apical do implante; no entanto, observou-se que a partir do décimo terceiro dia, não ocorreram mais contaminações das amostras e notou-se massa de coloração

esbranquiçada no interior das perfurações apicais dos implantes, provavelmente pela saturação do meio bacteriano. Não foi possível afirmar se a formação dessa massa influenciou na obliteração das vias de acesso das bactérias e nos resultados obtidos. Testes controles realizados nos dias 7, 14, 21 e 28, comprovaram que as bactérias estavam vivas em todo o período estudado.

Estudo de Dibart 2005, concluiu que o selamento do sistema cone Morse é hermético²⁵; entretanto Do Nascimento (2012) e Jaworski (2012) demonstraram que os implantes de desenho cone Morse não são herméticos, mas possuem melhor vedamento bacteriano em comparação aos implantes de hexágono externo e interno^{26,41}. Talvez a diferença de resultados nos trabalhos tenha ocorrido pelo fator tempo. O período de incubação das peças no trabalho de Dibart foi de 72h e os demais trabalhos foram realizados em períodos acima de 14 dias. Desta maneira, no presente estudo, optou-se por estender o tempo de incubação por 28 dias como outros autores^{23,76}. Há indícios que bactérias podem colonizaram as superfícies internas dos implantes, em até 25 dias após a cirurgia de segundo estágio e instalação do pilar.¹³ Em nossa pesquisa os dois últimos resultados positivos aconteceram no 11º e 12º dia, determinando que uma situação clínica tempo/dependente não pode ser menosprezada.⁸²

Na década de 90, vários estudos relacionaram a desadaptação entre o implante e o pilar (*gap*) e a região interna do implante, como possíveis retentores de biofilme.^{9,36,40,52} O tipo de conexão entre implante e o pilar está diretamente relacionado ao vazamento bacteriano e à presença de células inflamatórias em torno do *microgap*. Entretanto, propriedades da superfície do implante, podem criar um microambiente específico para microrganismos e modular a resposta imune local.¹⁷

Uma área ainda pouco explorada nas pesquisas é o interior do implante que pode atuar como um reservatório adicional para microrganismos.⁶⁰ Estudos recentes, utilizando

microscopia de varredura, comprovam a formação de colônias bacterianas no interior de pilares submetidos a testes microbiológicos experimentais, contudo a importância da descontaminação dessas regiões no tratamento da peri-implantite ainda não foi avaliada.⁵⁵ Por outro lado, alguns autores, observaram que tratamentos realizados com o objetivo de eliminar o biofilme da superfície do implante, obtiveram algum êxito contra as doenças peri-implantares.^{39,61,66} A abordagem não-cirúrgica através de raspagem com curetas, ultrassom e jato à base de glicina em pó, não foram suficientes para promover a descontaminação total dos implantes.⁶⁹ Entretanto, a abordagem mais invasiva com a completa exposição do implante apresentou melhores resultados clínicos, principalmente quando associada a meios químicos e biológicos, como descontaminação ácida e uso sistêmico de antibióticos.^{66,61} Qualquer que seja a terapia utilizada, um pré-requisito para a estabilidade em longo prazo dos resultados de tratamento da peri-implantite é a capacidade do paciente em manter boa higiene oral.³⁷

Uma recente linha de pesquisa procurou materiais que ocupassem os espaços entre as conexões e impedissem o desenvolvimento microbiológico no interior dos implantes. Foram testados: gel de clorexidina a 0,2%, silicone especial e graxa de vedação. Nenhum material bloqueou a infiltração bacterina, mas a graxa de vedação obteve resultados promissores.⁶⁰ Com o intuito de melhorar a vedação de plataformas de implantes com conexões de hexágono externo, reconhecidas como favoráveis ao trânsito bacteriano, Pimentel et al em 2014, utilizaram uma fina membrana de silicone interposta no *gap* formado pelo implante e o pilar. Apesar de ter diminuído a quantidade de agentes microbianos, não impediu a penetração na interface implante-pilar⁵⁹. Entretanto, alterações realizadas na cabeça do parafuso de retenção do pilar podem auxiliar na diminuição do *gap* entre implantes CM e o componente protético. Gherlone no ano de 2016, comparou *in vitro* um modelo de parafuso de cabeça cônica estabilizando um pilar também cônico, denominado modelo contracone, desta maneira as

forças exercidas nas paredes do pilar no momento do torque do parafuso reduziriam pequenos desajustes entre as peças.³⁵ No experimento 7, modelos de conexões cônicas conhecidas no mercado obtiveram desempenho reduzido à passagem bacteriana quando comparados ao novo modelo. Em contrapartida, pilares sólidos retidos apenas por ação friccional como o modelo Bicon de conexão *locking taper*, também apresentaram melhores resultados quando comparados aos modelos CM retidos por parafusos convencionais.³⁵

Um estudo de Meleo, em 2012, comparou três modelos de conexões Morse, por microtomografia e relacionou a altura da superfície de contato, o raio do cone e o ângulo das paredes internas do implante e do pilar, evidenciando diferenças significativas nos modelos estudados, com valores de 3 a 4 vezes maiores de área de contato.⁴⁸ Por meio da microtomografia, Ribeiro (2017) demonstrou que, após a instalação dos pilares e do torque, as medidas internas sofrem alterações pela deformação⁶⁷. Assim, justificando os estudos de Fernandez et al em 2011, o qual as amostras do implante CM mostraram aumento nos valores de contra-torque quando comparados aos valores iniciais de torque de apertamento.³² Por outro lado, o biofilme pode ter um efeito lubrificante diminuindo o atrito entre o contato das superfícies e pode promover, ao longo do tempo, a corrosão do metal, levando ao afrouxamento das conexões.⁶²

O trabalho de Cosin, em 2011, comparou 40 cepas bacterianas usando PCR, de área do sulco peri-implantar, do orifício do parafuso protético e da região interna do parafuso de fixação do pilar. Os implantes no estudo não apresentavam sinais clínicos de peri-implantite, mas foi encontrado alto número de espécies associadas à patologia. Bactérias patogênicas como *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *L. buccalis*, *P. micra*, *P. melaninogenica* e *Treponema denticola*, foram encontradas em 75% das amostras do sulco periimplantar, 50% no orifício do parafuso protético e 33% na região interna, nas roscas do pilar.²¹ Os autores do estudo acreditam que pode ser questão de tempo até que a biomassa bacteriana comece a

iniciar a patologia em torno desses implantes, considerados clinicamente saudáveis por anos. No entanto, quando desenvolvida a peri-implantite, a presença dessas espécies no interior dos implantes formam um reservatório microbiano que poderia explicar porque estratégias não cirúrgicas de tratamento das peri-implantites apresentam resultados tão modestos.^{66,69}

Apesar das limitações dos experimentos *in vitro*, em reproduzir as condições bucais em toda a sua especificidade, acreditamos que a metodologia desenvolvida pode ser utilizada em novas pesquisas, pela facilidade de execução, maior controle de possíveis falhas que resultem a resultados pouco precisos. Contudo, observamos também que os resultados refletem apenas a capacidade das bactérias em transpor os limites físicos dos três diferentes modelos de conexões, não tendo sido estudada a quantidade numérica de bactérias viáveis. Podemos suspeitar que a diferença do tempo que ocorreram as contaminações pode estar associada a diferentes concentrações bacterianas. Em situações clínicas, quantidades mínimas bacterianas, não desenvolveriam a doença, onde seriam controladas pelo sistema imunológico saudável.

7 CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo foi possível concluir que ao analisarmos a passagem bacteriana através da interface pilar/implante em condições biológicas controladas, não foram observadas significâncias estatísticas em amostras que sofreram ou não carregamento termomecânico. Entretanto, implantes de interface hexagonal externa e cônica apresentaram um aumento de amostras positivas a passagem bacteriana após terem sido submetidas ao ensaio de cargas.

8 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 Dec;10(6):387-416.
2. Albertini M, López-Cerero L, O'Sullivan MG, Chereguini CF, Ballesta S, Ríos V, Herrero-Climent M, Bullón P. Assessment of periodontal and opportunistic flora in patients with peri-implantitis. *Implants Res*. 2015 Aug;26(8): 937-41.
3. Albrektsson T, Zarb GA. Current interpretations of the osseointegrated response: Clinical significance. *Int J Prosthodont*. 1993 Mar-Apr;6(2):95-105.
4. Albrektsson T, Buser D, Chen ST, Cochran D, DeBruyn H, Jemt T, Koka S, Nevins M, Sennerby L, Simion M, Taylor TD, Wennerberg A. Statements from the Estepona Consensus Meeting on Peri-implantitis, February 2-4, 2012. *Clin Implant Dent and Relat Res*. 2012 Dec;14(6):781-2.
5. Albrektsson T, Chrcanovic B, Östman PO, Sennerby L. Initial and long-term crestal bone responses to modern dental implants. *Periodontol 2000*. 2017 Feb;73(1):41–50.
6. Aloise JP, Curcio R, Laporta MZ, Rossi L, Silva AM, Rapoport A. Microbial leakage through the implant-abutment interface of Morse taper implants in vitro. *Clin Oral Implants Res*. 2010 Mar;21(3):328-35.
7. Beltrán MC, Clavijo VB, Ramos GG. Coroas cimentadas em implantes de conexão sem parafuso. *Rev Dental Press Periodontia Implantol*. 2010 Out-Dez;4(4):40-52.
8. Bernardes SR, Mattos MGC, Hobkirk J, Ribeiro RF. Loss of preload in screwed implant joints as a function of time and tightening-untightening sequences. *J Oral Maxillofac Implants* 2014 Jan-Feb;29(1):89-96.
9. Bessimo CE, Guindy JS, Lewetag D, Meyer J. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Sep-Oct;14(5):654-6.
10. Binon PP. The effect of implant/abutment hexagonal misfit on screw joint stability. *Int J Prosthodont*. 1996 Mar-Apr;9(2):149-60.
11. Broggini N, MacManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res*. 2006 May;85(5):473-8.
12. Butignon LE, Basilio MA, Pereira RP, Arioli Filho JN. Influence of three types of abutments on preload values before and after cyclic loading with structural analysis by scanning electron microscopy. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013 May-Jun;28(3):161–170.
13. 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 Jan;76(1):115-120.

14. Calvo-Guirado JL, Ortiz-Ruiz AJ, López-Marí L, Delgado-Ruiz R, Mate-Sánchez J, Bravo Gonzalez LA. Immediate maxillary restoration of single-tooth implants using platform switching for crestal bone preservation: a 12-month study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009 Mar-Apr;24(2):275-81.
15. Canullo L, Goglia G, Iurlaro G, Iannello G. Short-term bone level observations associated with platform switching in immediately placed and restored single maxillary implants: A preliminary report. *Int J Prosthodont*. 2009 May-Jun;22(3):277-82.
16. Canullo L, Schlee M, Wagner W, Covani U. International Brainstorming Meeting on Etiologic and Risk Factors of Peri-implantitis, Montegrotto (Padua, Italy) August 2014. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015 Sep-Oct;30(5):1093-1104.
17. Canullo L, Penarrocha-Oltra D, Covani U, Rossetti PH. Microbiologic and Clinical Findings of Implants in Healthy Condition and with Peri-Implantitis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015 Jul-Aug;30(4):834-42.
18. Casado PL, Villas-Boas R, Mello W, Duarte ME, Granjeiro JM. Peri-implant disease and chronic periodontitis: is interleukin-6 gene promoter polymorphism the common risk factor in Brazilian population? *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013 Jan-Feb;28(1):35-43.
19. Castro DS, Araujo MA, Benfatti CA, Araujo CR, Piattelli A, Perrotti V, Iezzi G. Comparative histological and histomorphometrical evaluation of marginal bone resorption around external hexagon and Morse cone implants: an experimental study in dogs. *Implant Dent*. 2014 Jun;23(3):270-6.
20. Coelho RB, Gonçalves Junior R, Villas-Boas RM, Bonato LL, Quinelato V, Pinheiro AR, Machado A, Nunes CHR, Gonçalves R, Vieira AV, Granjeiro JM, Casado PL. Haplotypes in BMP4 and FGF Genes Increase the Risk of Peri-Implantitis. *Braz Dent J*. [online]. 2016, 27(4):367-374.
21. 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 Dec;13(4):286-95.
22. Degidi M, Iezzi G, Scarano A, Piattelli A. Immediately loaded titanium implant with a tissue stabilizing/maintaining design (beyond platform switching) retrieved from man after 4 weeks: A histological and histomorphometrical evaluation. A case report. *Clin Oral Implant Res*. 2008 Mar;19(3):276-82.
23. D'Ercole S, Scarano A, Perrotti V, Mulatinho J, Piattelli A, Iezzi G, Tripodi D. Implants with internal hexagon and conical implant-abutment connections: an in vitro study of the bacterial contamination. *J Oral Implantol*. 2014 Feb;40(1):31-6.
24. Dias ECLCM. Análise descritiva do grau de adaptação de pilares protéticos osseointegráveis e seu efeito na infiltração bacteriana: um estudo in vitro [dissertação]. Duque de Caxias: Universidade Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”;2007.

25. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. In vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005 Sep-Oct;20(5):732-7.
26. Do Nascimento C, Miani PK, Pedrazzi V, Gonçalves RB, Ribeiro RF, Faria AC, Macedo AP, 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 May-Jun;27(3):551–60.
27. Do Nascimento C, Ikeda LN, Pita MS, Pedroso e Silva RC, Pedrazzi V, Albuquerque 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. *J Prosthet Dent*. 2015 Dec;114(6):831-8.
28. Do Nascimento C, Pita MS, Calefi PL, Oliveira 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 Feb;28(2):242-50.
29. Dos Anjos CM. Análise in vitro da Infiltração Bacteriana na Interface de Pilares Protéticos e Implantes com Plataforma Cone Morse [dissertação]. Duque de Caxias: Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”;2009.
30. Faria R, May LG, Vasconcellos DK, Volpato CAM, Bottino MA. Evaluation of the bacterial along the implant-abutment interface. *J Dental Implant*. 2011 Dec;1(2):51-7.
31. Fauroux MA, Levallois B, Yachouh J, Torres JH. Assesment of leakage at the implant-abutment connection using a new gas flow method. *J Oral Maxillofac Implants*. 2012 Nov-Dec;27(6):1409-12.
32. Fernandes TROF, Gehrke SA, Mardegan FEC, Bortoli Jr N, Tritto MA. Estudo comparativo do torque de remoção dos parafusos de conexão de pilares protéticos sobre implantes com conexão de hexágono interno e cone Morse após ensaio de ciclagem mecânica. *J Health Sci Inst*. 2011 Jul-Set;29(3):161-5.
33. Fetner M, Fetner A, Koutouzis T, Clozza E, Tovar N, Sarendranath A, Coelho PG, Neiva K, Janal MN, Neiva R. The Effects of Subcrestal Implant Placement on Crestal Bone Levels and Bone-to-Abutment Contact: A Microcomputed Tomographic and Histologic Study in Dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015 Sep-Oct;30(5):1068-75.
34. Galindo-Moreno P, Jiménez AF, O’Valle F, Monje A, Silvestre FJ, Juodzbals G, Fernández ES, Catena A. nfluence of the crown-implant connection on the preservation of peri-implant bone: a retrospective multifactorial analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015 Mar-Apr;30(2):384-90.
35. Gherlone EF, Capparé P, Pasciuta R, Grusovin MG, Mancini N, Burioni R. Evaluation of resistance against bacterial microleakage of a new conical implant-abutment connection versus conventional connections: an in vitro study. *New Microbiol*. 2016 Jan;39(1):49-56.

36. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Jan-Feb;14(1):94-100.
37. Heitz-Mayfield LJ, Needleman I, Salvi GE, Pjetursson BE. Consensus statements and clinical recommendations for prevention and management of biologic and technical implant complications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29(Suppl):346-50.
38. Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol*. 2001 Oct;72(10):1372-83.
39. Hoerler SB, Nietz SK, Zook VL, Lohse CM, Salinas TJ, Carr AB, Assad DA. Consistency of Dental Hygiene Therapy Utilizing Various Dental Hygiene Instrumentation and Its Effect on Peri-implant Health and Survival of Dental Implants: A Retrospective Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2017 Nov-Dec;32(6):1371–6.
40. Jansen VK, Conrads G, Richter EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997 Jul-Aug;12(4):527-40.
41. Jaworski ME, Melo ACM, Pichet CMT, Sartori IAM. Analysis of the bacterial seal at the implant-abutment interface in external-hexagon and Morse taper-connection implants: an in vitro study using a new methodology. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012 Sep-Oct;27(5):1091-5.
42. Khorshidi H, Raoofi S, Moattari A, Bagheri A, Kalantari MH. Evaluation of Bacterial Leakage at Implant Abutment Connection: An 11-Degree Morse Taper Compared to a Butt Joint Connection In Vitro. *Int J of Biomater*. 2016;2016:1-5.
43. Kozlovsky A, Tal H, Laufer BZ, Leshem R, Rohrer MD, Weinreb M, Artzi Z. Impact of implant overloading on the peri-implant bone in inflamed and non-inflamed peri-implant mucosa. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Oct;18(5):601–10.
44. Koutouzis T, Wallet S, Calderon N, Lundgren T. Bacterial Colonization of the Implant-Abutment Interface Using an In Vitro Dynamic Loading Model. *J Periodontol*. 2011 April 82(4):614-8.
45. Kumar ABT, Khalia N, Gayathri GV, Kumar BHD, Mehta DS. Peri-implant Crestal Bone Preservation: Where do We Stand? *Int J Oral Implantol Clin Res*. 2013 May-Aug;4(2):72-7.
46. Lazzara RJ, Porter SS. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006 Feb;26(1):9-17.
47. Lee S., Kim JY, Hwang J, Kim S, Lee JH , Han DH. Investigation of Pathogenic Genes in Peri-Implantitis from Implant Clustering Failure Patients: A Whole-Exome Sequencing Pilot Study. *PloS One*. 2014 Jun;12(9):e99360.

48. Meleo D, Baggi L, Di Girolamo M, Di Carlo F, Pecci R, Bedini R. Fixture-abutment connection surface and micro-gap measurements by 3D micro-tomographic technique analysis. *Ann Ist Super Sanita*. 2012;48(1):53-8.
49. Mishra SK, Chowdhary R, Kumari S. Microleakage at the Different Implant Abutment Interface: A Systematic Review. *J Clin Diagn Res*. 2017 Jun;11(6):10-15.
50. Morris IC, Faria AC, Ribeiro RF, Rodrigues RC. Torque loss of different abutment sizes before and after cyclic loading. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015 Nov-Dec;30(6):1256-61.
51. O'Mahony A, MacNeil SR, Cobb CM. Design features that may influence bacterial plaque retention: a retrospective analysis of failed implants. *Quintessence Int*. 2000 Apr;31(4):249-56.
52. Quirynen M, Bollen CM, Eyssen H, van Steenberghe D. Microbial penetration along the implant components of the Brånemark system. *Clin Oral Implant Res*. 1994 Dec;5(4):239-44.
53. Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of literature. *Clin Oral Implant Res*. 2002 Feb;13(1):1-19.
54. Panza L, Boscatto N, Cury AADB. Evaluation of pre-tightening in abutments and prosthetic screws on different implant connections. *Rev Odonto ciência* 2010;25(3):292-95.
55. Pereira J, Morsch CS, Henriques B, Nascimento RM, Benfatti CA, Silva FS, López-López J, Souza JC. Removal torque and biofilm accumulation at two dental implant-abutment joints after fatigue. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2016 Jul-Aug;31(4):813-9.
56. Peruzetto WM, Martinez EF, Peruzzo DC, Joly JC, Napimoga MH. Microbiological Seal of Two Types of Tapered Implant Connections. *Braz Dent J*. 2016 May-Jun;27(3):273-7.
57. Piatelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GC, Di Bonaventura G, Catamo G, Piccolomini R. Fluids and microbial penetration in the internal part of cemented retained versus screw-retained implant-abutment connections. *J Periodontol*. 2001 Sep;72(9):1146-50.
58. Piatelli A, Vrespa G, Petrone G, Iezi G, Anniballi S, Scarano A. Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *J Periodontol*. 2003 Mar;74(3):346-52.
59. Pimentel AC, Manzi MR, Sartori SG, da Graça Naclério-Homem M, Sendyk WR. In vivo effectiveness of silicone gel sheets as barriers at the inner microgap between a prosthetic abutment and an external-hexagon implant platform. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014 Jan-Feb;29(1):121-6.

60. Podhorsky A, Biscopio S, Rehmann P, Streckbein P, Domann E, Wöstmann B. Transfer of Bacteria into the Internal Cavity of Dental Implants After Application of Disinfectant or Sealant Agents *In Vitro*. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016 May-Jun;31(3):563-70.
61. Polak D, Maayan E, Chackartchi T. The Impact of Implant Design, Defect Size, and Type of Superstructure on the Accessibility of Nonsurgical and Surgical Approaches for the Treatment of Peri-implantitis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2017 Mar-Apr;32(2):356–62.
62. Prado AM, Pereira J, Henriques B, Benfatti CA, Magini RS, López-López J, Souza JC. Biofilm Affecting the Mechanical Integrity of Implant-Abutment Joints. *Int J Prosthodont*. 2016 Jul-Aug;29(4):381–3.
63. Proper L, Redaelli S, Pasi M, Zarone F, Radaelli G, Gherlone EF. A randomized prospective multicenter trial evaluating the platform-switching technique for the prevention of post restorative crestal bone loss. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009 Mar-Apr;24(2):299-308.
64. 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 Periodontology*. 2015 May;86(5):696-702.
65. Renvert S, Polyzois IN. Clinical approaches to treat peri-implant mucositis and peri-implantitis. *Periodontol 2000*. 2015 Jun;68(1):369-404.
66. Renvert S, Polyzois I. Treatment of pathologic peri-implant pockets. *Periodontol 2000*. 2018 Feb;76(1):180–90.
67. Ribeiro LRO. Avaliação Da Interface Protética Pilar-Implante de Conexões Cônicas Por Técnica De Microtomografia 3D. Estudo *In Vitro* [dissertação]. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo;2017.
68. Rokn A, Aslroosta H , Akbari S, Najafi H, Zayeri F, Hashemi K. Prevalence of peri-implantitis in patients not participating in well-designed supportive periodontal treatments: a cross-sectional study. *Clin Oral Implants Res*. 2017 Mar;28(3):314-9.
69. Ronay V, Merlini A , Attin T, Schmidlin PR, Sahrman P. *In vitro* cleaning potential of three implant debridement methods. Simulation of the non-surgical approach. *Clin. Oral Implants Res*. 2017 Feb;28(2):151-5.
70. Sanz-Martín I, Sanz-Sánchez I, Carrillo de Albornoz A, Figuero E, Sanz M. Effects of modified abutment characteristics on peri-implant soft tissue health: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2018 Jan;29(1):118-29.
71. Sasada Y, Cochran DL. Implant-Abutment Connections: A Review of Biologic Consequences and Peri-implantitis Implications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2017 Nov-Dec;32(6):1296-1307.

72. Scarano A, Assenza B, Piatelli M, Iezzi G, Leghissa GC, Quaranta A, Tortora P, Piatelli A. A 16 years study of the microgap between 272 human titanium implants and their abutments. *J Oral Implantol*. 2005;31(6):269-75.
73. Scarano A, Valbonetti L, Degidi M, Pecci R, Piattelli A, de Oliveira PS, Perrotti V. Implant-Abutment Contact Surfaces and Microgap Measurements of Different Implant Connections Under 3-Dimensional X-Ray Microtomography. *Implant Dent* 2016 Oct;25(5):656-62.
74. Silva-Neto JP, Nóbilo MA, Penatti MP, Simamoto PC Jr, Neves FD. Influence of methodologic aspects on the results of implant-abutment interface microleakage tests: a critical review of in vitro studies. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012 Jul-Aug; 27(4):793–800.
75. 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 Nov-Dec;20(6):875-81.
76. Sterer N, Tamary I, Katz M, Weiss E. Association Between Transmucosal Depth of Osseointegrated Implants and Malodor Production. *Int J Maxillofac Implants*. 2008 Mar-Apr;23(2):277-80.
77. Teixeira W, Ribeiro RF, Sato S, Pedrazzi V. Microleakage into and from two-stage implants: an in vitro comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011 Jan-Feb; 26(1):56–62.
78. Van Eekeren P, Van Elsas P, Tahmaseb A, Wismeijer D. The influence of initial mucosal thickness on crestal bone change in similar macrogeometrical implants: a prospective randomized clinical trial. *Clin. Oral Implants Res*. 2017 Feb;28(2):214-8.
79. Vigolo P, Gracis S, Carboncini F, Mutinelli S. Internal vs external - Connection Single Implants: a Retrospective Study in an Italian Population Treated by Certified Prosthodontists. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016 Nov-Dec;31(6):1385-96.
80. Yoshinobu O, Wada M, Mameno T, Daimon K, Matsuda H, Fujita D, Sato H, Ozek K. Prevalence of peri-implant disease and risk indicators in a Japanese population with at least 3 years in function. *Clin Oral Implants Res*. 2017;28(Suppl14).
81. Wilson TG Jr, Valderrama P, Burbano M, Blansett J, Levine R, Kessler H, Rodrigues DC. Foreign bodies associated with peri-implantitis human biopsies. *J Periodontol* 2015 Jan;86(1):9-15.
82. Zipprich H, Miatke S, Hmaidouch R, Lauer HC. A New Experimental Design for Bacterial Microleakage Investigation at the Implant-Abutment Interface: An In Vitro Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016 Jan-Feb;31(1):37-44.