



CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO
CURSO DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PERIODONTIA

UTILIZAÇÃO DO METRONIDAZOL ASSOCIADO À AMOXICILINA NO TRATAMENTO DAS PERIIMPLANTITES

THALES RODRIGO COLOMBO VITUSI

1º Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli

2º Orientador: Profª. Drª. Magda Feres

Guarulhos
2006



THALES RODRIGO COLOMBO VITUSI

**UTILIZAÇÃO DO METRONIDAZOL ASSOCIADO À
AMOXICILINA NO TRATAMENTO DAS PERIIMPLANTITES.**

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Periodontia.

1° Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli

2° Orientador: Prof^a. Dr^a. Magda Feres

Guarulhos
2006

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Guarulhos

V834u **Vitussi, Thales Rodrigo Colombo**
Utilização do metronidazol associado à amoxicilina no tratamento das periimplantites. /
Thales Rodrigo Colombo Vitussi – Guarulhos, SP Universidade Guarulhos, 2006.
58 p. : il.; 30 cm

1 – Orientador: Profº Dr. Jamil Awad Shibi
2 – Orientador: Profª Dra. Magda Feres
Dissertação (Mestrado) – Universidade Guarulhos.

1. Implantes osseointegrados. 2. Periimplantite

CDD 21. ed. 617.6

A todos
que se fizeram presentes,
aos familiares
que compartilharam os momentos de conquistas;
aos colegas
que trilharam junto a mesma estrada
dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Osmar Vitussi e Cássia Luzia Colombo que além do incentivo e da possibilidade de estudar sempre, também proporcionam um lar cheio de amor e união; são os meus maiores símbolos de amor e sucesso.

A minha namorada, Daniela Favaro Noccetti, pela compreensão nos momentos de absorção pelo trabalho e pela doce paciência no exercício de ouvir, colaborar, incentivando minhas (nossas) conquistas.

Ao meu irmão, Thomas Eduardo Colombo Vitussi e ao amigo José Flávio Magon de Andrade, pelo auxílio na tradução dos artigos e também, aos momentos de descontração.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jamil Awad Shibli pela paciência e competência em guiar nossas discussões, “descortinando” um novo horizonte de idéias.

A minha co-orientadora, Profa. Dra. Magda Feres pelo incentivo e determinação com que me guiou durante todo curso.

Aos meus avós, Shirley e Hélio Colombo e Rosalina e Armando Vitussi, pelo carinho e pela segurança de que as incertezas estimulam sempre novos caminhos.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UnG, Profa. Dra. Magda Feres, Luciene C. Figueiredo, Jamil Awad Shibli, Sheila C. Cortelli, Cristiane M. Amaral, Poliana M. Duarte, Saulo Geraldeli e José A. Rodrigues pelo prazeroso convívio durante todo o curso.

Aos amigos Leandro de Melo, Marcelo de Faveri e Daniel Sanchez Ferrari pelo auxílio durante toda a parte experimental do estudo.

Aos amigos Sérgio, Sauro, Angélica, Kátia e Adriano pelos momentos de descontração e por toda ajuda durante esse período inesquecível.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, processo no. 05/01939-2 pelo auxílio financeiro.

Aos voluntários que participaram de forma importantíssima para a realização deste trabalho. A todos, o meu respeito e minha gratidão!

RESUMO

O objetivo deste estudo duplo-cego foi avaliar em curto período de tempo, o tratamento não-cirúrgico da periimplantite utilizando sistemicamente, metronidazol e amoxicilina associados à raspagem e debridamento periimplantar. Vinte indivíduos portadores de periimplantites foram divididos em 2 grupos: Grupo Teste - Raspagem e debridamento periimplantar (RDP) associado ao metronidazol (400mg x3/dia, 14 dias) e amoxicilina (500mg x3/dia, 14 dias), e Grupo Controle – RDP associado a placebo. Parâmetros clínicos como presença de placa (0/1), sangramento marginal (0/1), profundidade de sondagem (mm), sangramento à sondagem (0/1), supuração (0/1), nível clínico de inserção (mm) e perda óssea vertical (mm) foram avaliados por um examinador previamente calibrado nos tempos 0 e aos 14, 60 e 90 dias de avaliação. Amostras de biofilme subgingival foram obtidas e avaliadas para 39 espécies bacterianas por meio da técnica *Checkerboard DNA-DNA hybridization*. As terapias utilizadas reduziram significativamente os níveis dos microrganismos, principalmente do complexo vermelho (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*), embora somente a terapia mecânica associada aos antibióticos foi capaz de manter esta redução até o final do período experimental. As médias de profundidade de sondagem e o nível clínico de inserção foram reduzidos durante todo o período avaliado ($p < 0,05$). A percentagem média dos sítios com sangramento marginal e supuração diferiu após a terapia no grupo teste. Nenhuma das terapias reduziu significativamente as médias de perda óssea. O emprego da terapia antibiótica associada à raspagem e debridamento periimplantar não promoveu benefícios clínicos adicionais sobre a terapia mecânica apenas.

Palavras-Chave: implantes osseointegrados; periimplantite; microbiologia; índices clínicos; amoxicilina; metronidazol.

ABSTRACT

The aim of this double-blind placebo study was to evaluate, in a short term period, the treatment of human peri-implantitis using metronidazole plus amoxicillin systemically. Twenty subjects with signs of peri-implantitis were split in 2 groups: Test group – scaling and peri-implant tissue debridement (SPD) associated to metronidazole (400mg 3xday/ 14 days) and amoxicillin (500mg 3xday/ 14 days), and Control Group - SPD and placebo. Clinical parameters such as plaque index (0/1); marginal bleeding (0/1); bleeding on probing (0/1), supuration (0/1), probing depth (mm), clinical attachment level (mm) and vertical bone loss (mm). were evaluated by a single calibrated clinical at baseline and 14, 60, and 90 days after therapy. Subgingival plaque samples were taken and evaluated for 39 bacterial species using *Checkerboard DNA-DNA hybridization*. The therapies evaluated decreased significantly the levels of microorganism of red complex (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*), although just the group that utilize antibiotics was able to keep this reduction to the end of the experimental period. The means of probing depth and clinical attachment loss were reduced during all the experimental period ($p<0.05$). The mean of percentage of sites with marginal bleeding and suppuration difer after the therapy in the test group. The both therapies were not able to reduce the vertical bone loss. The association of antibiotics and peri-implant debridement did not improve any additional clinical effect.

Key Words: Dental implants; peri-implantitis; microbiology; clinical index; amoxicillin; metronidazole.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
1.1 – ETIOLOGIA DAS DOENÇAS PERIIMPLANTARES	3
1.2 – ADMINISTRAÇÃO ANTIBIÓTICA SISTÊMICA NO TRATAMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL	7
1.3 – TRATAMENTO DAS DOENÇAS PERIIMPLANTARES UTILIZANDO MODELOS EXPERIMENTAIS EM ANIMAIS.....	12
1.4 – TRATAMENTO DAS DOENÇAS PERIIMPLANTARES EM HUMANOS.....	15
2. PROPOSIÇÃO	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 – SELEÇÃO DOS INDIVÍDUOS	19
3.2 – CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DOS INDIVÍDUOS ENVOLVIDOS NO ESTUDO..	19
3.3 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	20
3.3.1 – <i>Seleção do sítio periimplantar</i>	22
3.3.2 – <i>Seqüências das consultas de avaliação</i>	22
3.4 - EXAME CLÍNICO E RADIOGRÁFICO	22
3.5- AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	23
3.5.1. <i>Cepas bacterianas e condições de crescimento</i>	23
3.5.2 - <i>Isolamento do DNA e preparo das sondas</i>	24
3.5.3. <i>Coleta das amostras de biofilme subgingival</i>	25
3.5.4. <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>	25
3.5.4.1. Hibridização DNA-DNA	25
3.5.4.2. Detecção das espécies.....	26
3.6 – ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
3.6.1 – <i>Avaliação clínica</i>	31
3.6.2 – <i>Avaliação microbiológica</i>	31
4. RESULTADOS.....	32
4.1 – EFEITOS DAS TERAPIAS SOBRE OS PARÂMETROS CLÍNICOS	32
4.2 – EFEITOS DAS TERAPIAS SOBRE OS PARÂMETROS CLÍNICOS AO LONGO DO PERÍODO EXPERIMENTAL	34
4.3 – EFEITOS COLATERAIS DAS TERAPIAS EMPREGADAS	37
4.4 – EFEITOS DA TERAPIA ANTIBIÓTICA NAS CONTAGENS BACTERIANAS.....	37
4.5 – EFEITOS DAS TERAPIAS NAS PROPORÇÕES DOS COMPLEXOS MICROBIANOS	39
5. DISCUSSÃO	44
6. CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A periimplantite, assim como a doença periodontal, é caracterizada como sendo uma doença complexa, causada por patógenos periodontais que produzem endotoxinas as quais regulam a produção de citocinas, aumentando o infiltrado inflamatório e a liberação de enzimas proteolíticas responsáveis pela destruição dos tecidos periimplantares (Mombelli *et al.*, 1995; Hurzeler *et al.*, 1997; Mombelli & Lang, 1998; Lee *et al.*, 1999; Leonhardt *et al.*, 1999; Mombelli, 1999; Hass *et al.*, 2000; Mombelli *et al.*, 2001; Klinge *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003; Shibli *et al.*, 2003a; Shibli *et al.*, 2003b; Shibli *et al.*, 2003c; Shibli, 2003d; Shibli *et al.*, 2005). Dessa forma, as doenças periimplantares devem ser diagnosticadas e tratadas como infecções bacterianas (Mombelli *et al.*, 1987; Mombelli *et al.*, 1995; Mombelli & Lang, 1998; Listgarten & Lai, 1999; Mombelli, 1999; Khoury & Buchmann, 2001; Mombelli *et al.*, 2001; Shibli *et al.*, 2003a; Shibli *et al.*, 2003b; Shibli *et al.*, 2003c; Martins *et al.*, 2004; Romeo *et al.*, 2005; Shibli *et al.*, 2005).

Os tratamentos utilizados para o re-estabelecimento da saúde e da arquitetura dos tecidos periimplantares são, na sua grande maioria, semelhantes às terapias utilizadas em Periodontia, como por exemplo, químico (Hämmerle *et al.*, 1995; Ericsson *et al.*, 1996; Hurzeler *et al.*, 1997; Mombelli *et al.*, 2001; Schou *et al.*, 2003d), físico (Hass *et al.*, 2000; Shibli *et al.*, 2003a; Shibli *et al.*, 2003c; Shibli, 2003d; Shibli *et al.*, 2004; Schwarz *et al.*, 2005; Shibli *et al.*, 2006), não-cirúrgico (Mombelli *et al.*, 1992; Mombelli *et al.*, 2001; Klinge *et al.*, 2002), cirúrgico associado à regeneração óssea guiada e/ou biomateriais (Persson *et al.*, 1996; Hurzeler *et al.*, 1997; Persson *et al.*, 1999; Khoury & Buchmann, 2001; Persson *et al.*, 2001a; Persson *et al.*, 2001b; Schou *et al.*, 2003a; Schou *et al.*, 2003b; Schou *et al.*, 2003c; Schou *et al.*, 2003d) ou uma combinação destas terapias (Persson *et al.*, 1996; Hurzeler *et al.*, 1997; Persson *et al.*, 1999; Behneke *et al.*, 2000; Hass *et al.*, 2000; Khoury & Buchmann, 2001; Persson *et al.*, 2001a; Persson *et al.*, 2001b; Schou *et al.*, 2003a; Schou *et al.*, 2003b; Schou *et al.*, 2003c; Schou *et al.*, 2003d; Shibli *et al.*, 2003a; Shibli, 2003d; Romeo *et al.*, 2005; Shibli *et al.*, 2006). Estas estratégias terapêuticas têm em comum duas finalidades distintas: a descontaminação da superfície do implante e da região periimplantar, e a restauração das condições de saúde dos tecidos periimplantares (Hämmerle *et al.*, 1995; Mombelli & Lang, 1998; Mombelli, 1999; Hass *et al.*, 2000; Khoury & Buchmann, 2001; Mombelli *et al.*, 2001; Klinge *et al.*, 2002; Roos-Jansaker *et al.*, 2003; Shibli *et al.*, 2004; Shibli *et al.*, 2005;

Shibli *et al.*, 2006). Entretanto, a utilização de técnicas cirúrgicas muitas vezes requer a remoção da prótese implanto-suportada, influenciando a função e a estética do indivíduo (Hämmerle *et al.*, 1995; Behneke *et al.*, 2000; Shibli, 2003d).

Os estudos realizados em animais (Ericsson *et al.*, 1996; Persson *et al.*, 1996; Hurzeler *et al.*, 1997; Persson *et al.*, 1999; Persson *et al.*, 2001a; Persson *et al.*, 2001b; Schou *et al.*, 2003a; Schou *et al.*, 2003b; Schou *et al.*, 2003c; Schou *et al.*, 2003d; Shibli *et al.*, 2003a; Shibli *et al.*, 2006) e os escassos ensaios clínicos em seres humanos (Hämmerle *et al.*, 1995; Behneke *et al.*, 2000; Hass *et al.*, 2000; Khoury & Buchmann, 2001; Mombelli *et al.*, 2001; Romeo *et al.*, 2005; Schwarz *et al.*, 2005) mostram que o principal fator para o aumento do percentual de preenchimento ósseo é a descontaminação de toda a área periimplantar associada à supressão dos patógenos periodontais (Hämmerle *et al.*, 1995; Behneke *et al.*, 2000; Hass *et al.*, 2000; Klinge *et al.*, 2002; Roos-Jansaker *et al.*, 2003). Terapias não-cirúrgicas utilizando a raspagem e debridamento das superfícies periimplantares associadas à administração de antibióticos sistêmicos ou local têm sido propostas, principalmente em modelos animais (Ericsson *et al.*, 1996; Persson *et al.*, 1996; Persson *et al.*, 1999; Persson *et al.*, 2001a).

A associação do metronidazol e amoxicilina sistêmicos tem-se mostrado efetiva no tratamento das doenças periodontais diminuindo a contagem de patógenos periodontais como *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Tanarella forsythia* (Pavicic *et al.*, 1992; Pavicic *et al.*, 1994; Berglundh *et al.*, 1998; Feres *et al.*, 2001; Serino *et al.*, 2001; Winkel *et al.*, 2001; Rooney *et al.*, 2002). Pela sua difusão no sistema circulatório, os antibióticos atingem os periodontopatógenos residentes em bolsas periodontais profundas, células epiteliais do sulco, além da mucosa jugal, dorso e assoalho de língua. Esta diminuição na contagem microbiana reduz a liberação de mediadores do hospedeiro que iniciam e estimulam a atividade osteoclástica resultando em perda óssea (Nguyen *et al.*, 1991; Plagnat *et al.*, 2002; Kivela-Rajamaki *et al.*, 2003).

Considerando que os microrganismos patogênicos envolvidos nas periimplantites (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *Treponema denticola*) são semelhantes às periodontites, a associação do metronidazol e amoxicilina sistêmicos ao debridamento periimplantar pode levar a resultados terapêuticos satisfatórios.

1.1 – Etiologia das doenças periimplantares

Sendo a infecção bacteriana uma das razões primárias da falência dos implantes após a osseointegração, vários estudos observaram diferenças microbianas entre sítios periimplantares saudáveis e sítios periimplantares doentes.

Rams *et al.* (1984) foram os primeiros a investigarem a microbiota do sulco/bolsa periimplantar. Rams *et al.* (1984) colhendo amostras de 17 implantes em função há no mínimo 6 meses, em 13 indivíduos, valendo-se de microscópio de contraste de fase, observaram altos níveis de espiroquetas e bastonetes móveis em 3 implantes considerados perdidos. Esses dados foram ratificados por Holt & Newman (1986), que observaram por meio de cultura e contraste de fase uma grande quantidade de espiroquetas e *Bacteroides* sp. em implantes doentes. Ericsson & Lekholm (1986) observaram em implantes e dentes pilares de prótese, ambos clinicamente livres de inflamação, a presença de bacilos/cocos e bastonetes móveis, perfazendo 50 e 25% do total da contagem, respectivamente.

Comparando a microbiota associada a implantes saudáveis e implantes acometidos pela periimplantite, Mombelli *et al.* (1987), utilizando microscópio de campo escuro e meios de cultura, encontraram, nos implantes com periimplantite, uma microbiota complexa com grande proporção de anaeróbios Gram-negativos. *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., espiroquetas e fusiformes, assim como bastonetes móveis foram encontrados regularmente. Nos sítios saudáveis (controle) os autores observaram uma grande quantidade de cocos e uma pequena quantidade de bastonetes móveis e fusiformes. Espiroquetas não foram encontradas nesses sítios.

Mombelli *et al.* (1988), avaliando a ocorrência de shift bacteriano em conectores protéticos recém-colocados em indivíduos edentados totais, utilizando microscópio de campo escuro e cultura bacteriana, observaram que a microbiota era similar à encontrada nos conectores que já estavam presentes na cavidade bucal. Dos microrganismos identificados 86% eram cocos e 80% dos microrganismos cultivados eram cocos facultativos Gram-positivos. *Actinomyces odontolyticus*, *Fusobacterium* spp. e espiroquetas pequenas foram observadas em um sítio considerado clinicamente doente. Nos implantes saudáveis não foi observada a presença de espiroquetas. *Bacteroides* spp. não foram encontrados com frequência. Os autores concluíram que o shift bacteriano no sítio doente foi mais rápido quando comparado ao sítio saudável.

A microbiota associada a implantes cerâmicos de safira foi avaliada por Sanz *et al.* (1990). Utilizaram dentes com saúde e doença periodontal como grupos controle e implantes com e sem inflamação clínica do tecido periimplantar como grupos teste. Os sítios doentes tanto em dentes quanto em implantes apresentaram uma grande quantidade de bastonetes anaeróbios Gram-negativos, *Bacteroides* spp. e bactérias que estavam se estabelecendo na superfície. Nos sítios sadios havia predominância de cocos facultativos Gram-positivos e bastonetes, sugerindo que a microbiota periimplantar tinha composição semelhante à microbiota periodontal nas condições de saúde e doença.

Avaliando as condições clínicas e microbiológicas de 36 implantes acometidos pela periimplantite, Becker *et al.* (1990) mostraram um aumento da mobilidade e presença de radiolucidez, notada radiograficamente, ao redor desses implantes. Utilizando sondas de DNA encontraram 37,5% de *P.gingivalis*, 35,4% de *Prevotella intermedia* nos sítios periimplantares, mas em concentrações moderadas; *A. actinomycetemcomitans* foi detectado em 27,8% dos sítios, mas em pequenas quantidades. Em outro estudo, analisando a microbiota de conectores protéticos de implantes sadios, Mombelli & Mericske-Stern (1990), por meio de cultura, observaram que 52,8% dos microrganismos cultivados eram cocos anaeróbios facultativos; 17,4% de bastonetes anaeróbios facultativos e 7,3% de bastonetes anaeróbios Gram-negativos. *Fusobacterium* spp. e *P. intermedia* perfaziam 8,8% das amostras enquanto espiroquetas e *P. gingivalis* não foram encontradas.

Examinando a presença de patógenos periodontais em indivíduos portadores de próteses implanto-suportadas ou muco-implanto-suportadas, Ong *et al.* (1992) e George *et al.* (1994), encontraram *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* e *P. gingivalis*. Ong *et al.* (1992), examinando indivíduos que faziam uso de digluconato de clorexidina a 0,2% como enxaguatório bucal, encontraram mesmo na situação de saúde clínica do tecido periimplantar, um maior número de sítios periimplantares com anaeróbios. *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* e a *P. gingivalis* foram encontradas em 1, 7 e 0 sítios, respectivamente, de um total de 37 sítios analisados.

Avaliando 98 implantes de 24 indivíduos, George *et al.* (1994), mostraram que 62,5% dos indivíduos possuíam um ou mais implantes colonizados por *A. actinomycetemcomitans* e/ou *P. intermedia/P. gingivalis*, enquanto, somente 37,5% não possuíam nenhum dos seus implantes colonizados por essas espécies. Os

autores sugeriram que esses microrganismos, geralmente, associados à doença periodontal ocorrem com maior frequência em implantes que exibem inflamação dos tecidos periimplantares.

Em um estudo semelhante ao de Løe *et al.* (1965), Pontoriero *et al.* (1994), induziram experimentalmente mucosite periimplantar em humanos, num grupo de 20 indivíduos parcialmente desdentados entre 36 e 59 anos, que deixaram de realizar medidas de higiene bucal por um período de 3 semanas para promover acúmulo de placa ao redor dos implantes e dentes adjacentes. A composição da microbiota subgingival e submucosa foi avaliada por meio de microscopia de contraste de fase. Tanto os parâmetros microbiológicos quanto os clínicos (presença de placa, índice gengival, sangramento a sondagem, profundidade à sondagem e recessão) foram avaliados antes e após o período experimental, quando os hábitos de higiene foram novamente reinstituídos. Após este período, os parâmetros clínicos observados apresentaram diferenças estatisticamente significante ($p < 0,05$) com relação ao início do experimento, porém, sem diferença estatística entre implantes e dentes. Durante as 3 semanas de acúmulo de placa houve uma alteração da contagem bacteriana ($p < 0,05$), porém, não diferindo entre os grupos. Entretanto, a proporção de espiroquetas e bacilos móveis aumentou nesse período, 1,2 e 2,4% para 6,2 e 17,4%, no grupo de implantes e, de 1,9 e 2,8% para 7,8 e 19,2% no grupo controle, respectivamente. Enquanto que os níveis de cocos diminuíram de 79,3 e 76,3% para 54,3 e 47,3% para implantes e dentes, respectivamente.

Papaioannou *et al.* (1996), correlacionando parâmetros periodontais e a microbiota ao redor de implantes osseointegrados, observaram uma microbiota, composta na sua maior parte, em cocos na situação de saúde periimplantar. Assim, a maioria dos estudos comentados sugere que a formação e maturação da microbiota periimplantar segue os mesmos cursos tanto nas situações de saúde como de doença periodontal.

Bollen *et al.* (1996), observaram o acúmulo do biofilme em conectores com diferentes graus de rugosidade. A análise microbiológica, utilizando cultura e microscópio de contraste de fase, não apresentou diferença estatisticamente significante na contagem de *P. intermedia* e *F. nucleatum* independente do grau de rugosidade do conector.

Lee *et al.* (1999) comparando a microbiota do tecido periimplantar ao redor de 101 implantes clinicamente saudáveis, dentes com coroas totais e dentes

hígidos de 43 indivíduos, encontraram estreptococos, *Veillonella parvula*, *Micromonas micros* e *F. nucleatum* na grande maioria dos implantes. As espécies periodontopatógenas *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* e *C. rectus* foram detectadas em alguns sítios de todos os grupos. Para os dentes com coroas totais a microbiota foi similar à encontrada nos implantes. Nos dentes hígidos, observaram a presença de estreptococos, *Selenomonas noxia* e *P. intermedia*. Esses dados foram corroborados pelos achados de Fardal *et al.* (1999), em um caso clínico de falência múltipla de implantes em curto espaço de tempo, observaram a predominância de *P. gingivalis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* e *Capnocytophaga* spp.; o *A. actinomycetemcomitans* não foi isolado.

Utilizando o *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*, Salcetti *et al.* (1997) avaliaram os níveis de mediadores inflamatórios, fatores de crescimento e a presença de 40 espécies microbianas associadas a implantes doentes e compararam com implantes osseointegrados saudáveis. Avaliaram 21 amostras de biofilme de indivíduos que tinham implantes com periimplantite (grupo 1) e 8 indivíduos com implantes saudáveis (grupo 2). Amostras do fluido crevicular foram colhidas e analisadas segundo a presença de "protagonistas" anabólicos para a reabsorção óssea, prostaglandina E₂ (PGE₂), interleucina-1β (IL-1β) e IL-6, fatores anabólicos de neoformação óssea, fator de transformação de crescimento β (TGF-β) e fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF). Embora tendências positivas fossem notadas, não observaram nenhuma diferença significativa em qualquer amostra microbiológica ou para os níveis de mediadores de inflamação nos implantes doentes quando comparados aos implantes saudáveis. Os autores encontraram também em uma frequência muito alta *P. nigrescens*, *M. micros*, *F. nucleatum* ss *vicentii* e *F. nucleatum* ss *nucleatum*, assim como uma elevação significativa no fluido crevicular de PGE₂, IL-1β e PDGF nos indivíduos com implantes doentes quando comparados aos implantes saudáveis. Além disso, encontraram uma contagem de *P. nigrescens* e *M. micros* que foi correlacionada com as concentrações de PGE₂.

Buscando a característica da microbiota ao redor de implantes e dentes em indivíduos com periimplantites, Hultin *et al.* (2002) avaliaram os parâmetros clínicos e microbiológicos de 36 indivíduos, sendo 17 indivíduos com periimplantite e 19 controles. Através da técnica *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*, foram

capazes de detectar altas porcentagens de amostras positivas para *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *T. denticola*, *M. micros*, *C. rectus*, *E. corrodens*, *S. noxia* e *S. intermedia* em dentes e implantes. *C. rectus* e *S. noxia* não foram encontrados ao redor de implantes do grupo controle. Os principais patógenos periodontais, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola* e *A. actinomycetemcomitans*, estiveram presentes em todas as categorias de sítios em indivíduos e controles. Entretanto, somente ao redor de implantes com periimplantite a quantidade de bactérias encontrada foi superior a 10^6 para estes 5 patógenos.

Comparando implantes com doença periimplantar e dentes periodontalmente doentes de diferentes indivíduos, Listgarten & Lai (1999), por meio de culturas bacterianas, encontraram *T. forsythia* (59%), *Fusobacterium* spp. (41%), *M. micros* (39%) e *P. gingivalis* (27%) nas amostras dos implantes doentes. Nos dentes periodontalmente doentes encontraram *T. forsythia* (83%), *Fusobacterium* spp. (80%), espiroquetas (79%), *M. micros* (51%), *P. gingivalis* (59%) e *E. corrodens* (37%) na periodontite de adulto e *T. forsythia* (85%), *Fusobacterium* spp. (83%), *P. gingivalis* (60%), espiroquetas (59%), *M. micros* (56%) e *C. rectus* (56%) na periodontite refratária. Sugeriram que haveria diferenças qualitativas entre os implantes com periimplantite e os sítios comprometidos periodontalmente.

Shibli *et al.* (2003), avaliaram a indução de periimplantite por meio de ligaduras durante 60 dias em 4 diferentes tipos de superfícies, Ticip (titânio comercialmente puro), TPS (titânio plasma-spray), HA (hidroxiapatita) e Acid (implante de superfície híbrida), em 36 implantes instalados em 6 cães. Foram realizadas avaliações radiográfica e microbiológica, por meio de cultura bacteriana. Pôde-se constatar que para os patógenos investigados *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Fusobacterium* spp., *Campylobacter* spp. e *S. β-hemolíticos*, assim como para contagem total das bactérias viáveis que não houve diferença estatística entre os grupos após os 60 dias de estudo.

1.2 – Administração antibiótica sistêmica no tratamento da doença periodontal

Visando a eliminação de *A. actinomycetemcomitans*, van Winkelhoff *et al.* (1992) selecionaram 118 indivíduos, os quais foram divididos em 3 grupos conforme o diagnóstico que apresentassem – periodontite juvenil localizada, periodontite do

adulto e, refratária. Após a terapia periodontal inicial, os indivíduos utilizaram 250 mg de metronidazol associado a 375 mg de amoxicilina três vezes ao dia, durante 7 dias. Durante os 9 meses de acompanhamento, em 114 (96,6%) dos 118 indivíduos a presença de *A. actinomycetemcomitans* não foi mais detectada. Com relação aos parâmetros clínicos analisados - profundidade à sondagem, nível de inserção e índice de sangramento – todos os grupos apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,0001$) aos 9 meses após terapia inicial. Por exemplo, o grupo da periodontite do adulto, antes do tratamento apresentava os seguintes valores: 8,0 mm, 7,4 mm e 1,7 para profundidade à sondagem, nível de inserção e índice de sangramento, respectivamente. Ao término do estudo, os valores encontrados foram: 5,8 mm, 6,1 mm e 0,4.

Feres *et al.* (2001) compararam as alterações da microbiota subgingival decorrentes da administração de amoxicilina 500 mg (x3/dia) ou metronidazol 250 mg (x3/dia) durante 14 dias em 9 e 8 indivíduos, respectivamente. Os indivíduos foram monitorados clínica e microbiologicamente no início do estudo e 90, 180 e 360 dias após a terapia periodontal não-cirúrgica associada à antibioticoterapia como também, receberam terapia periodontal de suporte após cada sessão de acompanhamento. Coletas adicionais de amostras subgingivais foram feitas aos 3, 7 e 14 dias da administração antibiótica. Os valores médios de profundidade à sondagem no baseline, 90, 180 e 360 dias para o grupo da amoxicilina foram 3,22, 2,89 2,90 e 2,81 mm ($p < 0,01$) e para o grupo do metronidazol foram 3,38, 2,88 2,75 e 2,80 mm ($p < 0,01$). Os valores correspondentes à média do nível de inserção para o grupo da amoxicilina foram 3,21, 2,92, 2,96 e 2,76 mm ($p < 0,05$) e para o metronidazol, 3,23, 2,93, 2,79 e 2,94 mm ($p < 0,01$). A única diferença encontrada entre os 2 grupos foi uma menor porcentagem de acúmulo de placa aos 360 dias para o grupo metronidazol. Metronidazol combinado com RAR reduziu drasticamente a média da contagem dos patógenos no complexo vermelho, *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*, a qual manteve-se por 360 dias após a terapia, principalmente em bolsas inicialmente intermediárias (4 a 6 mm) e profundas (> 6 mm). Já o grupo da amoxicilina também reduziu os níveis dessas três espécies, entretanto, aos 360 dias uma recolonização foi observada, especialmente para *T. forsythia* e *T. denticola*. A média das contagens de alguns periodontopatógenos suspeitos do complexo laranja, como *C. rectus*, *F. nucleatum* ss *vincentii* e *P. intermedia* foi reduzida após a terapia. Essas espécies foram detectadas em níveis

muito baixos três dias após o início da terapia antibiótica, mas mostraram recolonização após a suspensão desses agentes. Aos 360 dias a redução na proporção de *Actinomyces* foi mais evidente no grupo da amoxicilina do que no grupo do metronidazol ($p < 0,01$) e a proporção das espécies do complexo verde foi maior no grupo que utilizou amoxicilina ($p < 0,01$), principalmente em bolsas rasas (< 4 mm) e intermediárias. Outro fato interessante foi a diminuição das contagens iniciais de bactérias logo após os 14 dias de administração de metronidazol ou amoxicilina e o aumento gradual após a suspensão desses agentes. Entretanto aos 90 dias após a terapia as contagens totais das bactérias permaneceram abaixo dos níveis iniciais e foram mantidas aos 180 e 360 dias em ambos os grupos.

Avaliando o efeito adjunto da associação amoxicilina com metronidazol no tratamento de indivíduos com periodontite do adulto, Winkel *et al.* (2001) organizaram 49 indivíduos em grupo controle e teste, constituídos de 26 e 23 indivíduos, respectivamente. Os indivíduos do grupo teste receberam três doses diárias de 375 mg de amoxicilina e 250 mg de metronidazol durante 7 dias, enquanto que os indivíduos do grupo controle receberam placebo. Três meses após a terapia inicial, diferenças estatísticas ($p < 0,05$) puderam ser observadas em relação aos tempos, para índice de placa, índice de sangramento, profundidade à sondagem como também, a porcentagem de sítios ≥ 5 mm remanescentes. Diferenças significativas ($p < 0,05$) com relação às terapias para índice de sangramento, profundidade à sondagem, nível clínico de inserção e porcentagem de sítios remanescentes ≥ 5 mm, também puderam ser observadas. Estratificando-se a profundidade à sondagem como bolsas rasas (0 a 3 mm), moderadas (4 a 6 mm) e profundas (≥ 7 mm), diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) de 0,16 mm, 0,35 mm e 0,72 mm puderam ser observadas a favor da terapia antibiótica para cada nível de estratificação, respectivamente. Do mesmo modo, para o nível clínico de inserção, essas diferenças só puderam ser verificadas em bolsas profundas (≥ 7 mm), enquanto que em bolsas rasas, ambos os grupos perderam inserção, - 0,31 mm e - 0,14 mm para os grupos controle e teste, respectivamente. Os achados microbiológicos desses períodos revelaram, por meio de cultura bacteriana, que para os microrganismos pesquisados, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. micros*, *F. nucleatum* e *P. intermedia*, apenas a terapia periodontal (grupo controle) não apresentou melhoras significativas. Entretanto, com o emprego da combinação antibiótica, alterações foram observadas para os seguintes

microrganismos: *P. gingivalis* (de 13 indivíduos positivos para 3), *T. forsythia* (de 19 para 3) e *P. intermedia* (de 19 para 1) e, diminuições significativas entre os grupos também foram observadas para contagem de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *M. micros*, na significância de 5%. O percentual de indivíduos positivos para *P. gingivalis*, passou de 45 % no baseline para 23 % após terapia no grupo controle e, 46 % para 11 % ($p \leq 0,005$) no grupo teste em bolsas ≥ 5 mm.

Em 1970, cento e setenta indivíduos foram selecionados para a avaliação do efeito longitudinal da terapia periodontal não-cirúrgica, sendo acompanhados por um período de 3 anos. Entre o primeiro e o terceiro ano, 34 indivíduos (20%) apresentaram uma perda de inserção ≥ 2 mm em pelo menos 4 dentes. Destes 34, 20 foram convidados por Serino *et al.* (2001) – entretanto, 3 desistiram – a participarem de uma 2ª intervenção, porém, associando-se amoxicilina (750 mg – x2/dia) e metronidazol (400 mg x3/dia) durante duas semanas, além de 2 bochechos diários com gluconato de clorexidina 0,2% durante 60 segundos. Após 1 ano da terapia não-cirúrgica inicial, houve um ganho médio de $0,3 \pm 0,5$ mm para bolsas intermediárias (4 – 6 mm) e $1,4 \pm 0,8$ mm para bolsas profundas (> 6 mm), mas ao 3º ano de reavaliação, ocorreu uma perda de $0,2 \pm 0,3$ mm tanto para bolsas intermediárias quanto profundas. Os valores encontrados ao final do primeiro ano da terapia antibiótica foram $0,3 \pm 0,7$ mm e $0,7 \pm 1,2$ mm de ganho de inserção para bolsas intermediárias e profundas, respectivamente. Porém, houve uma perda de inserção de $0,2 \pm 0,2$ mm e $0,2 \pm 0,4$ mm para aquelas bolsas ao final de 5 anos de acompanhamento. A média total da porcentagem de placa, índice de sangramento à sondagem e profundidade à sondagem manteve-se constante durante esses 5 anos e, uma perda de 0,4 mm de inserção apresentou-se estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o 3º e o 5º ano. Foi observada uma redução do valor médio do total de bactérias cultivadas viáveis de $10,3 \times 10^6$, no baseline, para $4,6 \times 10^6$ após 1 ano e, um aumento para $14,3 \times 10^6$ aos 5 anos. Tanto as porcentagens de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* quanto de *P. intermedia* diminuíram de 0,5, 8,7 e 2,4 % inicialmente para $< 0,1$, $< 0,1$ e 3,9 % em 1 ano mas, ao final de 5 anos os valores foram 0,4, 2,4 e 3,5 %, respectivamente.

Em estudo duplo-cego, Rooney *et al.* (2002) compararam o efeito da terapia periodontal não-cirúrgica associada à administração sistêmica de metronidazol e amoxicilina. Todos os indivíduos receberam terapia não-cirúrgica e, conforme o grupo a que pertenciam, receberam amoxicilina 250 mg e metronidazol

200 mg (AM) ou, amoxicilina 250 mg e placebo (AP) ou, metronidazol 200 mg e placebo (MP) ou, placebo e placebo (PP) a cada 8 horas, durante uma semana. Esses grupos foram constituídos de 15, 16, 16 e 15 indivíduos, respectivamente. Com relação à profundidade de sondagem, o grupo AM apresentou-se como a melhor terapia na redução de bolsas profundas (≥ 6 mm), 15,9 % para 1,3 %, aumento das bolsas rasas (0 a 3 mm), 62,6 % para 87,2 %, enquanto que o grupo PP foi o que apresentou os resultados menos favoráveis, 19,3 para 12,4 % de bolsas profundas e, 53,9 para 66,4 % de bolsas rasas. Todos os resultados apresentaram diferenças significativas ($p < 0,01$) ao término dos 6 meses do estudo. Tanto para o nível clínico de inserção, sangramento à sondagem quanto para a supuração, os resultados observados foram mais favoráveis ao grupo AM e menos, ao PP, sendo que para o grupo AM, a supuração foi “virtualmente erradicada” – 0,3 % ao término do estudo. A única diferença encontrada em relação à contagem total de bactérias cultivadas foi ao término do 1º mês de acompanhamento onde, o grupo AM apresentou uma redução de $7,25 \times 10^4$ UFC, no baseline, para $6,26 \times 10^4$ UFC no 1º mês. As diferenças encontradas a favor dos grupos testes, para a contagem total de *P. intermedia*, só foram observadas durante o 1º e 3º meses de acompanhamento e não ao término. *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans* não foram analisados estatisticamente.

Haffajee *et al.* (2004) associaram além de amoxicilina (500 mg x3/dia, 14 dias) e metronidazol (250 mg x3/dia, 14 dias), a inserção de fibras de tetraciclina (Actisite®) em bolsas de 4 mm ou mais de profundidade de sondagem na mesma sessão e, profilaxia profissional semanal durante os 3 primeiros meses em indivíduos refratários. Quatorze indivíduos com perda de inserção ≥ 3 mm em pelo menos 3 sítios foram monitorados clínica e microbiologicamente (*Checkerboard DNA-DNA hybridization*) a cada três meses, por um período de 2 anos. A média de redução na profundidade de sondagem foi de $0,83 \pm 0,13$ mm enquanto que o ganho de inserção foi de $0,44 \pm 0,12$ mm. As maiores reduções nos índices gengivais, sangramento marginal, sangramento à sondagem e supuração aconteceram no 3º mês, enquanto que a profundidade à sondagem e nível clínico de inserção, no 6º mês. Essas alterações foram mantidas até o final de 2 anos. Ao compararem a microbiota presente inicialmente nesses indivíduos com outros 360 indivíduos da mesma região geográfica, porém, com diagnóstico de periodontite crônica, observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$ a $< 0,01$) para 13 microrganismos

dos complexos verde, amarelo, laranja e vermelho nos indivíduos com periodontite crônica. Após a terapia empregada, houve uma redução logo aos 3 meses para *Actinomyces naeslundii* 1, *A. naeslundii* 2, *A. odontolyticus*, *S. intermedius*, *Capnocytophaga ochracea*, *C. showae*, *Eubacterium nodatum*, *F. nuc ss nucleatum*, *F. nuc ss polymorphum*, *F. periodonticum*, *P. micros*, *P. intermedia*, *S. constellatus*, *T. forsythia*, *S. anginosus*, *S. noxia* e *T. socranskii* na significância de 5%. Diferenças entre o 3° e 24° meses foram observadas apenas para *V. parvula* e *T. denticola* ($p < 0,05$).

No estudo de Guerrero *et al.* (2005), 20 indivíduos (fumantes e não-fumantes) com periodontite agressiva localizada foram tratados com amoxicilina (500 mg, x3/dia) e metronidazol (500 mg, x3/dia) durante 7 dias, enquanto que 21 indivíduos receberam placebo nas mesmas condições (grupo controle). Esses indivíduos receberam tratamento periodontal não-cirúrgico completo em até 24 horas. Diferenças estatísticas ($p < 0,001$) foram encontradas após 6 meses do tratamento, tanto para o grupo controle quanto para o teste nos parâmetros clínicos avaliados como, média total da profundidade de sondagem, média da profundidade de sondagem ≥ 7 mm e 4 – 6 mm, média de ganho de inserção da boca toda, em bolsas inicialmente ≥ 7 mm e 4 – 6 mm após 6 meses do tratamento. Foram observadas também, aos 6 meses, diferenças significativas ($p < 0,05$ a $p < 0,001$) a favor do grupo teste em 0,5, 0,4, 1,4, 1,0 e 0,5 mm, para redução da média de profundidade à sondagem da boca toda, média da redução da profundidade à sondagem em bolsas entre 4 e 6 mm, ≥ 7 mm, média do ganho de inserção em sítios com bolsas iniciais ≥ 7 mm e entre 4 e 6 mm, respectivamente. Fumantes só não apresentaram diferenças significativas para a média da redução da profundidade de sondagem em bolsas entre 4 e 6 mm e média do ganho de inserção em sítios com bolsas iniciais entre 4 e 6 mm. A redução na porcentagem de bolsas inicialmente ≥ 5 mm foi de 74 % para o grupo teste e 54 % para o controle após 6 meses de estudo ($p < 0,008$).

1.3 – Tratamento das doenças periimplantares utilizando modelos experimentais em animais

Com a finalidade de avaliar o efeito do uso de antibióticos sistêmicos para o tratamento das periimplantites, Ericsson *et al.* (1996) instalaram 30 implantes nas mandíbulas de 5 cães e, após a indução das lesões por ligaduras, separaram os

animais em 2 grupos onde ambos receberam doses de amoxicilina e metronidazol durante 21 dias, porém, só no grupo teste foi realizado retalho para debridamento e aplicação de delmopinol. Observaram que a antibioticoterapia por si só não foi capaz de eliminar a lesão periimplantar, havendo então a necessidade de um concomitante debridamento local da superfície contaminada. Observaram também que ocorria falha na re-osseointegração devido a uma estreita cápsula de tecido conjuntivo fibroso que se interpunha entre a superfície do implante e o osso neoformado. Este achado também foi descrito nos estudos de Persson *et al.* (1996, 1999 e 2001).

Em 2001, para avaliar os resultados dos diferentes tipos de membranas (absorvível e não absorvível) associadas ou não com materiais de preenchimentos (Bio-Oss[®]) no tratamento das periimplantites induzidas por ligaduras, Nociti Jr. *et al.* (2001) instalaram 30 implantes (superfície tratada com ácido) em 5 cães. Todos os grupos receberam metronidazol sistemicamente durante 21 dias, acesso cirúrgico para remoção do tecido de granulação e tratamento da superfície do implante com jato abrasivo por 30 segundos. Em seguida cada implante recebeu a terapia local de acordo com seu grupo (apenas debridamento, PTFE e Bio-Oss[®], Bio-Gide[®] e Bio-Oss[®], apenas PTFE ou Bio-Gide[®] e, somente Bio-Oss[®]). Após 5 meses, não houve diferença ($p=0,612$) entre as diversas formas de terapia apesar dos valores sugerirem melhores resultados para Bio-Gide[®] e Bio-Oss[®] seguido por apenas Bio-Gide[®], somente Bio-Oss[®], PTFE e Bio-Oss[®], apenas PTFE e debridamento apenas. Porém, houve duas exposições da membrana PTFE associada ao Bio-Oss[®], uma exposição para Bio-Gide[®] e Bio-Oss[®] e uma, para Bio-Gide[®].

Visando a re-osseointegração após a resolução dos defeitos gerados por ligaduras, Persson *et al.* (1999) avaliaram 24 implantes em 4 cães que receberam associação de amoxicilina e metronidazol sistemicamente durante 21 dias como adjuntos ao debridamento mecânico com acesso cirúrgico, porém a descontaminação final foi realizada com solução salina ou pedra-pomes abrasiva. Da mesma forma que estudos anteriores, Persson *et al.* (1996) e Ericsson *et al.* (1996), houve resolução das periimplantites, mas tanto o tratamento mecânico quanto o químico da superfície contaminada do implante não foram capazes de estabelecer condições que conduzissem a re-osseointegração.

Utilizando dois tipos de superfícies, lisa ou tratada com ácido (SLA), Persson *et al.* (2001) avaliaram a influência dessas superfícies para obtenção da re-osseointegração. Foram utilizados 4 cães, nos quais foram instalados 24 implantes

sendo, de um lado implante liso e do outro, implante SLA. Regime antibiótico composto por amoxicilina e metronidazol foi administrado por 17 dias e, em ambos os lados foram realizados acesso para debridamento e limpeza com cotonete embebido com solução salina. O preenchimento do defeito ósseo após 6 meses da terapia foi de 72 e 76% para implantes lisos e SLA, respectivamente, enquanto que a re-osseointegração obtida foi de 22 e 84%, respectivamente. Entretanto, a razão pela qual implantes SLA promovem uma maior integração ao tecido ósseo ainda não é conhecida.

De acordo com os estudos prévios de Ericsson *et al.* (1996) e Persson *et al.* (1996, 1999 e 2001), fica evidente que a qualidade da superfície do implante após descontaminação é o fator condicionante para a reosseointegração. Então, em um outro estudo em 2001, Persson *et al.* testaram a hipótese na qual a qualidade da superfície do titânio estaria diretamente relacionada à osseointegração e reosseointegração. Para isso, foram necessários 2 cães e 16 implantes, sendo 4 implantes controles e 12 implantes testes (implantes de 2 porções, 4 mm coronal e 6 mm apical), ambos de superfície lisa e 10 mm de comprimento. Novamente amoxicilina e metronidazol foram administrados sistemicamente por 21 dias, como também o debridamento cirúrgico dos implantes e limpeza com cotonete embebido em solução salina, porém, a porção coronal dos implantes testes foi substituída por implantes novos. Foi constatado que para os implantes controles havia a formação de tecido conjuntivo entre o osso neoformado e a superfície do implante após a resolução da lesão periimplantar, em contraste ao ocorrido com os implantes testes, onde a porção coronal substituta do implante mostrou-se reosseointegrada. Entretanto, na junção entre as porções coronária e apical do implante observou-se a presença de um infiltrado inflamatório.

Em 2003, Shibli *et al.* avaliaram o potencial de cicatrização e reosseointegração em defeitos periimplantares induzidos por ligaduras em 6 cães. Um total de 36 implantes, de 4 diferentes tipos de superfície, foram instalados, sendo que apenas 19 implantes permaneceram viáveis para o tratamento, que consistiu de debridamento cirúrgico das lesões, terapia fotodinâmica e regeneração óssea guiada. Observaram que a porcentagem de preenchimento ósseo foi maior para implantes com superfície de hidroxiapatita (HA), plasma-spray de titânio (TPS), implantes tratados com ácido (AE) e titânio comercialmente puro (cpTi). Enquanto

que a porcentagem de re-osseointegração foi maior para TPS, seguida por cpTi, AE e HA, respectivamente.

1.4 – Tratamento das doenças periimplantares em humanos

Mombelli & Lang (1992), trataram nove indivíduos, sendo quatro desdentados totais e cinco parcialmente desdentados, por meio de debridamento mecânico, irrigação de todas as bolsas periimplantares maiores que 3 mm com clorexidina 0,5% e antibioticoterapia sistêmica, com uma dose diária de 1.000 mg de ornidazol, durante dez dias. Esses indivíduos foram selecionados de acordo com o monitoramento microbiológico, onde deveriam apresentar contagens $\geq 10^6$ unidades formadoras de colônias por mililitro de bactérias anaeróbias cultiváveis e, porcentagem de bactérias anaeróbias igual ou superior a 20%. No 10º dia após o tratamento, a microbiota foi drasticamente reduzida e espiroquetas não foram mais detectadas, ocorrendo um shift bacteriano onde cocos gram positivos facultativos eram predominantes. Após 3 meses de tratamento a recolonização por vários microrganismos, por exemplo, *P. intermedia*, atingiu o pico. Em 12 meses *P. intermedia* e *Fusobacterium* spp diminuíram novamente. Aquela redução inicial foi devida ao efeito imediato do antibiótico, enquanto que a redução microbiana tardia, aos 12 meses, estaria associada à redução gradual da profundidade de sondagem periimplantar juntamente com um aumento na pressão de oxigênio além da redução dos produtos sangüíneos disponíveis. Isso poderia exercer uma pressão ecológica, longitudinal, para estabilizar uma microbiota subgengival menos virulenta, composta por um menor número de patógenos .

Associado ao debridamento periimplantar, Mombelli *et al.* (2001) utilizaram dispositivos de liberação lenta de tetraciclina (Actisite®) durante 10 dias, no tratamento de 25 indivíduos desdentados parciais, que apresentaram 30 implantes acometidos pela doença. Um mês após o tratamento, houve uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,01$) com relação ao índice de sangramento modificado (Mombelli *et al.* 1987), profundidade à sondagem e sangramento à sondagem. Esses índices se mantiveram estatisticamente reduzidos após 1 ano de terapia. Após a remoção das fibras de tetraciclina notou-se uma marcante redução da contagem total de bactérias, de 3,41 para $0,54 \times 10^6$ UFC, mantendo-se reduzida até 6 meses pós-terapia ($1,46 \times 10^6$ UFC), porém, aos 12 meses, os níveis assemelharam-se ao inicial. O mesmo ocorreu para os microrganismos anaeróbios

gram-negativos. *Campylobacter rectus*, *A. naeslundii*, *A. actinomycetemcomitans* e *E. corrodens* que não foram mais detectados imediatamente após a remoção do Actisite[®], porém, houve recolonização por esses microrganismos durante o período do estudo.

No estudo de Leonhardt *et al.* (2003), 9 indivíduos, com 26 implantes acometidos por periimplantite, foram tratados cirurgicamente e receberam antibiótico com base nos testes de susceptibilidade dos microrganismos para penicilina V, amoxicilina, tetraciclina, metronidazol, ciprofloxacino e sulfa/trimetropim. Após 5 anos, os índices de placa e sangramento marginal diminuíram de 100 % para 11 % e 5 %, respectivamente. Dos 26 implantes, 7 (27 %) foram perdidos, enquanto que 4 implantes continuaram a perder osso (≥ 1 rosca), 9 permaneceram estáveis e 6 apresentaram ganho ósseo (≥ 1 rosca) em 5 anos de acompanhamento. Observaram também que a resposta ao tratamento em indivíduos fumantes com periimplantite era menos favorável que em não fumantes e, que essa forma de terapia combinada ao uso de antibióticos, não empiricamente administrados, apresentou um índice de 58 % de resolução para as periimplantites. Com relação às amostras subgengivais, dos 6 indivíduos que se apresentaram positivos para a cultura do *A. actinomycetemcomitans* no baseline, mostraram-se negativos para esse microrganismo após os 5 anos. Entretanto, *P. intermedia* e *P. nigrescens* foram encontradas em 7 indivíduos no início do estudo e no final desse período foram recuperadas em 8 indivíduos. *P. gingivalis*, que foi encontrada em apenas 1 pessoa no começo, não foi mais detectada nos primeiros 6 meses e 1 ano, mas no 5º ano voltou a ser detectada em alguns implantes.

Testando a efetividade do sistema Vector[®], Karring *et al.* (2005) trataram 11 indivíduos, sendo que cada um possuía 2 implantes acometidos por periimplantite. Enquanto que o debridamento de um implante era realizado por meio de curetas de fibra de carbono, o outro implante era tratado pelo sistema Vector[®]. Uma nova sessão de debridamento foi repetida aos 3 meses. Após 3 e 6 meses de acompanhamento, uma suave melhora foi observada no índice de placa ao redor dos implantes para ambos os tratamentos ($p > 0,1$). No 6º mês, quatro indivíduos do grupo teste e apenas um do grupo controle não apresentaram mais sangramento à sondagem. O nível ósseo no baseline, avaliado através de radiografias digitalizadas, foi de $6,8 \pm 1,7$ e $7,4 \pm 2,1$ mm para o sistema Vector[®] e debridamento no baseline, respectivamente. E, aos 6 meses foi $7,1 \pm 1,9$ e $7,7 \pm 2,6$ mm, expressando uma

diferença de $-0,3 \pm 1$ e $-0,3 \pm 0,8$ mm, mas não houve diferença estatisticamente significativa em ambos os grupos entre os tempos. A profundidade de sondagem que foi de $5,8 \pm 1,1$ e $6,2 \pm 1,6$ mm no início e, aos 6 meses foi de $5,8 \pm 1,2$ e $6,3 \pm 2,2$ mm para os grupos teste e controle (debridamento), respectivamente.

Com base na revisão de literatura, nota-se uma escassez de estudos avaliando a associação sistêmica de antibióticos para o tratamento de lesões periimplantares em humanos assim como seus efeitos clínicos e microbiológicos.

2. PROPOSIÇÃO

Este estudo longitudinal duplo-cego teve como objetivo avaliar os efeitos da administração sistêmica do metronidazol e amoxicilina associados à raspagem e debridamento periimplantar na composição da microbiota subgengival e nos parâmetros clínicos periodontais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Seleção dos indivíduos

A população incluída neste estudo duplo-cego foi composta por 20 indivíduos adultos (>21 anos), de ambos os gêneros, portadores de periimplantite. Esta amostra foi proveniente de um levantamento clínico realizado por Melo (2005), que examinou todos os indivíduos que buscaram atendimento odontológico na Clínica de Implantes da Universidade Guarulhos desde 1994. Para a avaliação do estado geral de suas respectivas restaurações protéticas, 937 indivíduos portadores de algum tipo de prótese implanto-suportada foram examinados clínica e radiograficamente. Após a exclusão daqueles que não utilizavam as próteses implanto-suportadas regularmente (ex. overdentures) ou que apresentavam restaurações inadequadas, 754 foram previamente incluídos, sendo que apenas 20 sujeitos preenchiem os quesitos de inclusão deste estudo.

3.2 – Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos envolvidos no estudo

Baseado em estudos prévios (Plagnat *et al* 2002, Shibli 2003 e Melo 2005), os critérios de inclusão dos indivíduos avaliados neste estudo foram:

- apresentar os seguintes sinais clínicos de doença periimplantar adaptados de Mombelli (1999), Shibli (2003) e Melo (2005): sangramento à sondagem e/ou supuração, profundidade de sondagem maior que 4mm; perda óssea radiográfica maior que 3mm (Figura 1), no mínimo 50% de remanescente ósseo periimplantar (caso contrário, este implante foi considerado perdido);
- apresentar pelo menos uma prótese implanto-suportada, utilizando implantes de superfície lisa (titânio comercialmente puro) sob função há no mínimo 1 ano, acometido pela periimplantite (caso o indivíduo apresentasse mais que um implante acometido pela periimplantite, todos os implantes foram avaliados);
- não apresentar mobilidade, quebra de parafusos ou soltura dos componentes protéticos junto às próteses implanto-suportadas, na tentativa de minimizar a influência de possíveis traumas oclusais;
- apresentar boas condições de saúde geral;
- não ter passado por tratamento periodontal ou ter utilizado antibióticos ou antiinflamatórios nos 6 meses que antecederem o estudo;

- ausência de doença periodontal crônica ou agressiva;
- não ser fumante;
- não estar grávida ou amamentando;
- não apresentar histórico de alergias ou hipersensibilidade à amoxicilina ou ao metronidazol;
- próteses que dificultassem o acesso à sondagem.

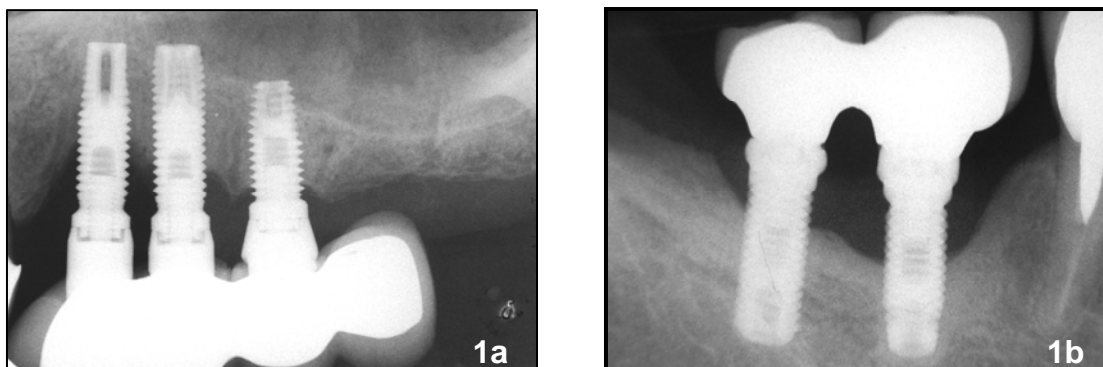


Figura 1. Aspecto radiográfico de indivíduo portador de peri-implantite apresentando extensa perda óssea radiográfica: **a)** implante localizado na região de maxila posterior e **b)** implante localizado na porção posterior da mandíbula.

Os indivíduos selecionados foram informados a respeito da pesquisa, objetivos, procedimentos clínicos, coletas das amostras microbiológicas, riscos, conseqüências e tipos de terapias a serem utilizadas. Aqueles que concordaram com o exposto e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos (Protocolo CEP-UnG 62/2004), foram incluídos na amostra.

3.3 – Delineamento experimental

No tempo inicial (-21 dias) todos os indivíduos ($n=20$) foram submetidos à anamnese, exame clínico de diagnóstico (triagem), e exame radiográfico. Logo após, receberam profilaxia profissional e instrução de higiene oral. Os indivíduos foram aleatoriamente distribuídos, em 2 grupos terapêuticos, por sorteio utilizando uma moeda (cara ou coroa), e submetidos a uma das seguintes formas de tratamento:

- Grupo teste – Raspagem e debridamento periimplantar associado à administração sistêmica de metronidazol (400mg, 3x/dia) e amoxicilina (500mg, 3x/dia) durante 14 dias (Serino *et al.*, 2001),
- Grupo controle – Raspagem e debridamento periimplantar associado à administração de placebo (talco farmacêutico) seguindo o mesmo regime utilizado para a administração de antibióticos no grupo teste.

Para o cálculo dessa amostragem foi realizado cálculo da potência para cada um dos parâmetros avaliados, baseado nos resultados dos estudos de Feres *et al.* (1999) e Feres *et al.* (2001), encontrando uma potência superior a 80% para uma amostragem de 10 a 15 indivíduos. Cumpre salientar que os estudos utilizados para a obtenção do cálculo amostral avaliaram o tratamento da doença periodontal uma vez que não foi encontrado na literatura um delineamento experimental similar para o tratamento das periimplantites.

Os indivíduos foram avaliados no início do estudo (dias -21 e 0), logo após a terapia (14 dias) e aos 60 e 90 dias. No decorrer do estudo foram coletados dados clínicos, radiográficos e microbiológicos assim como descrito na Figura 2.

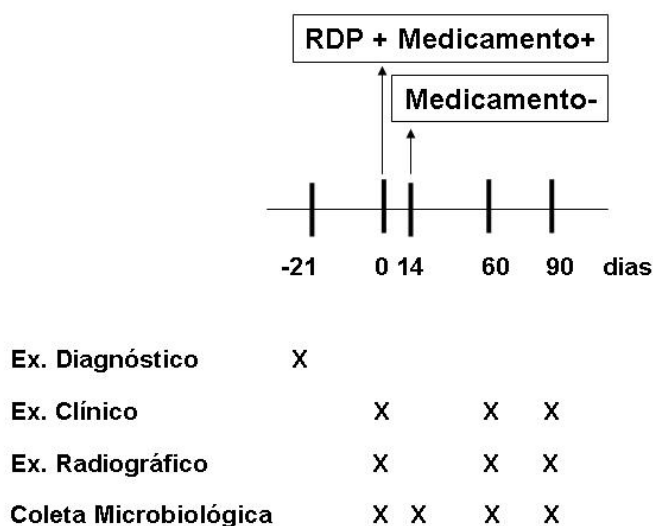


Figura 2. Delineamento experimental.

RDP + Medicamento+: no dia 0 os indivíduos receberam o medicamento (400mg de metronidazol 3x/dia e 500mg de amoxicilina 3x/dia) ou o placebo associado à raspagem e debridamento periimplantar.

Medicamento-: no dia 14 o medicamento ou placebo foi suspenso.

O procedimento de raspagem e debridamento periimplantar foi realizado utilizando curetas de teflon[®] (Implacare Kit, Hu-Friedy Mfg, Co Inc. Chigago IL) para evitar danos à superfície dos implantes, sempre no 1º dia.

Os indivíduos foram tratados pelo mesmo operador (pesquisador 1- JAS) e examinados por outro (pesquisador 2- TRCV). Os examinadores e os sujeitos da pesquisa não foram informados sobre a terapia empregada (medicamento ou placebo), ministrada pelo pesquisador 3 (DSF).

3.3.1 – Seleção do sítio periimplantar

O sítio periimplantar de maior profundidade de sondagem foi selecionado para as coletadas de amostras de biofilme subgengival destinadas às análises microbiológicas. Quando dois ou mais sítios no mesmo implante apresentavam a mesma profundidade de sondagem, foi escolhido o sítio mesial.

3.3.2 – Seqüências das consultas de avaliação

Após a seleção do sítio periimplantar (dia -21) os indivíduos foram avaliados em mais 4 consultas (0, 14, 60 e 90 dias). Os procedimentos que foram realizados em cada consulta estão representados na Figura 2 e ocorreram na seguinte ordem: 1- Exame radiográfico; 2- Identificação e isolamento relativo do sítio a ser coletado (*ver 3.3.1 - Seleção do sítio periimplantar*); 3- Coleta de biofilme subgengival, e 4- Exame clínico periimplantar.

3.4 - Exame clínico e radiográfico

Os parâmetros clínicos avaliados foram:

1. Presença (1) ou ausência (0) de placa bacteriana visível,
2. Presença (1) ou ausência (0) de sangramento marginal,
3. Presença (1) ou ausência (0) de sangramento à sondagem,
4. Presença (1) ou ausência (0) de supuração,
5. Profundidade de sondagem (mm) - caracterizada pela distância da margem periimplantar até o fundo da bolsa ou sulco,
6. Nível clínico de inserção (mm) - caracterizada pela distância de ponto fixo previamente determinado (junção conector/implante) até o fundo da bolsa ou sulco.

O exame periimplantar foi realizado por um único examinador (pesquisador 2), previamente treinado e calibrado. As medidas de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção foram determinadas utilizando uma sonda periodontal manual do tipo Carolina do Norte (PCPUNC 15 Hu-friedy Mfg Co Inc. Chigago IL, Estados Unidos América). As mensurações foram realizadas em 6 faces do implante: mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, médio-lingual e disto-lingual.

A metodologia empregada para a calibração foi preconizada por Araújo et al. (2003) no qual se avaliou o erro padrão da medida (e.p.m) e o erro médio percentual (e.m.p) para os parâmetros clínicos contínuos (profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e perda óssea vertical). O e.p.m e e.m.p intra-examinador foram respectivamente de 0,20mm e 5,6% para a profundidade de sondagem, 0,33mm e 8,55% para nível clínico de inserção e 0,18mm e 2,89% para perda óssea vertical. As variáveis categóricas (índice de placa, sangramento marginal, sangramento a sondagem e supuração) considerando somente a presença ou ausência do parâmetro clínico foram obtidas a média do nível de concordância utilizando o teste Kappa no valor de 93%.

Os exames radiográficos foram realizados por meio de filmes do tipo Ektaspeed (Kodak, Eastman, CO, Estados Unidos da América) utilizando-se a técnica do paralelismo. As radiografias obtidas foram processadas pelo método tempo-temperatura e logo após digitalizadas por meio de câmera digital (Canon EOS 300D, Tokyo, Japão). Em seguida, foram realizadas as mensurações da distância entre o conector protético e a crista óssea alveolar periimplantar, utilizando-se o software *Image Tool 3.0* (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Estas mensurações foram realizadas por um único examinador (pesquisador 2) previamente treinado e calibrado.

3.5- Avaliação microbiológica

3.5.1. Cepas bacterianas e condições de crescimento

A lista das 39 cepas bacterianas utilizadas neste estudo para o preparo das sondas de DNA está apresentada na **Tabela 1**. Todas as cepas foram adquiridas liofilizadas da ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD, Estados Unidos da América) ou do *Forsyth Institute* (Boston, MA, Estados Unidos da

América). O conteúdo liofilizado foi reidratado em caldo para crescimento de *Mycoplasma* (Difco Laboratories, Detroit, MI, Estados Unidos da América) e cultivado em ágar triptose de soja contendo 5% de sangue de ovelha desfibrinado (BBL, Baltimore Biological Laboratories, Cockeysville, MD, Estados Unidos da América) a 35°C sob condição de anaerobiose (80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂). Algumas bactérias foram cultivadas em meios de cultura enriquecidos de forma a suprir suas necessidades nutricionais. *T. forsythia*, por exemplo, foi cultivada em ágar triptose de soja com 5% de sangue de ovelha desfibrinado e 10 µg/ml de ácido N-acetil murâmico (NAM) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA); enquanto *P. gingivalis* cresceu em um meio similar, suplementado com 5% de sangue de ovelha desfibrinado, 0,3µg/ml de menadiona (Sigma) e 5µg/ml de hemina (Sigma). *T. denticola* e *T. socranskii* foram cultivados em caldo para crescimento de *Mycoplasma* (Difco) suplementado com 1mg/ml de glicose, 400µg/ml de niaciamida, 150µg/ml espermina tetraidroclorídrica, 20µg/ml de isobutirato de sódio, 1mg/ml de L-cisteína, 5µg/ml de tiamina pirofosfato e 0,5% de soro bovino.

3.5.2 - Isolamento do DNA e preparo das sondas

As cepas bacterianas foram anaerobicamente cultivadas na superfície de ágar-sangue contido em placas de Petri, com exceção das 2 espécies de espiroquetas, que foram cultivadas em caldo de cultura, por 3 a 7 dias. As colônias foram raspadas e depositadas em tubos de microcentrifuga de 1,5ml contendo 1ml de solução TE (10 mM Tris-HCl, 0,1mM EDTA, pH 7,6). As células foram lavadas 2 vezes por centrifugação na solução-tampão de TE a 3.500 rpm por 10 minutos. Em seguida, as células das cepas Gram-negativas foram novamente suspensas e lisadas com SDS (dodecilsulfato de sódio, C₁₂H₂₅NaO₄S) a 10% e proteinase K em uma concentração de 20mg/ml (Sigma). As cepas Gram-positivas foram lisadas em 150µl de uma mistura enzimática contendo 15mg/ml de lisozima (Sigma) e 5mg/ml de acromopeptidase (Sigma) em solução tampão de TE (pH 8,0). O DNA foi isolado e purificado como descrito por Smith *et al.* (1989). As sondas multi-genômicas (*whole-genomic*) foram preparadas para cada uma das 38 espécies pela marcação de 1µg do DNA bacteriano com digoxigenina, por meio do *random primer digoxigenin labeling kit* (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, Estados Unidos da América), de acordo com o método descrito por Feinberg & Vogelstein (1983). As espécies bacterianas avaliadas foram selecionadas segundo sua associação com

diferentes tipos de doenças ou saúde periodontal/periimplantar (Haffajee & Socransky, 1994; Mombelli & Lang, 1998; Mombelli, 1999; Quirynen *et al.*, 2002; Shibli 2003; Shibli *et al.*, 2003b,c).

3.5.3. Coleta das amostras de biofilme subgingival

Amostras de biofilme subgingival dos sítios periimplantares previamente selecionados, em cada um dos 20 indivíduos foram obtidas independentemente. Após isolamento da área com rolos de algodão e remoção da placa supragingival, as amostras de biofilme subgingivais foram colhidas por meio de curetas de teflon[®] estéreis (Matarasso *et al.*, 1996; Shibli *et al.*, 2006). As amostras foram imediatamente depositadas em tubos plásticos individuais contendo 150µl de solução TE (pH 7,6), ao qual foram adicionados 100µl de NaOH a 0,5 M para que o DNA bacteriano permanecesse viável por longos períodos de tempo. Estes tubos foram então identificados e armazenados (-20° C) até serem analisados por meio da técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* para as 39 cepas bacterianas descritas na **Tabela 1**, no laboratório de microbiologia da Universidade Guarulhos.

3.5.4. Checkerboard DNA-DNA Hybridization

3.5.4.1. Hibridização DNA-DNA

As suspensões contidas nos tubos foram fervidas em banho-maria por 10 minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de acetato de amônia a 5 M. Cada suspensão de placa bacteriana contendo o DNA livre foi depositada em uma das canaletas do *Minislot* (Immunelectrics, Cambridge, MA, Estados Unidos da América - **Figura 3**) ficando, assim, concentrada em uma membrana de *nylon* (15 x 15cm) com carga positiva (Boehringer Mannheim). As duas últimas canaletas do *Minislot* (Immunelectrics) foram ocupadas por controles contendo uma mistura do DNA das espécies de microrganismos investigadas pelas sondas, nas concentrações correspondentes a 10^5 e 10^6 células, ou seja, 1ng e 10ng de DNA de cada espécie, respectivamente (Socransky *et al.*, 1994; Haffajee *et al.*, 1997a, b).

A membrana foi então removida do *Minislot* (Immunelectrics) e o DNA nela concentrado foi fixado por meio de aquecimento em forno a 120° C por 20 minutos. A membrana foi pré-hibridizada a 42° C, por 1 hora, em uma solução contendo 50% de formamida, 1% de caseína (Sigma), 5 x *standard saline citrate* -SSC (1 x SSC =

150mM NaCl, 15mM de citrato de sódio, pH 7,0), 25 mM de fosfato de sódio (pH 6,5) e 0,5 mg/ml de RNA de levedura (Boehringer Mannheim).

Em seguida, a membrana foi posicionada no *Miniblotter* (Immunelectrics, **Figura 4**) com as linhas de DNA perpendiculares às canaletas do aparato. Em cada canaleta do *Miniblotter* (Immunelectrics) foi adicionada uma sonda de DNA (diluída a aproximadamente 20ng/ml) em 130 µl de uma solução de hibridização composta de 45% de formamida, 5 X SSC, 20 mM de fosfato de sódio (pH 6,5), 0,2 mg/ml de RNA de levedura (Boehringer Mannheim), 10% de sulfato de dextrano e 1% de caseína (Sigma). A hibridização ocorreu por um período mínimo de 20 horas, a 42° C.

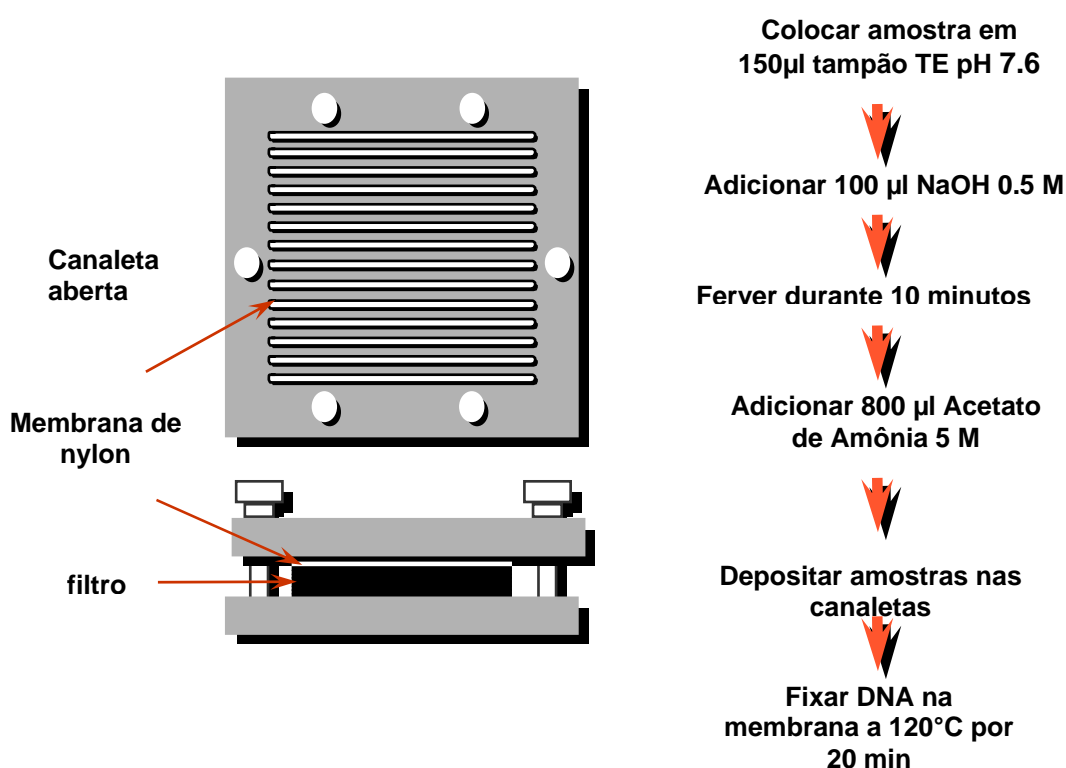


Figura 3. Representação gráfica do *Minislot* (Immunelectrics, Cambridge, MA, USA) e resumo da preparação e deposição das amostras de biofilme bacteriano subgengival (técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*).

3.5.4.2. Detecção das espécies

Após o período de hibridização, a membrana foi removida do *Miniblotter* (Immunelectrics) lavada por 40 minutos, a 65°C numa solução adstringente composta de 1% de SDS, 1mM de EDTA e 20mM de Na₂HPO₄, a fim de remover as sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, a membrana foi imersa por 1 hora em uma solução contendo 1% de ácido maleico (C₄H₄O₄), 3 M de NaCl, 0,2 M de NaOH,

0,3% de Tween 20, 0,5% de caseína, pH 8,0, e, logo após, por 30 minutos, na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina em uma concentração de 1:10.000. A membrana foi depois lavada 2 vezes, por 20 minutos, em uma solução de 0,1 M de ácido maleico, 3 M de NaCl, 0,2 M de NaOH, 0,3% de Tween 20, pH 8,0, e 1 vez, por 5 minutos, em uma solução de 0,1 M de Tris HCl, 0,1M de NaCl, 50 mM de MgCl₂, pH 9,5.

Os próximos passos foram a incubação da membrana por 45 minutos a 37°C em uma solução detectora à base de fosfatase alcalina, CDP-Star™ Detection Reagent (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra). A seguir, a membrana foi colocada em um cassete, Chassi Radiográfico 30x40cm (Konex, Ind. Bras., SP), sob um filme radiográfico de marca Kodak X-Omat K, 18x24cm (Kodak Brasileira Com. e Ind. Ltda, São José dos Campos, SP) por 40 minutos. O filme foi posteriormente revelado (**Figuras 5 e 6**) manualmente pelo método convencional temperatura-tempo, de acordo com orientações do fabricante. As soluções utilizadas foram da marca Kodak, sempre mantidas à temperatura de 20°C.

A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado (pesquisador 2), da seguinte forma: cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de biofilme foi comparado em intensidade ao sinal produzido pela mesma sonda nos dois controles contendo 10⁵ e 10⁶ bactérias. Desta forma, o número 0 foi registrado quando não houve detecção do sinal; 1 equivaleu a um sinal menos intenso que o controle de 10⁵ células; 2 equivaleu a aproximadamente 10⁵ células; 3, entre 10⁵ e 10⁶ células; 4 aproximadamente 10⁶ células e 5, mais de 10⁶ células (**Tabela 2**). Estes registros foram então utilizados para determinar os níveis das diferentes espécies investigadas nos sítios periimplantares e indivíduos do estudo.

Tabela 1. Relação das cepas empregadas para a confecção das sondas de DNA, subdivididas em complexos microbianos (Socransky *et al.*, 1998; Socransky & Haffajee, 2002).

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

^a ATCC (American Type Culture Collection)

^b Forsyth Institute.

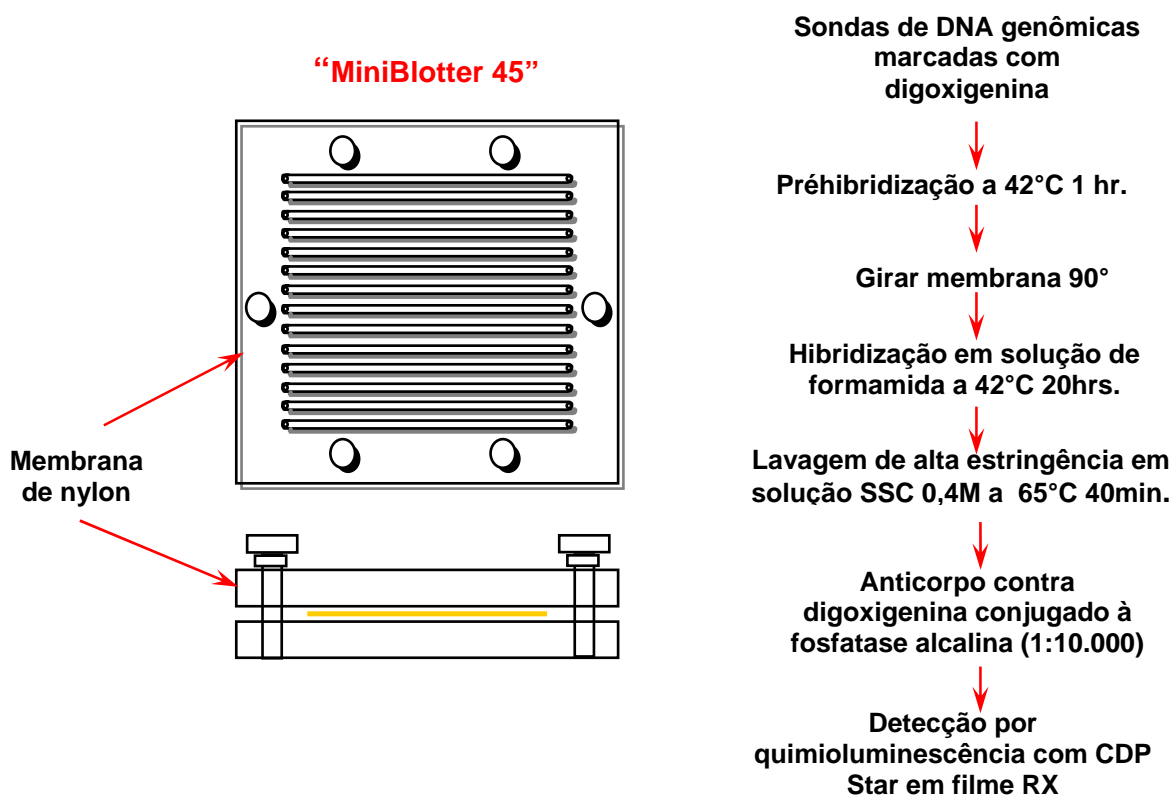


Figura 4. Representação gráfica do *Miniblitter* (Immunetics, Cambridge, MA, USA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras biofilme bacteriano subgingival (técnica do *Checkerboard DNA-DNA hybridization*).

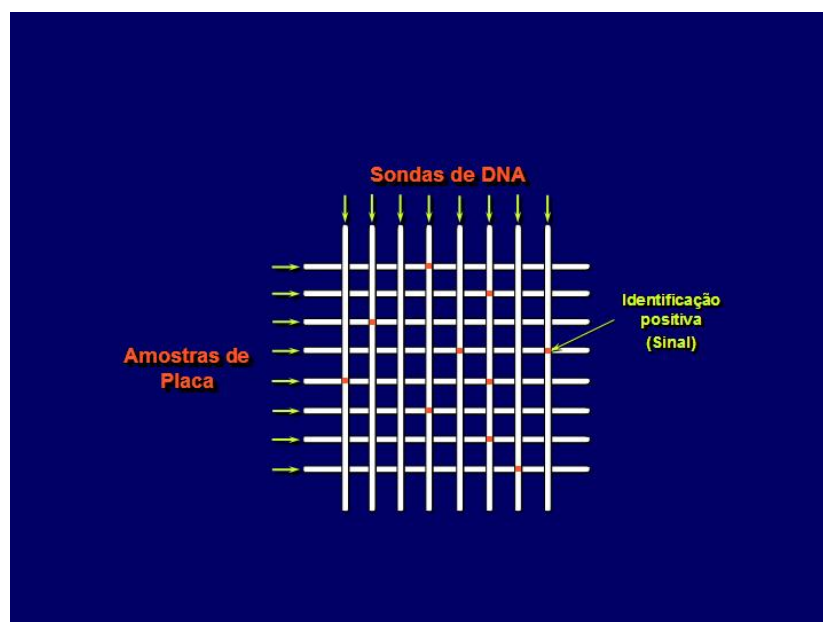


Figura 5. Representação gráfica do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de placa e as sondas de DNA (técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*).

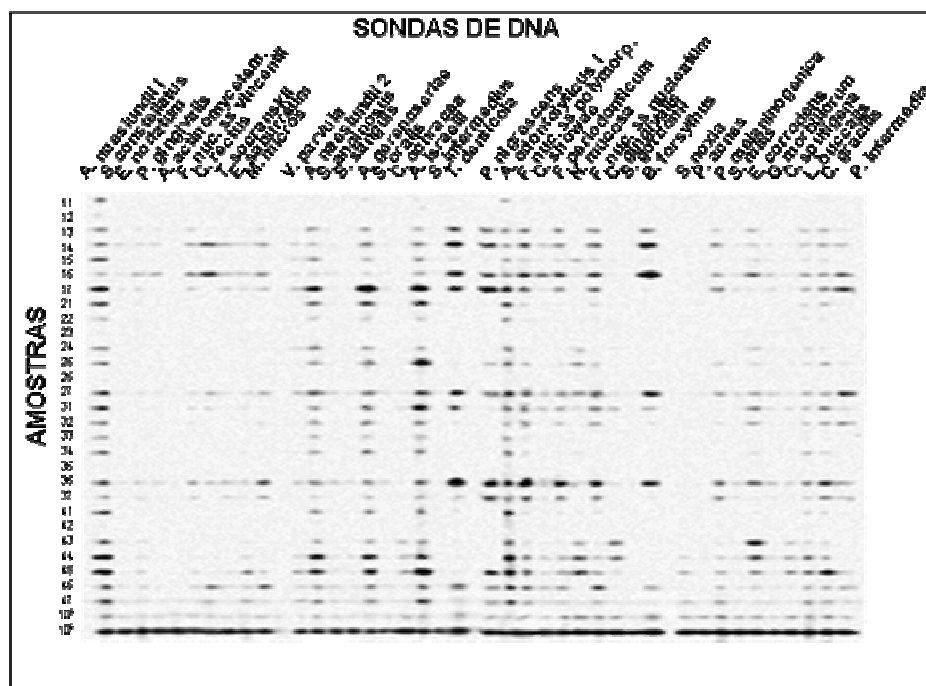


Figura 6. Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de placa e as sondas de DNA (técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*). Nesta tabela estão apresentadas 40 bactérias, e as amostras de biofilme são de todos os dentes de um mesmo indivíduo.

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

ÍNDICE	NÍVEL DO MICRORGANISMO
0	Não detectado
1	Menos de 10^5 células
2	Aproximadamente 10^5 células
3	Entre 10^5 e 10^6 células
4	Aproximadamente 10^6 células
5	Mais de 10^6 células

3.6 – Análise estatística

3.6.1 – Avaliação clínica

Os parâmetros clínicos foram analisados em 6 sítios por implante, em cada indivíduo. A média das medidas clínicas de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, assim como a média da porcentagem de sítios apresentando placa visível, sangramento marginal, sangramento à sondagem e supuração foram computados para cada indivíduo e, posteriormente, dentro de cada grupo (controle e teste). Os testes Mann-Whitney e Friedman foram utilizados para examinar diferenças inter- e intra-grupos respectivamente durante os vários períodos. Significância estatística foi estabelecida em nível de 5% ($p < 0,05$).

3.6.2 – Avaliação microbiológica

Os dados microbiológicos foram expressos em nível médio de cada espécie (contagem) em cada implante. Estes níveis foram computados por indivíduo e depois dentro de cada grupo avaliado. Diferenças nos níveis médios ou nas proporções de microrganismos entre os grupos foram avaliadas por meio do teste de Mann-Whitney. O teste Friedman foi utilizado para avaliar as diferenças entre as proporções microbianas durante os vários períodos de avaliação. A significância estatística foi estabelecida em 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

Todos os 20 indivíduos inicialmente selecionados e aleatoriamente distribuídos entre os dois grupos terapêuticos ($n=10$ /grupo) foram avaliados clinicamente e radiograficamente aos 0, 60 e 90 dias.

4.1 – Efeitos das terapias sobre os parâmetros clínicos

Os dados relativos às características clínicas dos implantes (restauração protética, material restaurador, tempo em função) avaliados neste estudo estão apresentados na Tabela 3. As médias dos parâmetros clínicos observadas no exame inicial, para ambos os grupos, estão apresentados na Tabela 4. Os resultados demonstraram que os grupos eram homogêneos em relação aos parâmetros clínicos, uma vez que não foi observada diferença significativa entre os grupos, no início do estudo.

Tabela 3: Características clínicas dos implantes avaliados neste estudo de acordo com tipo de restauração protética, material restaurador, tempo em função e localização no arco.

	Prótese Implanto-Suportada		Média do tempo em função (meses)	Localização no arco
	Total	Prótese Fixa		
Controle		Resina: 5		Mand.: 5
(n=10)	1	Cerâmica:4	64,35	Max.: 5
Teste		Resina: 4		Mand.: 6
(n=10)	1	Cerâmica:5	66,04	Max.: 4

Mand: Mandíbula; Max: maxila

As tabelas 5 e 6 comparam o efeito clínico entre as terapias após 60 e 90 dias. O percentual de sítios com supuração foi maior no grupo controle, apresentando diferença significativa entre os grupos aos 60 e 90 dias. O percentual de sítios que apresentaram sangramento marginal foi estatisticamente maior para o grupo controle ($p<0,05$) aos 90 dias.

Tabela 4: Médias (\pm dp) dos parâmetros clínicos no exame inicial (tempo 0), para os indivíduos dos grupos controle e teste.

Parâmetros Clínicos	Grupos Terapêuticos		p
	Controle	Teste	
PS (mm)	7,63 \pm 1,80	10,11 \pm 3,77	ns
NCI (mm)	7,81 \pm 1,83	10,11 \pm 3,75	ns
PO (mm)	4,4 \pm 32	5,56 \pm 3,86	ns
% sítios			
PV	54,55 \pm 52,22	44,44 \pm 52,70	ns
SM	12,45 \pm 33,34	9,99 \pm 30,15	ns
SS	100 \pm 00	100 \pm 00	ns
Sup	27,27 \pm 46,10	55,56 \pm 52,45	ns

Teste U de Mann-Whitney. ns: diferença não significativa ($p>0,05$); PS: profundidade de sondagem; NCI: nível clínico de inserção; PO: perda óssea; PV: placa visível; SM: sangramento marginal; SS: sangramento à sondagem; Sup: supuração.

Tabela 5: Médias (\pm dp) dos parâmetros clínicos 60 dias de avaliação, para os indivíduos dos grupos controle e teste.

Parâmetros Clínicos	Grupos Terapêuticos		p
	Controle	Teste	
PS (mm)	6,40 \pm 2,06	7,58 \pm 3,03	ns
NCI (mm)	6,60 \pm 2,17	7,70 \pm 3,19	ns
PO (mm)	3,44 \pm 1,35	5,20 \pm 3,53	ns
% sítios			
PV	50,00 \pm 50,52	30,00 \pm 48,30	ns
SM	20,02 \pm 42,11	10,00 \pm 31,30	ns
SS	90,23 \pm 31,64	71,56 \pm 47,30	ns
Sup*	10,89 \pm 31,62	0,0 \pm 0	0,04

Teste U de Mann-Whitney. * $p<0,05$, ns: diferença não significativa ($p>0,05$); PS: profundidade de sondagem; NCI: nível clínico de inserção; PO: perda óssea; PV: placa visível; SM: sangramento marginal; SS: sangramento à sondagem; Sup: supuração.

Tabela 6: Médias (\pm DP) dos parâmetros clínicos 90 dias de avaliação, para os indivíduos dos grupos controle e teste.

Parâmetros Clínicos	Grupos Terapêuticos		<i>p</i>
	Controle	Teste	
PS (mm)	6,50 \pm 1,95	6,90 \pm 2,51	ns
NCI (mm)	6,70 \pm 2,00	7,10 \pm 2,80	ns
PO (mm)	3,20 \pm 1,52	5,07 \pm 3,30	ns
% sítios			
PV	40,00 \pm 51,62	40,09 \pm 50,58	ns
SM*	10,00 \pm 31,30	0,0 \pm 0,0	0,03
SS	91,00 \pm 30,65	90,67 \pm 37,30	ns
Sup*	10,89 \pm 31,62	0,0 \pm 0,0	0,04

Teste U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$, ns: diferença não significativa ($p > 0,05$); PS: profundidade à sondagem; NCI: nível clínico de inserção; PO: perda óssea; PV: placa visível; SM: sangramento marginal; SS: sangramento à sondagem; Sup: supuração.

4.2 – Efeitos das terapias sobre os parâmetros clínicos ao longo do período experimental

Durante a análise dos dados observou-se que a profundidade de sondagem e o nível clínico de inserção diferiram estatisticamente durante os períodos experimentais para ambos os grupos ($p < 0,05$). As médias de perda óssea vertical diminuíram durante todo o período experimental, embora estas diferenças não fossem estatisticamente significantes (Figura 7). Os indivíduos que receberam tratamento mecânico associado aos antibióticos (grupo teste) também apresentaram diferenças significativas para as médias de sangramento marginal, e supuração entre 60 e 90 dias e o tempo inicial (Figura 8).

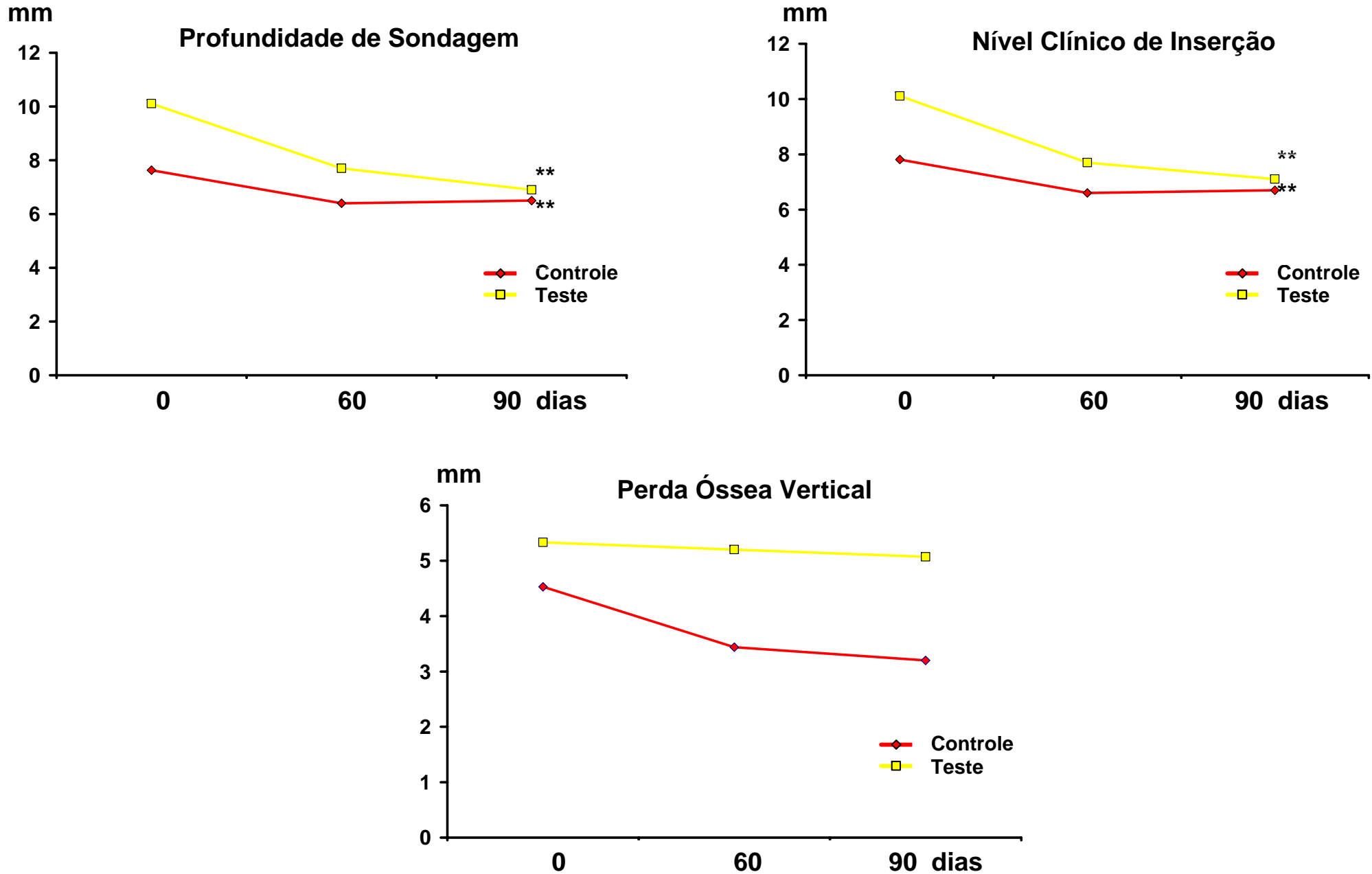


Figura 7. Média dos parâmetros clínicos avaliados em ambos os grupos terapêuticos em todos os tempos de avaliação (inicial, 60 e 90 dias). Teste de Friedman: diferença entre as médias do grupo controle e teste, ao longo do período experimental (** $p < 0,0001$)

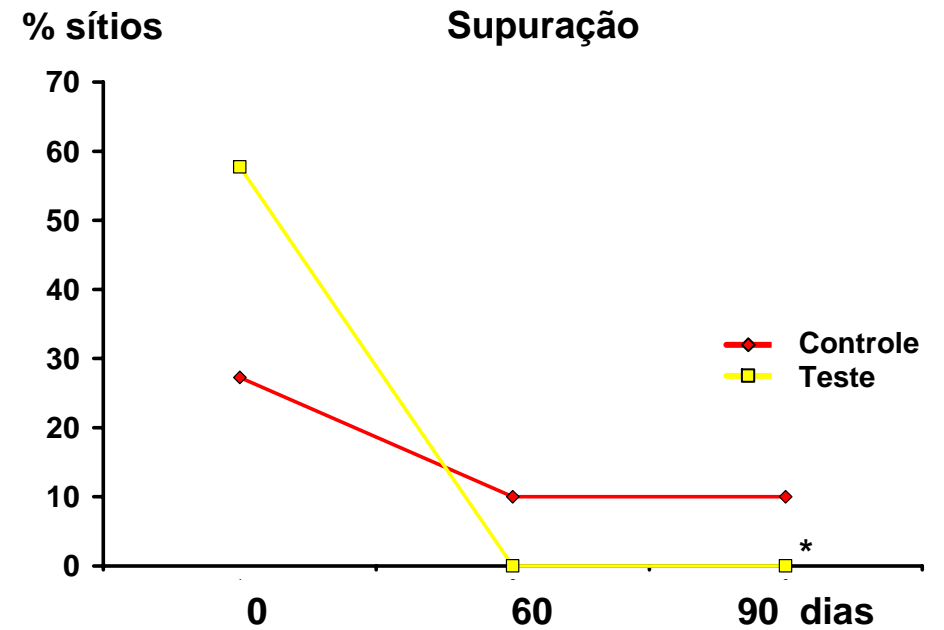
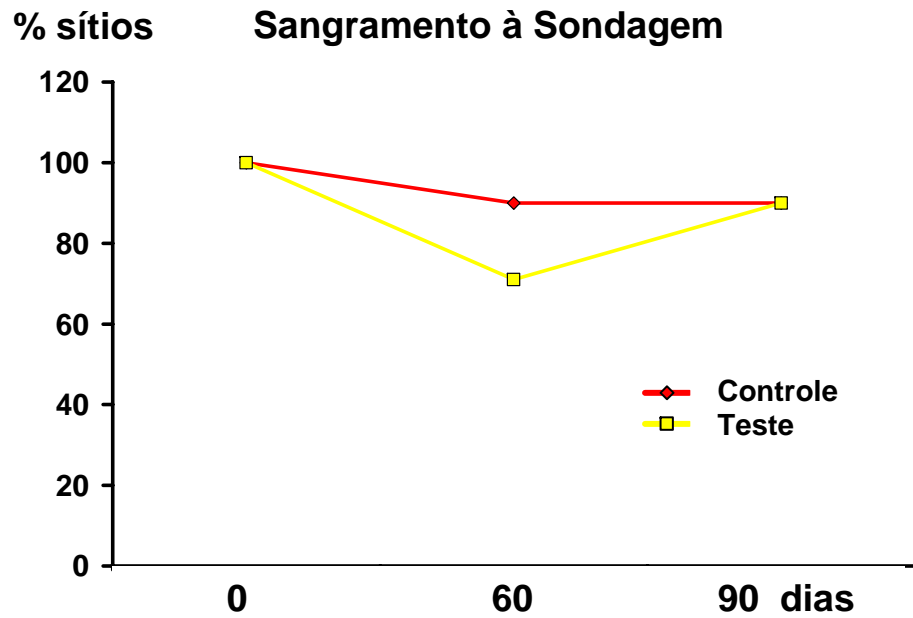
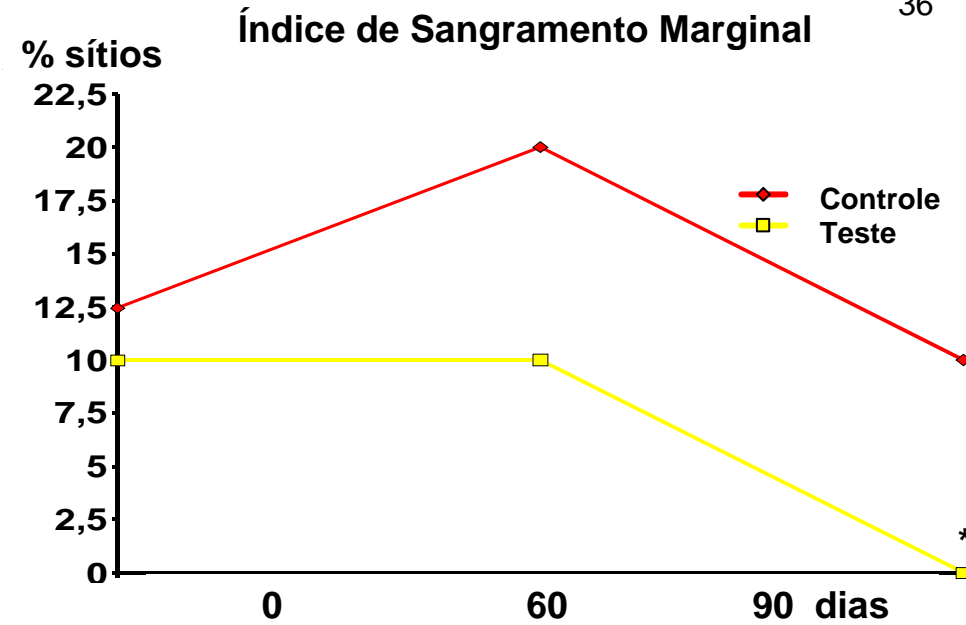
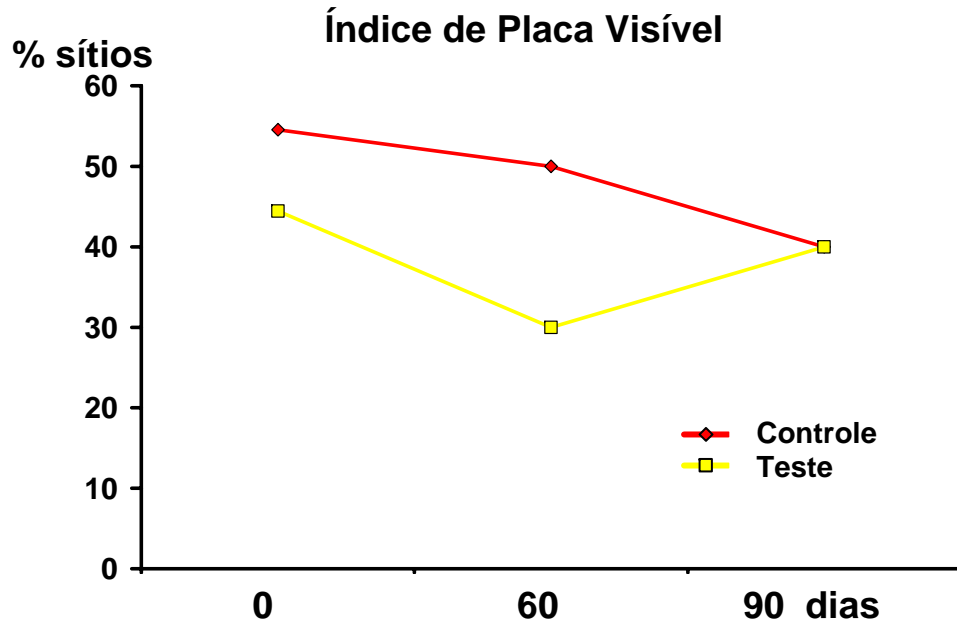


Figura 8. Média dos parâmetros clínicos avaliados em ambos os grupos terapêuticos em todos os tempos de avaliação (inicial, 60 e 90 dias). Teste de Friedman: diferença entre as médias do grupo controle e teste, ao longo do período experimental (* $p < 0,05$)

4.3 – Efeitos colaterais das terapias empregadas

Efeitos colaterais decorrentes da utilização sistêmica da antibioticoterapia foram observados nos sujeitos do grupo teste e também em alguns indivíduos do grupo controle. 50% dos sujeitos do grupo controle relataram náuseas, dor de estômago e gosto amargo. Apenas um indivíduo do grupo teste também relatou diarreia associado aos sintomas já citados. Apesar disso, não houve suspensão dos medicamentos para nenhum dos indivíduos do estudo.

4.4 – Efeitos da terapia antibiótica nas contagens bacterianas

Amostras de biofilme subgingival foram coletadas do sítio periimplantar de maior profundidade de sondagem no exame inicial (0), logo após o término da terapia inicial (14 dias) e aos 60 e 90 dias. Um total de 80 amostras foi avaliado: 40 do grupo controle e 40 do grupo teste.

A média de contagem ($\times 10^6 \pm$ desvio padrão) das 39 espécies subgingivais avaliadas em todos os tempos do estudo, em ambos os grupos estão representadas nas Figuras 9 e 10. As espécies foram agrupadas segundo os complexos microbianos descritos por Socransky *et al.* (1998) e modificados por Socranky & Haffajee (2002). Os níveis médios de cada espécie foram computados para cada indivíduo e depois dentro do grupo, em cada tempo do estudo.

As terapias utilizadas alteraram significativamente os níveis de vários microrganismos. Logo após o término da terapia inicial, 4 espécies bacterianas (*F. nuc. ss nucleatum*, *F. nuc. ss polymorphum*, *T. forsythia* e *T. denticola*) foram significativamente reduzidas no grupo controle e 24 no grupo teste, incluindo as 3 espécies do complexo vermelho (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*) e 10 do complexo laranja (*C. showae*, *E. nodatum*, *F. nuc. ss nucleatum*, *F. nuc. ss polymorphum*, *F. nuc. ss vicentii*, *F. periodonticum*, *M. micros*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *S. constellatus*) (Figuras 9 e 10). De modo geral a terapia antibiótica levou a uma redução estatisticamente significativa na contagem dos patógenos periodontais após o término da terapia inicial. Esse padrão de redução foi mantido aos 90 dias para as 3 espécies do complexo vermelho e outros do laranja. No grupo controle *T. forsythia* e *T. denticola* também apresentaram uma redução significativa logo após a terapia (14 dias). Embora os níveis desses patógenos ainda estivessem reduzidos em relação ao início do estudo, aos 90 dias não foram observadas diferenças significativas para os níveis dos 3 microrganismos. Complementarmente,

os níveis destas espécies apresentaram altas contagens quando comparadas às demais espécies bacterianas avaliadas.

Alterações no complexo laranja também foram observadas logo após a terapia inicial. No grupo teste, 10 espécies bacterianas (*C. showae*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *F. nucleatum ss vicentii*, *F. nuc ss polymorphum*, *F. periodonticum*, *M. micros*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* e *S. constellatus*) apresentaram significativa redução. Aos 60 dias de avaliação, os níveis da maior parte dos possíveis patógenos do complexo laranja ainda se mantiveram reduzidos em relação ao início do estudo no grupo teste e controle, embora sem diferenças significativas para a maioria deles. Finalmente, aos 90 dias, 6 espécies bacterianas do grupo laranja (*E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *F. nucleatum ss vicentii*, *F. nuc ss polymorphum*, *F. periodonticum*, *P. intermedia*) apresentaram reduções na sua contagem total no grupo teste e 3 espécies (*F. nuc ss polymorphum*, *F. periodonticum*, *M. micros*) no grupo controle. Complementarmente, os níveis de *A. actinomycetemcomitans* não foram significativamente alterados por nenhuma das terapias empregadas, em nenhum tempo do estudo.

Especialmente no grupo teste, as espécies de *Actinomyces* (complexo azul) assim como as dos complexos amarelo, verde e roxo aos quais agrupam a maior parte das espécies consideradas benéficas, também apresentaram alterações importantes durante o curso do estudo. Reduções significativas foram observadas em várias destas espécies logo após a terapia. Espécies de *Actinomyces* (*A. gerencseriae* e *A. naeslundii* 1) e 3 espécies do complexo verde (*C. gingivalis*, *C. ochracea* e *C. sputigena*) foram estatisticamente reduzidas logo após a terapia antibiótica. Porém, aos 60 dias de avaliação essas espécies começaram a mostrar uma tendência à recolonização e aos 90 dias não houve diferenças significativas em comparação ao início do estudo.

A figura 11 ilustra as diferenças entre as médias da contagem das espécies bacterianas nos 2 grupos terapêuticos. O perfil microbiológico dos dois grupos mostrou semelhança no início do estudo. Um total de 7 espécies bacterianas diferiram significativamente entre os grupos, logo após a terapia (14 dias): *A. gerencseriae*, *C. gingivalis*, *E. nodatum*, *F. nucleatum ss nucleatum*, *F. nuc ss polymorphum*, *P. intermedia* e *T. forsythia*. Aos 14, 60 e 90 dias, os níveis das espécies do complexo vermelho mostraram-se mais baixos no grupo teste do que no

grupo controle. Porém, essa diferença somente foi significativa para *T. forsythia* aos 60 dias.

4.5 – Efeitos das terapias nas proporções dos complexos microbianos

A Figura 12 mostra as alterações ocorridas nas proporções dos complexos microbianos e na contagem total de bactérias em relação ao início do estudo (área dos gráficos setoriais) nas amostras de biofilme subgengival dos indivíduos de ambos os grupos terapêuticos, em todas as consultas de avaliações. As 39 espécies microbianas identificadas por meio das sondas de DNA foram agrupadas de acordo com os complexos microbianos (Socransky *et al.*, 1998). As espécies pertencentes a cada complexo foram somadas e a proporção de cada complexo em cada consulta de avaliação foi determinada.

Comparando os dois grupos terapêuticos, pode-se observar que a contagem total de bactérias ($3,0 \times 10^7$ e $3,8 \times 10^7$ para controle e teste respectivamente) e as proporções dos diferentes complexos microbianos eram semelhantes no início do estudo ($p > 0,05$). O complexo presente em maiores proporções foi o laranja, representando 51,8% e 48,2% das espécies avaliadas para os grupos controle e teste, respectivamente. O complexo vermelho foi o segundo maior, composto por 32,4% e 25,3% das espécies para os grupos controle e teste respectivamente. As espécies bacterianas dos complexos azul, amarelo, roxo e verde, consideradas benéficas, perfaziam 6,1% e 21,2% para os grupos controle e teste, respectivamente ($p > 0,05$).

Logo após o final da terapia inicial (14 dias) embora a contagem total de bactérias diminuiu significativamente para ambos os grupos ($p < 0,05$), o grupo que utilizou antibioticoterapia mostrou uma redução mais acentuada na contagem total de microrganismos subgengivais ($1,7 \times 10^6$) em comparação ao grupo controle ($9,0 \times 10^6$), que pode ser observada pela maior redução em área dos gráficos setoriais. Aos 60 dias a contagem total de microrganismos aumentou e depois foi praticamente mantida no grupo controle até 90 dias. Já o grupo teste, apresentou nova redução na contagem total de microrganismos aos 90 dias de avaliação. As espécies consideradas benéficas apresentaram proporções semelhantes para ambos os grupos ao final do período experimental (21,9% e 20,5% para os grupos controle e teste, respectivamente).

Grupo Controle (Raspagem e debridamento periimplantar)

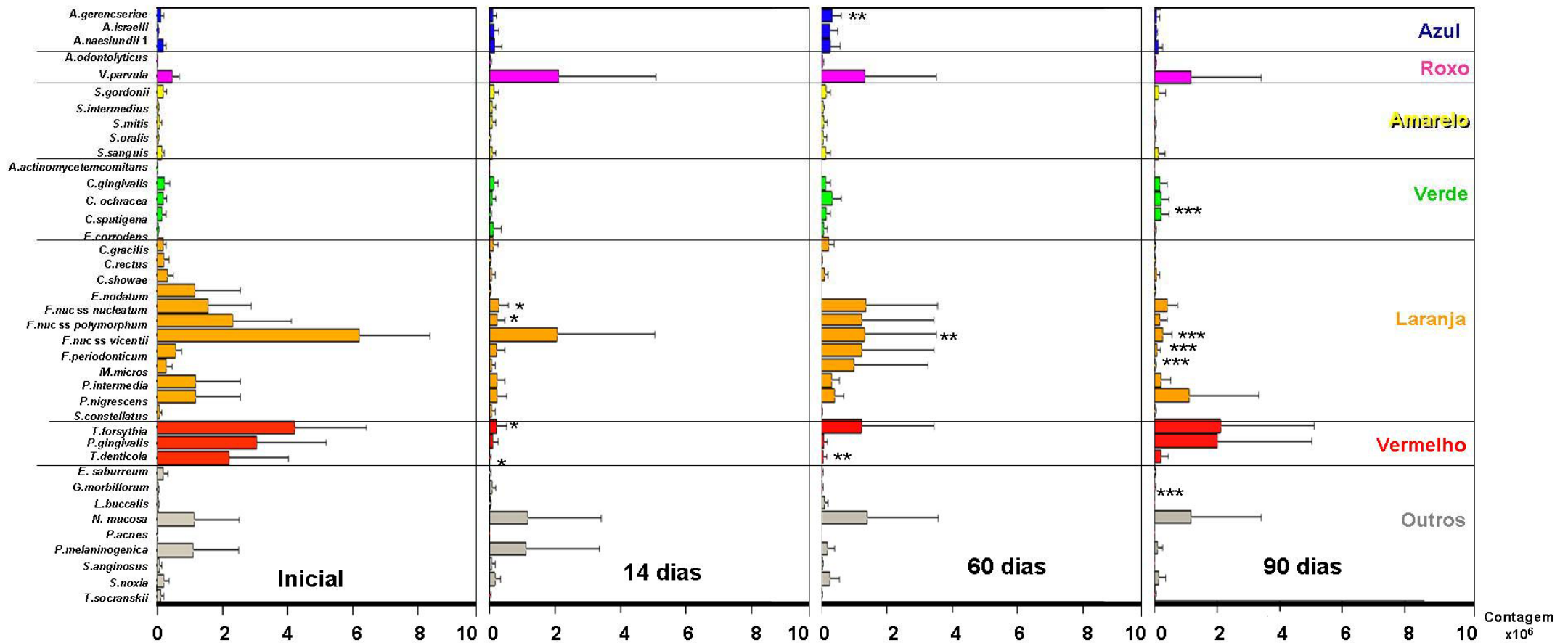


Figura 9. Gráfico de barras das médias de contagem ($\times 10^6 \pm dp$) de 39 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo (0), ao final da terapia inicial (14), 60 e 90 dias, nos indivíduos do grupo Controle. Teste Friedman: diferenças ao longo do período experimental ($p < 0,05$). Teste Wilcoxon: diferenças entre o início do estudo (Inicial) e cada um dos demais tempos experimentais (14, 60 e 90 dias). * $p < 0,05$ entre 14 dias e inicial (0); ** $p < 0,05$; entre 60 dias e inicial (0), *** $p < 0,05$ entre 90 e inicial (0).
Complexos microbianos: ■ azul, ■ roxo, ■ verde, ■ amarelo, ■ laranja, ■ vermelho, ■ outros microrganismos.

Grupo Teste (Raspagem e debridamento periimplantar associado à antibioticoterapia)

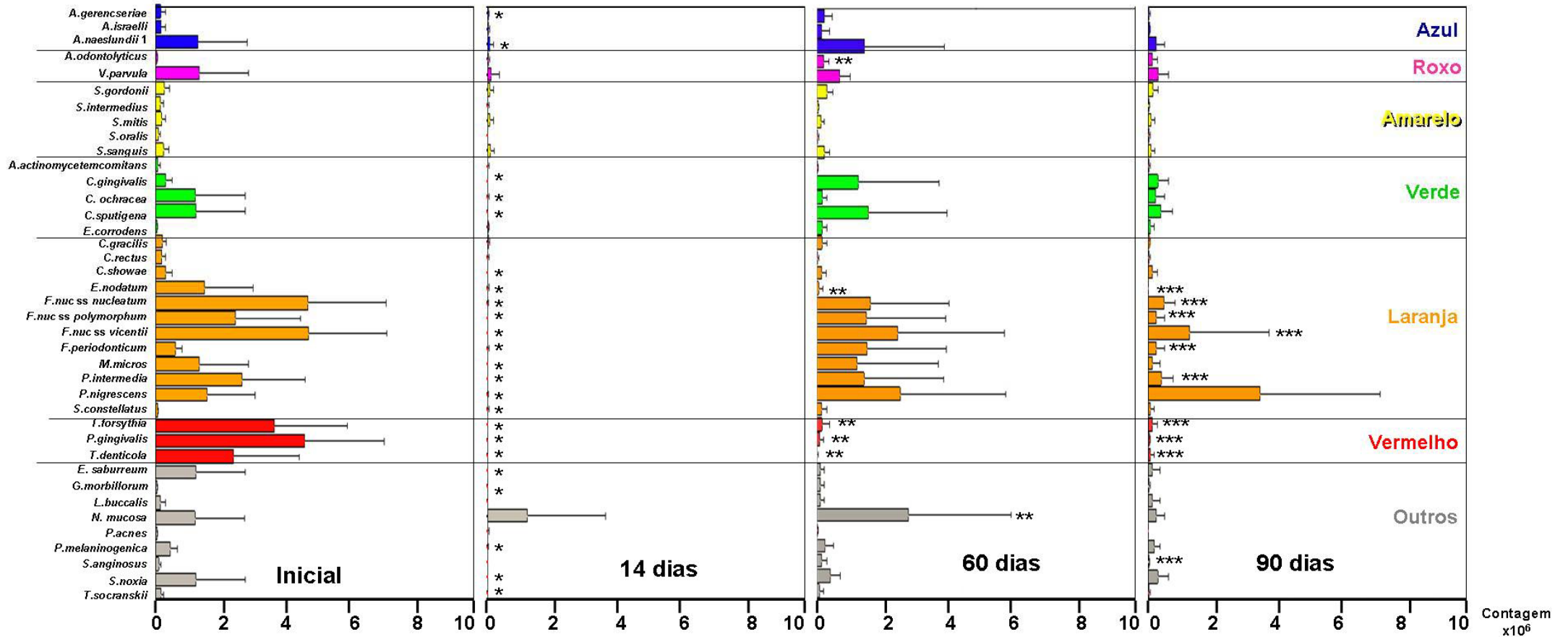


Figura 10. Gráfico de barras das médias de contagem ($\times 10^6 \pm dp$) de 39 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo (0), ao final da terapia inicial (14), 60 e 90 dias, nos indivíduos do grupo Teste. Teste Friedman: diferenças ao longo do período experimental ($p < 0,05$). Teste Wilcoxon: diferenças entre o início do estudo (Inicial) e cada um dos demais tempos experimentais (14, 60 e 90 dias). * $p < 0,05$ entre 14 dias e inicial (0); ** $p < 0,05$ entre 60 dias e inicial (0), *** $p < 0,05$ entre 90 e inicial (0).

Complexos microbianos: ■ azul, ■ roxo, ■ verde, ■ amarelo, ■ laranja, ■ vermelho, ■ outros microrganismos.

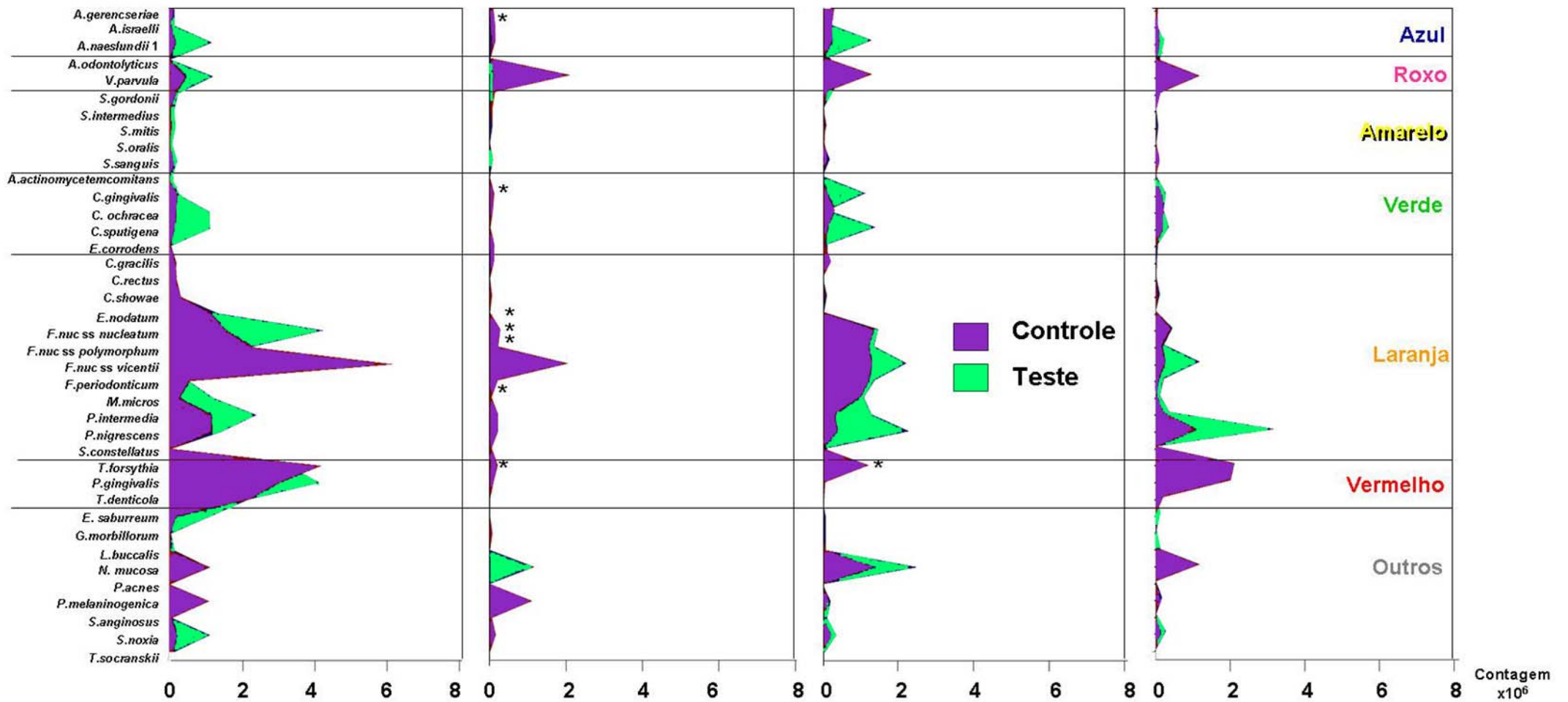


Figura 11. Gráfico apresentando as médias de contagem ($\times 10^6$) de 39 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival no início do estudo (0), ao final da terapia inicial (14), 60 e 90 dias, nos indivíduos dos grupos Controle e Teste. Teste Mann-Whitney: diferenças entre os grupos ao longo de cada período experimental, $*p < 0,05$.

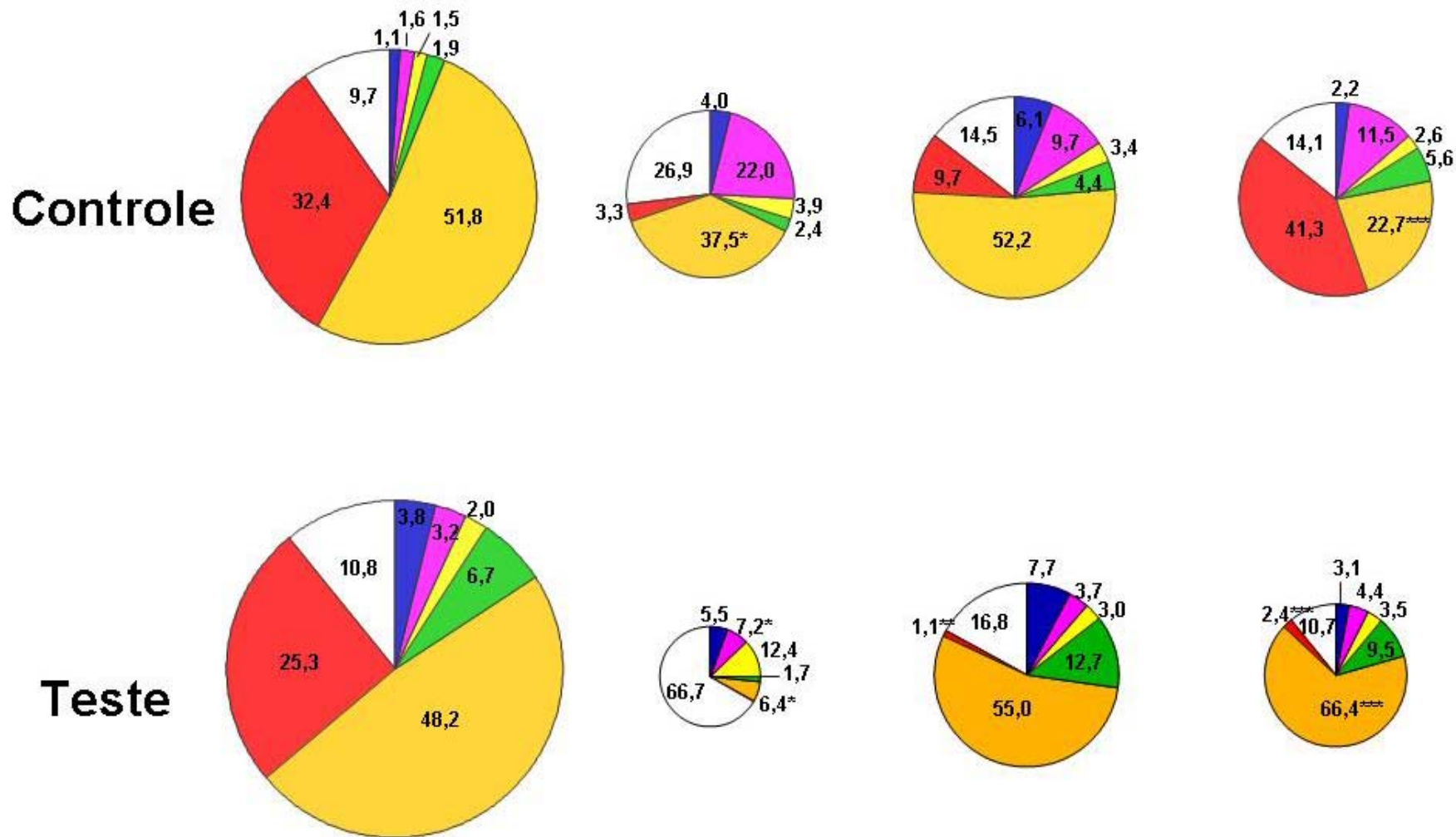


Figura 12. Média das proporções dos complexos microbianos descritos por Socranky & Haffajee (2002) presentes nas amostras de placa subgingival dos indivíduos de cada grupo terapêutico, em todos os tempos do estudo. O grupo azul é constituído por 3 espécies de *Actinomyces*. A área dos gráficos foi ajustada para refletir a diferença da contagem total de bactérias entre os tempos 0, 14, 60 e 90 dias. Teste Friedman: * $p < 0,05$ entre 14 dias e inicial (0); ** $p < 0,05$; entre 60 dias e inicial (0), *** $p < 0,05$; entre 90 e inicial (0) O complexo vermelho do grupo teste no tempo 14 dias apresenta 0,1%.

Complexos microbianos: ■ Azul, ■ roxo, ■ verde, ■ amarelo, ■ laranja, ■ vermelho, ■ outros microrganismos

5. DISCUSSÃO

A utilização da terapia antibiótica associada ao debridamento mecânico, resultou na redução do sangramento marginal, presença de supuração, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, ratificando estudos prévios que trataram tanto a doença periimplantar (Mombelli & Lang, 1992; Mombelli *et al.*, 2001) quanto a doença periodontal (van Winkelhoff *et al.*, 1989; Pavicic *et al.*, 1994; Berglundh *et al.*, 1998; Winkel *et al.*, 2001; Serino *et al.*, 2001; Haffajee *et al.*, 2004; Guerrero *et al.*, 2005). Ratificando estudos prévios, no presente estudo observou-se a diminuição da profundidade de sondagem não foi acompanhada de recessão da mucosa periimplantar, mas provavelmente pela redução da inflamação tecidual e conseqüente aumento do tônus tecidual (Mombelli *et al.*, 2001).

As médias de freqüência de sítios com sangramento à sondagem foram reduzidas aos 60 dias, aumentando no final do período experimental, sem, no entanto, diferir significativamente entre os grupos ou ao longo dos períodos experimentais. Embora o sangramento à sondagem, na doença periodontal, possa não significar a presença de doença (Baderstein *et al.*, 1985; Lang *et al.*, 1986), a ausência deste sinal clínico é considerado estado de saúde (Lang *et al.*, 1990).

Complementarmente, alguns estudos, utilizando modelos animais, (Ericsson & Lindhe, 1993; Lang *et al.*, 1994; Isidor 1997; Schou *et al.*, 2002; Shibli *et al.*, 2003b; Martins *et al.*, 2004), avaliaram a influência da profundidade de sondagem nas condições de saúde e doença periimplantar, concluindo que a configuração e a orientação das fibras colágenas nos tecidos moles periimplantares poderiam influenciar sua tenacidade, aumentando assim a presença de sangramento à sondagem e da profundidade de sondagem (Schou *et al.*, 2002; Shibli *et al.*, 2003b; Martins *et al.*, 2004).

No grupo teste, a utilização do metronidazol associado à amoxicilina reduziu os parâmetros de inflamação no período inicial de avaliação, entretanto estes índices voltaram quase aos níveis iniciais. Outro importante fator foi a profundidade de sondagem inicial: os indivíduos de ambos os grupos apresentavam, em média 5mm associados a defeitos ósseos de 4mm. Estas características associadas às dificuldades inerentes, poderiam pelo menos aos 90 dias, contraindicar a terapia não cirúrgica para o tratamento das periimplantites. Lang *et al.* (1997) utilizando um sistema de interceptação e tratamento das doenças periimplantares, indicam que implantes acometidos por periimplantite que

apresentem profundidades de sondagem superiores a 5mm acompanhadas de defeitos infra-osseos de 4mm necessitam de terapia cirúrgica reconstrutiva.

Após terapia inicial, 10,89% dos sítios periimplantares dos indivíduos do grupo controle apresentava supuração, indicando atividade de doença. Entretanto, cumpre salientar que este número representa aproximadamente 2 sítios periimplantes ou um implante osseointegrado. Durante o transcorrer do estudo, este indivíduo do grupo controle apresentou persistência de supuração e foi excluído do estudo e o tratamento suspenso. O indivíduo foi tratado por meio de outra modalidade antibiótica como a clindamicina associado ao tratamento cirúrgico para detoxificação da superfície do implante (Hämmerle *et al.*, 1995; Romeo *et al.*, 2005; Shibli, 2003d).

Neste estudo a terapia não-cirúrgica, em analogia ao tratamento da doença periodontal, foi empregada com a finalidade de desorganizar e remover os depósitos de biofilme subgingival presentes sobre a superfície periimplantar. Entretanto, durante o tratamento periodontal básico, a instrumentação da superfície radicular culmina com a remoção tanto de depósitos bacterianos quanto de cemento e dentina contaminados (Adriaens & Adriaens, 2004). No debridamento periimplantar, a utilização de curetas de teflon[®] evitam danos à estrutura da superfície do implante (Matarasso *et al.*, 1996, Shibli *et al.*, 2004; Shibli *et al.*, 2005; Shibli *et al.*, 2006), mas são pouco eficientes na remoção mecânica de depósitos bacterianos calcificados. O desenho dos implantes, ou seja, a presença de espiras dificulta ainda mais esta remoção (Shibli *et al.*, 2003)

Karring *et al.* (2005) utilizando sistema de pontas de teflon[®] para o tratamento de lesões periimplantares em humanos, obtiveram uma resposta clínica mais favorável como diminuição do sangramento à sondagem e redução da profundidade de sondagem, embora não observassem diferença significativa entre os grupos controle (raspagem e debridamento com curetas de teflon) e sistema Vector de ultrassom com pontas de teflon[®], corroborando os dados obtidos em nosso estudo para os sujeitos do grupo controle.

A avaliação da microbiota subgingival ao longo dos períodos experimentais apresentou algumas diferenças significativas entre os grupos. Aos 14 dias, no grupo controle apenas 4 espécies bacterianas foram significativamente reduzidas, enquanto no grupo teste essa redução ocorreu para 24 espécies. Isso se deve ao fato da associação de amoxicilina e metronidazol combinar antibióticos de

espectros diferentes e ainda terem efeito sinérgico (van Winkelhoff *et al.*, 1992; Pavicic *et al.*, 1992; Pavicic *et al.*, 1994). Esses achados estão de acordo com estudos de Feres *et al.* (2001), onde aos 14 dias, os resultados obtidos mostraram uma grande diminuição na quantidade de bactérias. De especial interesse as bactérias do complexo vermelho (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*) foram estatisticamente reduzidas logo após o término da terapia (14 dias) nos grupos controle e teste. A contagem total de bactérias estava abaixo dos níveis detectáveis para o grupo teste demonstrando que o debridamento mecânico associado à terapia antibiótica atua na redução dos patógenos periodontais de maneira acentuada.

No grupo teste, a redução das bactérias do complexo vermelho foi mantida aos 90 dias. Para o grupo controle, embora *T. forsythia* e *P. gingivalis* apresentassem uma redução aos 14 e 60 dias, essa diferença não se mostrou significativa após 90 dias. No início a proporção do complexo vermelho para o grupo controle era de 32,4% e aos 90 dias 41,3%. Isso mostra que embora o debridamento mecânico consiga reduzir grandes massas de bactérias e diminuir a proporção do complexo vermelho aos 14 dias esses resultados não são mantidos. Assim como em outros estudos (Lang *et al.*, 2002; Karring *et al.*, 2005), nossos achados indicam que o debridamento eficaz no implante com bolsas profundas (≥ 4 mm) é um desafio a ser alcançado, e que nesses casos, o debridamento mecânico deve ser associado com administração antibiótica sistêmica ou local. Comparando com o grupo teste é possível notar que a proporção do complexo vermelho diminuiu significativamente de 25,3% para 2,4%.

Esse estudo falhou na tentativa de erradicação de *A. actinomycetemcomitans* tanto no grupo controle (raspagem e debridamento periimplantar), quanto no grupo teste (raspagem e debridamento periimplantar associado ao uso de amoxicilina e metronidazol) ao longo dos 90 dias de avaliação. Para o grupo controle, nossos resultados já eram esperados, uma vez que a eliminação de *A. actinomycetemcomitans* apenas com a raspagem é dificilmente alcançada (Slots & Rosling, 1983; Madell *et al.*, 1986; de Graaff *et al.*, 1989; Goené *et al.*, 1990; Mombelli *et al.*, 1994; Winkel *et al.*, 1998). Entretanto, esperávamos obter diferenças significativas na eliminação de tal patógeno para o grupo teste, uma vez que vários autores têm relatado sucesso com a terapia antibiótica aqui proposta (van Winkelhoff *et al.*, 1989; de Graaff *et al.*, 1989; van Winkelhoff *et al.*, 1992; Pavicic *et al.*, 1994; Winkel *et al.*, 1998; Berglundh *et al.*, 1998).

Os achados para o complexo laranja não foram muito diferentes daqueles encontrados aos 90 dias para o complexo vermelho, onde apenas 2 espécies do grupo controle e 10 do grupo teste reduziram de forma significativa. Porém, enquanto que no grupo teste houve um aumento na proporção do complexo laranja quando comparado ao inicial, devido principalmente à diminuição da proporção do complexo vermelho, no grupo controle o complexo laranja diminuiu sua proporção devido principalmente a um aumento do complexo vermelho. Essa mudança nas diferentes proporções entre os grupos pode ser atribuída à limitação do debridamento periimplantar como único meio de terapia (Karring *et al.*, 2005), ainda que a contagem total de bactérias aos 90 dias mostrou-se menor que no início do estudo. Em relação às espécies benéficas dos complexos amarelo, verde, roxo e azul (*Actinomyces*), embora essas bactérias tenham apresentado uma significativa redução na contagem aos 14 dias houve uma tendência à recolonização, atingindo níveis similares aos iniciais aos 90 dias.

Nossos resultados estão de acordo com Mombelli & Lang (1992) onde eles relataram que aos 10 dias após terapia antibiótica, a maioria das bactérias cultivadas como, por exemplo, *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *Fusobacterium* sp não foram isoladas, entretanto, foi considerado o pico de recolonização para a maioria das espécies aos 60 dias. O mesmo ocorreu no estudo de Mombelli *et al.* (2001), quando após a remoção do Actisite® (10 dias), *C. rectus*, *A. naeslundii*, *A. actinomycetemcomitans* e *E. Corrodens* não foram mais detectados, porém aos 90 dias, a maioria das bactérias cultivadas – além das descritas anteriormente – apresentavam uma tendência de voltar aos níveis iniciais e, aos 12 meses de acompanhamento, as contagens obtidas eram similares as iniciais. Esses dados mostram que embora haja um benefício imediato decorrente da terapia mecânica para o debridamento periimplantar associado ao uso de medicação antimicrobiana (ou não), a recolonização bacteriana tende a atingir os níveis iniciais por volta dos 90 dias de avaliação. Haffajee *et al.* (1997) também demonstraram tal relação temporal para 40 espécies bacterianas, com exceção das 3 espécies pertencentes ao complexo vermelho – *T. denticola*, *T. forsythia* e *P. gingivalis*. Segundo Haffajee *et al.* (1997), é quase impossível remover todos os microrganismos usando apenas uma cureta e, em um curto período de tempo, talvez 1 ou 2 semanas, o total de bactérias tende a ser restabelecido aos níveis iniciais, e então, continua a aumentar gradativamente no decorrer do tempo.

De maneira geral, nota-se que a raspagem e debridamento periimplantar associado ou não a antibióticos causaram modificações nas proporções dos complexos microbianos subgengivais. Os indivíduos que receberam apenas raspagem e debridamento periimplantar (grupo controle) mostraram alterações ao longo do estudo apenas no complexo laranja, enquanto os indivíduos que receberam a combinação da RDP e antibióticos apresentaram também uma redução significativa para os níveis de *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola*. O complexo vermelho foi reduzido apenas no grupo teste e se manteve em proporções mais baixas do que no início do estudo aos 90 dias. Porém, para o grupo controle, houve um aumento na proporção deste complexo, do tempo inicial (32,4%) para 90 dias (41,3%).

Isso mostra o efeito benéfico da terapia antibiótica na redução dos patógenos periodontais de maneira mais efetiva do que apenas o debridamento mecânico. Entretanto, cumpre salientar que os dados desta investigação são preliminares e que futuros estudos com maiores períodos de acompanhamento devem ser realizados para que se trace um perfil microbiano de ambos os grupos assim como as possíveis alterações nos parâmetros clínicos.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados, concluímos que:

- a) Ambas as terapias reduziram as médias de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção;
- b) A diferença mais consistente em relação à microbiota foi a redução e manutenção dos baixos níveis e proporções de *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* obtida no grupo que recebeu a terapia antibiótica;
- c) Nenhuma das terapias resultou em ganho de tecido ósseo periimplantar radiograficamente no período estudado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Araujo MW, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J *et al.* Reproducibility of probing depth measurement using a constant-force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. *J Periodontol.* 2003 Dec;74(12):1736-40.

Badersten, A, Nilveus, R, Egelberg, J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. VII. Bleeding, suppuration and probing depth in sites with probing attachment loss. *J Clin Periodontol.* 1985;12(6):432-40.

Becker W, Becker BE, Newman MG, Nyman S. Clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990 Spring;5(1):31-8.

Behneke A, Behneke N, d'Hoedt B. Treatment of peri-implantitis defects with autogenous bone grafts: six-month to 3-year results of a prospective study in 17 patients. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000 Jan-Feb;15(1):125-38.

Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 1998 May;25(5):354-62.

Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res.* 1996 Sep;7(3):201-11.

de Graaff J, van Winkelhoff AJ, Goene RJ. The role of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontal disease. *Infection.* 1989 Jul-Aug;17(4):269-71.

Engler-Blum G, Meier M, Frank J, Muller GA. Reduction of background problems in nonradioactive northern and Southern blot analyses enables higher sensitivity than ³²P-based hybridizations. *Anal Biochem.* 1993 May 1;210(2):235-44.

* Baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Ericsson I, Lekholm U. Evaluation of clinical function and marginal tissue reactions at tooth tissue-integrated reconstructions. In: van Steenberghe E, Albrektsson T, Brånemark PI, Henry PJ, Holt R, Liden G. (Eds). *Tissue Integration in Oral and Maxillo-Facial Reconstruction*. Current Clinical Practice Series 29. Amsterdam: Excerpta Medica, 1986. p. 350.

Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Edlund T, Lindhe J. The effect of antimicrobial therapy on periimplantitis lesions. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 1996 Dec;7(4):320-8.

Fardal O, Johannessen AC, Olsen I. Severe, rapidly progressing peri-implantitis. *J Clin Periodontol*. 1999 May;26(5):313-7.

Feinberg AP, Vogelstein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem*. 1983 Jul 1;132(1):6-13.

Feres M, Haffajee AD, Gonçalves C, Allard K, Som S, Smith C *et al*. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (I). Effect on the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*. 1999 Dec;26(12):775-83.

Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *J Clin Periodontol*. 2001 Jul;28(7):597-609.

George K, Zafiropoulos GG, Murat Y, Hubertus S, Nisengard RJ. Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. *J Periodontol*. 1994 Aug;65(8):766-70.

Goene RJ, Winkel EG, Abbas F, Rodenburg JP, van Winkelhoff AJ, de Graaff J. Microbiology in diagnosis and treatment of severe periodontitis. A report of four cases. *J Periodontol*. 1990 Jan;61(1):61-4.

Guerrero A, Griffiths GS, Nibali L, Suvan J, Moles DR, Laurell L *et al*. Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2005 Oct;32(10):1096-107.

Hass R, Baron M, Dortbudak O, Watzek G. Lethal photosensitization, autogenous bone, and e-PTFE membrane for the treatment of peri-implantitis: preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000 May-Jun;15(3):374-82.

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 1997 May;24(5):324-34.

Haffajee AD, Uzel NG, Arguello EI, Torresyap G, Guerrero DM, Socransky SS. Clinical and microbiological changes associated with the use of combined antimicrobial therapies to treat "refractory" periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2004 Oct;31(10):869-77.

Hammerle CH, Fourmoussis I, Winkler JR, Weigel C, Bragger U, Lang NP. Successful bone fill in late peri-implant defects using guided tissue regeneration. A short communication. *J Periodontol*. 1995 Apr;66(4):303-8.

Holt R, Newman N. The clinical and microbial characterization of peri-implant environment. *J Dental Res*. 1986;65:257-62.

Hultin M, Gustafsson A, Hallstrom H, Johansson LA, Ekfeldt A, Klinge B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Aug;13(4):349-58.

Hurzeler MB, Quinones CR, Schupback P, Morrison EC, Caffesse RG. Treatment of peri-implantitis using guided bone regeneration and bone grafts, alone or in combination, in beagle dogs. Part 2: Histologic findings. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997 Mar-Apr;12(2):168-75.

Karring ES, Stavropoulos A, Ellegaard B, Karring T. Treatment of peri-implantitis by the Vector system. *Clin Oral Implants Res*. 2005 Jun;16(3):288-93.

Khoury F, Buchmann R. Surgical therapy of peri-implant disease: a 3-year follow-up study of cases treated with 3 different techniques of bone regeneration. *J Periodontol*. 2001 Nov;72(11):1498-508.

Kivela-Rajamaki MJ, Teronen OP, Maisi P, Husa V, Tervahartiala TI, Pirila EM *et al*. Laminin-5 gamma2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. *Clin Oral Implants Res*. 2003 Apr;14(2):158-65.

Kishida M, Sato S, Ito K. Effects of a new ultrasonic scaler on fibroblast attachment to root surfaces: a scanning electron microscopy analysis. *J Periodontol Res.* 2004 Apr;39(2):111-9.

Klinge B, Gustafsson A, Berglundh T. A systematic review of the effect of anti-infective therapy in the treatment of peri-implantitis. *J Clin Periodontol.* 2002;29 Suppl 3:213-25; discussion 232-3.

Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE. Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *J Clin Periodontol.* 1986, v.13(6), p.590-6.

Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol.* 1990, v.17(10), p.714-21.

Lang NP, Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG. Histologic probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. *Clin Oral Implants Res.* 1994, v.5(4):p.191-201.

Lang NP, Wilson TG, Corbet EF. Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. *Clin Oral Implants Res.* 2000;11 Suppl 1:146-55.

Lang NP, Mombelli A, Tonetti MS, Bragger U, Hammerle CH. Clinical trials on therapies for peri-implant infections. *Ann Periodontol* 1997 Marc; 2(1):343-56.

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

Leonhardt A, Renvert S, Dahlen G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implants Res.* 1999 Oct;10(5):339-45.

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

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

Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965; 36:177-87.

Mandell RL, Tripodi LS, Savitt E, Goodson JM, Socransky SS. The effect of treatment on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol.* 1986 Feb;57(2):94-9.

Martins MC, Abi-Rached RS, Shibli JA, Araujo MW, Marcantonio E Jr. Experimental peri-implant tissue breakdown around different dental implant surfaces: clinical and radiographic evaluation in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004 Nov-Dec;19(6):839-48.

Matarasso S, Quaremba G, Coraggio F, Vaia E, Cafiero C, Lang NP. Maintenance of implants: an in vitro study of titanium implant surface modifications subsequent to the application of different prophylaxis procedures. *Clin Oral Implants Res.* 1996 Mar;7(1):64-72.

Melo L. Avaliação microbiológica, clínica e da matriz metaloproteinase-8 (MMP-8) na peri-implantite (tese). Guarulhos:Universidade Guarulhos; 2005.

Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol.* 1987 Dec;2(4):145-51.

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

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

Mombelli A, Lang NP. Antimicrobial treatment of peri-implant infections. *Clin Oral Implants Res.* 1992 Dec;3(4):162-8.

Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. *J Periodontol.* 1994 Sep;65(9):827-34.

Mombelli A, Marxer M, Gaberthuel T, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1995 Feb;22(2):124-30.

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

Mombelli A. Prevention and therapy of peri-implant infections. In: Lang NP, Karring T, Lindhe J, ed. *Proceedings of the 3rd European Workshop on Periodontology*. Berlin: Quintessenz Verlag, 1999:281-303.

Mombelli A, Feloutzis A, Bragger U, Lang NP. Treatment of peri-implantitis by local delivery of tetracycline. Clinical, microbiological and radiological results. *Clin Oral Implants Res*. 2001 Aug;12(4):287-94.

Nguyen L, Dewhirst FE, Hauschka PV, Stashenko P. Interleukin-1 beta stimulates bone resorption and inhibits bone formation in vivo. *Lymphokine Cytokine Res*. 1991 Apr;10(1-2):15-21.

Nociti FH Jr, Machado MA, Stefani CM, Sallum EA, Sallum AW. Absorbable versus nonabsorbable membranes and bone grafts in the treatment of ligature-induced peri-implantitis defects in dogs. Part I. A clinical investigation. *Clin Oral Implants Res*. 2001 Apr;12(2):115-20.

Ong ES, Newman HN, Wilson M, Bulman JS. The occurrence of periodontitis-related microorganisms in relation to titanium implants. *J Periodontol*. 1992 Mar;63(3):200-5.

Papaioannou W, Quirynen M, Van Steenberghe D. The influence of periodontitis on the subgingival flora around implants in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res*. 1996 Dec;7(4):405-9.

Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, de Graaff J. In vitro susceptibilities of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to a number of antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992 Dec;36(12):2634-8.

Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, Douque NH, Steures RW, de Graaff J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. A 2-year evaluation. *J Clin Periodontol*. 1994 Feb;21(2):107-12.

Persson LG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J. Guided bone regeneration in the treatment of periimplantitis. *Clin Oral Implants Res*. 1996 Dec;7(4):366-72.

Persson LG, Araujo MG, Berglundh T, Grondahl K, Lindhe J. Resolution of peri-implantitis following treatment. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1999 Jun;10(3):195-203.

Persson LG, Berglundh T, Lindhe J, Sennerby L. Re-osseointegration after treatment of peri-implantitis at different implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2001a Dec;12(6):595-603.

Persson LG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J. Osseointegration following treatment of peri-implantitis and replacement of implant components. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2001b Mar;28(3):258-63.

Plagnat D, Giannopoulou C, Carrel A, Bernard JP, Mombelli A, Belser UC. Elastase, alpha2-macroglobulin and alkaline phosphatase in crevicular fluid from implants with and without periimplantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2002 Jun;13(3):227-33.

Pontoriero R, Tonelli MP, Carnevale G, Mombelli A, Nyman SR, Lang NP. Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res.* 1994 Dec;5(4):254-9.

Rams TE, Link CC Jr. Microbiology of failing dental implants in humans: electron microscopic observations. *J Oral Implantol.* 1983;11(1):93-100.

Rams TE, Roberts TW, Tatum H Jr, Keyes PH. The subgingival microbial flora associated with human dental implants. *J Prosthet Dent.* 1984 Apr;51(4):529-34.

Romeo E, Ghisolfi M, Murgolo N, Chiapasco M, Lops D, Vogel G. Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part I: clinical outcome. *Clin Oral Implants Res.* 2005 Feb;16(1):9-18.

Rooney J, Wade WG, Sprague SV, Newcombe RG, Addy M. Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo controlled study. *J Clin Periodontol.* 2002 Apr;29(4):342-50.

Roos-Jansaker AM, Renvert S, Egelberg J. Treatment of peri-implant infections: a literature review. *J Clin Periodontol.* 2003 Jun;30(6):467-85.

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

Sanz M, Newman MG, Nachnani S, Holt R, Stewart R, Flemmig T. Characterization of the subgingival microbial flora around endosteal sapphire dental implants in partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990 Fall;5(3):247-53.

Schou S, Holmstrup P, Jorgensen T, Stoltze K, Hjorting-Hansen E, Wenzel A. Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis. I. Clinical and radiographic observations in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 2003a Aug;14(4):391-403.

Schou S, Holmstrup P, Jorgensen T, Skovgaard LT, Stoltze K, Hjorting-Hansen E *et al.* Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss) and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 2003b Oct;14(5):535-47.

Schou S, Holmstrup P, Skovgaard LT, Stoltze K, Hjorting-Hansen E, Gundersen HJ. Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis. II. Stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 2003c Aug;14(4):404-11.

Schou S, Holmstrup P, Jorgensen T, Skovgaard LT, Stoltze K, Hjorting-Hansen E *et al.* Implant surface preparation in the surgical treatment of experimental peri-implantitis with autogenous bone graft and ePTFE membrane in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 2003d Aug;14(4):412-22.

Schwarz F, Rothamel D, Sculean A, Georg T, Scherbaum W, Becker J. Effects of an Er:YAG laser and the Vector ultrasonic system on the biocompatibility of titanium implants in cultures of human osteoblast-like cells. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Dec;14(6):784-92.

Schwarz F, Sculean A, Rothamel D, Schwenzer K, Georg T, Becker J. Clinical evaluation of an Er:YAG laser for nonsurgical treatment of peri-implantitis: a pilot study. *Clin Oral Implants Res.* 2005 Feb;16(1):44-52.

Serino G, Rosling B, Ramberg P, Hellstrom MK, Socransky SS, Lindhe J. The effect of systemic antibiotics in the treatment of patients with recurrent periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2001 May;28(5):411-8.

Shibli JA, Martins MC, Nociti FH Jr, Garcia VG, Marcantonio E Jr. Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration: a preliminary histologic study in dogs. *J Periodontol*. 2003a Mar;74(3):338-45.

Shibli JA, Martins MC, Lotufo RF, Marcantonio E Jr. Microbiologic and radiographic analysis of ligature-induced peri-implantitis with different dental implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003b May-Jun;18(3):383-90.

Shibli JA, Martins MC, Theodoro LH, Lotufo RF, Garcia VG, Marcantonio EJ. Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. *J Oral Sci*. 2003c Mar;45(1):17-23.

Shibli JA. Etiologia, tratamento e progressão das peri-implantites (tese). Araraquara: UNESP/FOAR; 2003.

Shibli JA, Theodoro LH, Haypek P, Garcia VG, Marcantonio E Jr. The effect of CO(2) laser irradiation on failed implant surfaces. *Implant Dent*. 2004 Dec;13(4):342-51.

Shibli JA, Marcantonio E, d'Avila S, Guastaldi AC, Marcantonio E Jr. Analysis of failed commercially pure titanium dental implants: a scanning electron microscopy and energy-dispersive spectrometer x-ray study. *J Periodontol*. 2005 Jul;76(7):1092-9.

Shibli JA, Martins MC, Ribeiro FS, Nociti Jr. FH, Garcia VG, Marcantonio Jr. E. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis. An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. No prelo 2006.

Slots J, Rosling BG. Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol*. 1983 Sep;10(5):465-86.

Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*. 1994 Oct;17(4):788-92.

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

Socransky SS & Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002;28: 12-55.

van Winkelhoff AJ, Rodenburg JP, Goene RJ, Abbas F, Winkel EG, de Graaff J. Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1989 Feb;16(2):128-31.

van Winkelhoff AJ, Tjihof CJ, de Graaff J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Periodontol.* 1992 Jan;63(1):52-7.

Winkel EG, van Winkelhoff AJ, van der Velden U. Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1998 Nov;25(11 Pt 1):857-64.

Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2001 Apr;28(4):296-305.

Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol.* 1996 Nov;1(1):879-925.