



**MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PERIODONTIA**

MARIA BEATRIZ BRAZ MÁXIMO

**PERFIL CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO DAS DOENÇAS
PERI-IMPLANTARES ANTES E APÓS DIFERENTES
TERAPIAS MECÂNICAS ANTI-INFECCIOSAS**

Guarulhos

2008

MARIA BEATRIZ BRAZ MÁXIMO

**PERFIL CLÍNICO E MICROBIOLÓGICO DAS DOENÇAS
PERI-IMPLANTARES ANTES E APÓS DIFERENTES
TERAPIAS MECÂNICAS ANTI-INFECCIOSAS**

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos
para obtenção do título de Mestre em Odontologia
Área de Concentração: Periodontia
Orientador (a): Profa. Dra. Poliana Mendes Duarte
Co-orientador (a): Profa. Dra. Magda Feres

Guarulhos

2008

M464p Máximo, Maria Beatriz Braz
Perfil clínico e microbiológico das doenças peri-implantares antes e após diferentes terapias mecânicas anti-infecciosas / Maria Beatriz Braz Máximo. Guarulhos, 2007.
53 f. ; 31 cm

Dissertação (Mestrado em Odontologia, área de concentração em Periodontia) - Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, 2007.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Poliana Mendes Duarte.
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Magda Feres.

1. Doença periodontal. 2. Implante dentário endoósseo. 3. Microbiologia oral. 4. Periodontia. I. Título. II. Universidade Guarulhos.

CDD 21st 617.632

Dedico este trabalho primeiramente aos meus pais, pois na ausência deles esse momento não seria tão pleno e ao meu namorado pelo apoio, tempo e paciência que não faltaram em um só momento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Guarulhos pela oportunidade a mim proporcionada para aprimorar meus conhecimentos e satisfazer meus desejos acadêmicos.

Meus infinitos e eternos agradecimentos aos meus pais Manoel Maximo Filho e Maria Conceição Braz Maximo pelo encorajamento, amor e confiança depositados em mim.

Ao meu namorado, Valmir Antônio de Oliveira Filho pelo amor, carinho, paciência e estímulo que foram peças fundamentais para realização deste trabalho.

Meus irmãos e minha família no geral, pelo pensamento positivo e pela compreensão a minha falta durante esses anos.

Agradeço muito a minha orientadora Professora Doutora Poliana Mendes Duarte, que não só me orientou a realizar este estudo, como me direcionou, me ensinou, me empurrou e me acolheu como a uma filha.

Ao Professor Doutor André Figueiredo Reis que me retirou do meu mundinho e me mostrou a imensidão que existe quando se atravessa uma barreira.

A minha amiga Adriana Mendonça por ter me aturado 24 horas dos seus dias de pesquisa e pelo suporte de nunca deixar baixar minha auto-estima.

Aos meus colegas e amigos de turma e de todas as horas Tati, Maike, Marcel, Dani, Diego, Mônica e Vanessa por me fazerem rir em muitos momentos em que eu queria chorar.

Agradeço a todos os professores da UNG, do Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão do Curso de Odontologia, Professores Doutores Magda Feres, José Augusto Rodrigues, Luciene Figueiredo, Poliana Mendes Duarte, Jamil Awad Shibli, Cristiane Mariote Amaral, André Figueiredo Reis, Cláudia Ota e Marta Ferreira Bastos que contribuíram com a minha chegada até aqui.

A Cíntia Lobo, Adriana Rose dos Santos, Cristina Zoucas e Izilvânia pelo apoio e serviços prestados sempre com alegria, simpatia e amizade. Muito Obrigada por Tudo!

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil clínico e microbiológico de sítios com doenças peri-implantares (mucosite ou peri-implantite) antes e após terapia mecânica anti-infecciosa, comparativamente aos implantes saudáveis. De acordo com o diagnóstico clínico e radiográfico dos tecidos peri-implantares, implantes de titânio do sistema Brånemark foram divididos em: **saúde** (n=11); **mucosite** (n=16): debridamento mecânico utilizando jato de bicarbonato, curetas de teflon e remoção de sobrecontorno das próteses quando necessário; **peri-implantite** (n=20): debridamento da superfície do implante com acesso cirúrgico, utilizando jato de bicarbonato e curetas de teflon. Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados no tempo 0 e em 90 dias após os tratamentos: índice de placa visível (IPV), índice de sangramento gengival (ISG), sangramento à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção relativo (NCI_r) e supuração (SUP). Nestes mesmos tempos experimentais, o biofilme subgengival foi coletado para a avaliação microbiológica por meio da técnica *Checkerboard DNA-DNA hybridization*. Os resultados clínicos demonstraram melhoras significativas em relação a IPV, ISG, SS e PS para mucosite e peri-implantite e para SUP nos implantes com peri-implantite em 90 dias após os tratamentos ($p < 0,05$). O ganho no nível clínico de inserção, em mm, (\pm DP) foi de $0,2 \pm 0,4$; $1,2 \pm 1,2$ e $2,1 \pm 0,9$ para saúde, mucosite e peri-implantite, respectivamente. Em relação aos aspectos microbiológicos, os implantes doentes apresentaram proporções mais elevadas de complexo vermelho (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*) quando comparados aos implantes saudáveis no início do estudo. Entretanto, somente a espécie *T. forsythia* apresentou uma proporção estatisticamente mais elevada na peri-implantite em comparação aos demais grupos ($p < 0,05$). Após o tratamento para a peri-implantite, houve uma redução estatisticamente significativa de *P. gingivalis* e *T. denticola* e uma espécie do complexo laranja, o *Parvimonas micra* ($p < 0,05$). Após ambas terapias, as proporções do complexo vermelho para mucosite e peri-implantite foram comparáveis aos implantes saudáveis ($p > 0,05$). Em conclusão, os resultados clínicos desse estudo revelaram melhora na quantidade de placa, inflamação da mucosa e profundidade de sondagem em ambos os tipos de lesões peri-implantares após os tratamentos. Além disso, houve melhoras no perfil microbiológico de ambas as doenças após as terapias.

Palavras-chave: peri-implantite, mucosite, implantes dentários, terapias mecânicas anti-infecciosas, biofilme, sondas de DNA hibridizadas.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the clinical and microbiological profiles before and after mechanical anti-infective therapies for mucositis and peri-implantitis. According to clinical and radiographic peri-implant diagnostic, Brånemark system titanium implants were assigned to one of the following groups: **health** (n=11); **mucositis** (n=16): mechanical debridement using abrasive sodium carbonate air-powder and teflon curettes and overcontour prosthesis removal as indicated; **peri-implantitis** (n=20): Open-flap debridement for implant surface decontamination using abrasive sodium carbonate air-powder and teflon curettes. Visible plaque local score (VPI), gingival marginal bleeding (GI), bleeding on probing (BoP), suppuration (SUP), probing depth (PD) and relative clinical attachment level (rCAL) were assessed at baseline and 90 days after therapies. Each experimental implant was subgingivally sampled (baseline and 90 days) and analyzed by *Checkerboard DNA-DNA hybridization*. Clinical results demonstrated significant improvements regarding PI, GI, BoP, and PD for mucositis and peri-implantitis and regarding SUP for peri-implantitis at 90 days after treatments ($p < 0.05$). Clinical attachment level gain (\pm SD) amounted 0.2 ± 0.4 ; 1.2 ± 1.2 and 2.1 ± 0.9 for healthy, mucositis and peri-implantitis, respectively. At the beginning of the study, diseased implants revealed higher proportions of pathogenic species from red complex such as *T. forsythia*, *P. gingivalis* and *T. denticola* than healthy implants. *T. forsythia* was the predominant pathogenic species detected in peri-implantitis ($p < 0.05$). A significant decrease in the proportion of *P. gingivalis* and *T. denticola* and one specie from orange complex (*P. micros*) was observed at 90 days after peri-implantitis therapy ($p < 0.05$). After therapies, the proportions of red complex for mucositis and peri-implantitis were similar to healthy implants ($p > 0.05$). In conclusion, the findings of this study revealed improvements of the levels of plaque accumulation, mucosal inflammation, probing depth and microbiological profile in both types of peri-implant lesions at 90 days after treatments.

Key Word: peri-implantitis, mucositis, dental implants, ant-infective mechanical therapy, biofilm, DNA Hybridization Probes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Doenças peri-implantares: mucosite e peri-implantite	1
1.2 Perfil microbiológico peri-implantar	2
1.3 Terapias para doenças as peri-implantares	6
1.3.1 Terapias anti-infecciosas para as doenças peri-implantares	7
1.4 Justificativa	10
2 PROPOSIÇÃO	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos	12
3.2 Avaliações clínicas	12
3.3 Calibração do examinador	14
3.4 Diagnóstico do implante	14
3.5 Preparo inicial	15
3.6 Delineamento do estudo	15
3.7 Terapias mecânicas anti-infecciosas	15
3.8 Avaliação microbiológica	18
3.8.1 Seleção dos sítios de coleta (sítios-teste)	18
3.8.2 Coleta das amostras de biofilme	18
3.8.3 <i>Checkerboard DNA-DNA hybridization</i>	18
3.8.4 Hibridação das amostras com as sondas de DNA	19
3.8.5 Sondas de DNA	19
3.8.6 Detecção das espécies	20
3.9 Análises estatísticas	22
4 RESULTADOS	23
4.1 Resultados clínicos	23

4.2 Resultados microbiológicos	28
5 DISCUSSÃO	32
6 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXO	44

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças peri-implantares: mucosite e peri-implantite

Os implantes dentais de titânio osseointegráveis têm sido utilizados com altas taxas de sucesso há mais de duas décadas sendo amplamente recomendados para reabilitação de dentes perdidos em pacientes total ou parcialmente edêntulos (ADELL et al., 1981; ZARB e SCHIMITT, 1990; LANG et al., 2004). Osseointegração consiste em uma conexão direta estrutural e funcional entre o osso e a superfície de um implante, capaz de suportar uma prótese e transmitir as forças oclusais ao tecido ósseo adjacente (ALBREKTSSON et al., 1994). Embora estudos longitudinais tenham demonstrado que os implantes osseointegrados atingem níveis de sucesso superiores a 95% (ESPOSITO et al. 1998; ASTRAND et al. 2004; ROOS-JANSAKER et al. 2006), diversos fatores podem comprometer a osseointegração, ocasionando as falhas precoces ou tardias da osseointegração. Compreende-se por falha precoce um comprometimento do processo de osseointegração impedindo que a conexão osso/implante ocorra e, por falha tardia, a quebra de uma osseointegração previamente obtida após a instalação de carga protética (ESPOSITO et al., 1998).

A falha precoce tem sido associada a fatores inerentes ao hospedeiro (consumo de cigarros, doenças sistêmicas, qualidade e quantidade óssea do leito receptor), ao procedimento cirúrgico (trauma e super-aquecimento ósseo, contaminação bacteriana durante a cirurgia, estabilidade inicial do implante, experiência do operador) e ao tipo de implante (material, formato, topografia, tratamento de superfície). Adicionalmente, a sobrecarga oclusal antes da consolidação do processo de osseointegração também é um fator que pode levar a perda precoce de um implante osseointegrável (BAIN e MOY, 1993; ESPOSITO et al., 1998). A perda tardia, por sua vez, tem sido associada à sobrecarga oclusal e/ou infecção bacteriana (ESPOSITO et al., 1998).

Doenças peri-implantares consistem em processos infecciosos ao redor de implantes em função mastigatória que apresentam como agente etiológico o biofilme bacteriano específico. Quando a inflamação está restrita aos tecidos moles ao redor do implante, sem comprometimento do tecido ósseo, denomina-se mucosite peri-implantar. A inflamação ao redor do implante em função com perda óssea progressiva, presença de bolsa, sangramento à sondagem e/ou supuração consiste na peri-implantite propriamente dita (JOVANOVIC, 1993; ALBREKTSSON e ISIDOR, 1994; ESPOSITO et al., 1998). O esclarecimento destas definições é importante porque, dependendo de como as doenças peri-

implantares são definidas, suas prevalências e incidências podem apresentar uma grande variação na literatura, impossibilitando algumas vezes a comparação entre os estudos epidemiológicos. Um grande número de estudos tem relatado a prevalência da perda dos implantes dentais, mas os diferentes motivos pelos quais ocorre essa perda são encontrados em um número restrito de investigações. Embora algumas investigações tenham relatado diferentes taxas de perda tardia do implante (implantes com cinco a dez anos sob carga), até o presente momento, não existem dados exatos sobre a perda de implantes por infecção bacteriana peri-implantar.

Esposito et al. (1998), em uma revisão, demonstraram que a média de prevalência de implantes perdidos por peri-implantite foi de 2,8% em relação ao número total de falhas. Berglundh et al. (2002), em uma revisão sistemática, demonstraram que as freqüências de peri-implantites podem variar entre 0 e 14,4%. Em outra revisão sistemática, Pjetursson et al. (2004) demonstraram que a incidência de peri-implantite foi de 8,6% durante cinco anos. Ferreira et al., em 2006, observaram uma prevalência de 8,9% para peri-implantite e 64,6% para mucosite em um grupo de 212 brasileiros parcialmente dentados. Dados divergentes na literatura sobre a prevalência das doenças peri-implantares talvez possam ser explicados pelas diferentes metodologias utilizadas nestes estudos. Alguns estudos epidemiológicos que avaliaram prevalência e incidência consideram a presença de doença e outros, documentaram o número de implantes perdidos por doença. Da mesma maneira, enquanto alguns trabalhos consideram os pacientes com grau mais avançado de doença, outros demonstraram o número de implantes acometidos considerando que um mesmo paciente pode ter na mesma boca, implantes saudáveis e doentes. Além disso, os dados epidemiológicos foram desenvolvidos em diferentes sistemas e superfícies de implantes com critérios clínicos e radiográficos diversos para definir as doenças peri-implantares, bem como consideraram implantes com diversos tempos de prótese em função.

1.2 Perfil microbiológico peri-implantar

Ao longo dos anos, vários estudos observaram as características microbianas ao redor de implantes de titânio doentes e saudáveis, utilizando diferentes técnicas microbiológicas. O objetivo da maioria destes estudos foi avaliar as fontes e o perfil de colonização microbiana peri-implantar e compará-los com a colonização bacteriana da superfície dental (MOMBELLI et al., 1987; PAPAIOANNOU et al., 1995 e QUIRYNEN et al., 2006).

Alguns estudos utilizando cultura microbiana, caracterizaram a colonização bacteriana inicial ao redor de implantes recém-instalados em pacientes dentados (VAN WINKELHOFF et al., 2000) e constataram, já neste momento, a presença de microrganismos associados à doença periodontal, como *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia*. Quirynen et al., em 2006, testaram a hipótese de que a composição do biofilme subgengival em um sulco peri-implantar recém formado poderia em pouco tempo ser comparável a microbiota subgengival dos dentes no mesmo quadrante. Foram realizadas avaliações dos parâmetros clínicos e microbiológicos nos implantes e dentes adjacentes em duas, quatro, treze semanas (todos os pacientes), vinte e seis e setenta e oito semanas em apenas 29 pacientes. As avaliações da microbiota foram realizadas por meio de três diferentes métodos microbiológicos *Checkerboard DNA-DNA hybridization* e/ou cultura e/ou *PCR real-time*. De maneira geral, os resultados demonstraram que, na presença de dentes, uma microbiota subgengival complexa é estabelecida em um sulco peri-implantar recém-formado em menos de duas semanas. Fürst et al., em 2007, utilizando o método *Checkerboard DNA-DNA hybridization*, analisaram a colonização imediatamente após a instalação de implantes em 30 minutos, uma, quatro, oito e doze semanas após a cirurgia. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre o perfil de bactérias encontradas no tempo inicial, uma semana e doze semanas após a colocação dos implantes. Em 12 semanas vinte e nove espécies das quarenta avaliadas foram encontradas ao redor dos implantes, como *Tanarella forsythia*, *Porphyromonas. gingivalis* e *Treponema denticola*.

A principal diferença entre a falha tardia de um implante causado por infecção bacteriana ou sobrecarga oclusal é refletida na composição de sua microbiota. Rosenberg et al., em 1991, dividiram pacientes com implantes comprometidos, utilizando critérios clínicos e radiográficos em: presença de trauma oclusal e presença de peri-implantite sem trauma. Para avaliação microbiológica foram utilizados os métodos de cultura e a microscopia por contraste de fase. Os resultados demonstraram que, quando a etiologia era de origem infecciosa, 42% da microbiota subgengival consistia em *Peptostreptococcus* sp., *Fusobacterium* sp. e bacilos gram-negativos. Além disso, sangramento, supuração e acúmulo visível de biofilme estavam associados a essa infecção bacteriana. Quando a etiologia era a sobre-carga oclusal, a microbiota apresentava maior semelhança com a microbiota relacionada à saúde peri-implantar, composta predominantemente por estreptococos. Clinicamente, havia ausência de sintomatologia dolorosa e supuração.

Alguns estudos compararam após um período ininterrupto de formação de biofilme em animais, as mudanças histológicas e microbiológicas ao redor de dentes e implantes (BERGLUNDH et al., 1992; ABRAHAMSSON et al., 1998). Lindhe et al. (1992), realizaram um estudo para avaliar o efeito das doenças periodontal e peri-implantar após colocação de ligaduras em cães. Os resultados demonstraram que os sinais clínicos e radiográficos da destruição tecidual foram mais pronunciados ao

redor dos implantes, bem como o tamanho da lesão dos tecidos moles. Somente nos implantes as lesões se estenderam até o osso medular. Berglundh et al., em 1992, utilizando cães constataram que durante a formação do biofilme induzido por ligadura, a microbiota ao redor do dente e do implante apresentava uma grande quantidade de periodontopatógenos. Após três meses, permaneciam semelhantes, porém o implante demonstrava uma maior perda de inserção quando comparado ao dente. Outros estudos, utilizando ligadura ao redor dos dentes e implantes para induzir infecção bacteriana em cães, relataram aumento na quantidade de microrganismos patogênicos na mucosite e peri-implantite quando comparado a saúde. De maneira geral, foram observadas altas proporções e frequências de espécies periodontopatogênicas como *P.gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* ssp. Além disso, houve redução nas proporções de *Streptococcus* e outros cocos tanto ao redor do implante quanto do dente e um aumento considerável na proporção de bactérias móveis, espiroquetas e bacilos gram negativos anaeróbios (SCHOU et al., 1993; ERICSSON et al., 1995)

Ong et al., em 1992, estudaram a prevalência e o nível de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* ao redor de implantes de titânio em 19 pacientes. Os pacientes não haviam realizado nenhum tratamento peri-implantar e profilático nos seis meses anteriores, embora tenham sido recomendados a realizar bochechos diários de gluconato de clorexidina a 0,2%. Utilizando a cultura como diagnóstico microbiológico, foi observado que, embora os tecidos peri-implantares fossem saudáveis, em 22 dos 37 sítios avaliados havia uma proporção maior de bactérias que cresceram em condições anaeróbias em relação as que cresceram em condições aeróbias. *A. actinomycetemcomitans* foi encontrado em apenas um sítio, *P. gingivalis* não foi cultivado e o *P. intermedia* estava presente em sete dos sítios estudados.

Pontoriero et al., em 1994, compararam os parâmetros clínicos e microbiológicos durante o desenvolvimento da gengivite e mucosite experimental em humanos. Foram instalados implantes em 20 pacientes e após dois meses da instalação da prótese foi realizado o primeiro exame clínico e microbiológico por meio da microscopia por contraste de fase. Após três semanas de restrição de higiene bucal, os exames foram realizados novamente. O período sem higiene bucal demonstrou uma relação causa-efeito similar entre o acúmulo de biofilme e o desenvolvimento da mucosite, como já havia sido estabelecido pelo modelo de gengivite experimental. (LOË et al., 1965)

Estudos comparativos em humanos entre a microbiota da doença periodontal crônica e da peri-implantite observaram muitas semelhanças entre ambas as doenças. Assim como na periodontite, em geral, a microbiota ao redor de implantes doentes apresenta altos níveis de periodontopatógenos (MOMBELLI et al., 1987; AUGHTHUN e CONRADS, 1997).

Uma das primeiras observações bem características da doença infecciosa peri-implantar foi realizada por Rams et al., em 1984, que avaliaram dezessete implantes sendo quatro deles com

formação de bolsa peri-implantar avançada. Para a avaliação microbiológica, foram utilizadas microscopia por contraste de fase e microscopia eletrônica de transmissão. Observou-se que, enquanto os implantes saudáveis demonstraram um número elevado de cocos, os implantes com doença apresentavam alto número de espiroquetas. A partir de então, muitas outras investigações demonstraram que a microbiota ao redor de implantes com peri-implantite consiste predominantemente em espécies gram-negativas, incluindo *Bacteroides* e *Fusobacterium* spp. (MOMBELLI et al. 1987; LEONHARDT et al. 2003). Tanner et al., em 1997, observaram a presença de outros microrganismos na peri-implantite, como por exemplo, a *T. forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Parvimonas micra* e *Streptococcus intermedius*. Alguns estudos encontraram *A. actinomycetemcomitans* (GEORGE et al., 1994; MOMBELLI et al., 2001), embora Botero et al., em 2005, não detectaram a presença deste microrganismo na peri-implantite.

Papaioannou et al. (1995) estabeleceram uma correlação entre a microbiota subgengival ao redor de um implante saudável em relação aos seus parâmetros clínicos periodontais. Os autores concluíram que entre os parâmetros clínicos avaliados (profundidade de sondagem, sangramento à sondagem, índice de placa e de sangramento gengival) somente a profundidade de sondagem demonstrou uma forte correlação com a patogenicidade da microbiota. Sítios mais profundos continham maior proporção de espiroquetas e bactérias móveis. Similarmente, Quirynen et al. (1996) observaram que a microbiota subgengival ao redor de implantes em pacientes parcialmente edêntulos, mesmo sendo portadores de periodontite crônica se mantinha com baixos níveis de periodontopatógenos enquanto as bolsas fossem inferiores a 4mm.

Leonhardt et al., em 1999, avaliaram as diferenças qualitativas na microbiota subgengival ao redor de implantes do sistema Brånemark® com sinais clínicos e radiográficos de perda dos tecidos de suporte em relação aos implantes com tecidos saudáveis. Utilizando o método de cultura, foi observado que o perfil microbiológico do implante doente é semelhante à doença periodontal, com presença de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *A. actinomycetemcomitans*, além da presença de *Staphylococcus* spp. e *Candida* spp.

Listgarten e Lai, em 1999, compararam a distribuição de periodontopatógenos, por meio de cultura e imunofluorescência indireta em 41 implantes perdidos, 41 dentes com periodontite crônica e 41 dentes com periodontite recorrente. A espécie predominante nos três grupos foi *T. forsythia*. Também foram observadas espécies como espiroquetas, *Fusobacterium* sp., *P. micra* e *P. gingivalis*.

Hultin et al., em 2002, realizaram um estudo no qual 36 indivíduos foram divididos em portadores de implantes saudáveis ou portadores de implantes com peri-implantite. A presença de 12 espécies bacterianas foi avaliada (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *T. denticola*, *P. micra*, *C. rectus*, *Elkeiella corrodens*,

Selenomonas noxia e *Streptococcus intermedia*) ao redor dos implantes por meio do método *Checkerboard DNA-DNA hybridization*. Os resultados microbiológicos demonstraram que *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola* e *A. actinomycetemcomitans* estavam presentes em todos os indivíduos, porém somente nos sítios com peri-implantite estavam em um número superior a 10^6 . Esse nível de *A. actinomycetemcomitans* foi detectado em 23% dos sítios com peri-implantite e não foi encontrado nos implantes saudáveis e nem nos dentes de pacientes portadores de peri-implantite.

Botero et al., em 2005, avaliaram a microbiota subgengival ao redor de implantes e dos dentes de indivíduos parcialmente edêntulos pelo método de cultura e observaram diferenças significativas entre implantes com doenças peri-implantares quando comparados aos saudáveis em relação às espécies gram-negativas. *P. gingivalis* foi observado nos implantes doentes mas não nos saudáveis e a frequência de detecção de *P. intermedia* e *P. nigrescens* foi maior nos implantes doentes. Finalmente, houve uma correlação positiva entre implantes e dentes adjacentes para presença de espécies gram-negativas e para implantes e dentes não-adjacentes para presença de *P. gingivalis*.

1.3 Terapias para as doenças peri-implantares

Considerando a semelhança entre a microbiota peri-implantar e periodontal, assim como para as doenças periodontais, várias terapias foram propostas ao longo dos anos com o objetivo de reduzir o número de espécies patogênicas e melhorar os parâmetros clínicos ao redor de implantes acometidos por doenças peri-implantares (KLINGE et al., 2002; ROOS-JANSACKER et al., 2003). Além das terapias plásticas, que visam à correção de deformidades mucogengivais ao redor dos implantes, as terapias peri-implantares podem ser divididas didaticamente em anti-infecciosas ou regenerativas. Dentre as estratégias anti-infecciosas, diversos métodos têm sido propostos para a desinfecção dos implantes como o condicionamento químico, jato com pó de bicarbonato, curetas de teflon e laser (KLINGE et al., 2002; ROOS-JANSACKER et al., 2003; HAYEK et al., 2005; DEPPE et al., 2007). Esses procedimentos podem ser executados com ou sem acesso cirúrgico, em associação ou não a antimicrobianos locais e/ou sistêmicos (MOMBELLI et al., 1992; MOMBELLI et al., 2001; RENVERT et al., 2006;). Os tratamentos regenerativos, por sua vez, visam o tratamento do defeito ósseo peri-implantar, embora na maioria das vezes estejam associados a algum método anti-infeccioso. Para as estratégias regenerativas são utilizados os enxertos autógenos ou alógenos e as membranas (KLINGE et al., 2002; ROOS-JANSACKER et al., 2003).

1.3.1 Terapias anti-infecciosas para as doenças peri-implantares

A maioria dos estudos conduzidos em animais e em humanos avaliou apenas os resultados clínicos de terapias anti-infecciosas para mucosite e peri-implantite. Um menor número deles avaliou o efeito microbiológico e imunológico destas terapias.

Ericsson et al., em 1996, realizaram um estudo em cães para avaliar o efeito do antibiótico sistêmico e do debridamento local como tratamento para lesões peri-implantares induzidas experimentalmente. Por meio da microscopia ótica, observaram que terapia antimicrobiana sistêmica combinada com a desinfecção do implante, curetagem do defeito ósseo e controle do biofilme, resultou na resolução do processo inflamatório peri-implantar, com uma significativa recessão da mucosa marginal e uma leve re-integração óssea peri-implantar.

Shibli et al., em 2003, avaliaram, por meio do método de cultura, a efetividade da terapia fotosensibilizadora na microbiota da peri-implantite induzida em cães. Os autores observaram redução nos níveis de *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *Fusobacterium ssp.* e *Streptococcus* β -hemolíticos com a terapia utilizada.

Hayek et al., em 2005, também realizaram um estudo comparativo, em cães, entre a terapia fotodinâmica e a remoção mecânica do biofilme realizada por cirurgia a retalho associada à irrigação de clorexidina a 0,12%, na redução microbiana ao redor de implantes com peri-implantite por meio de microscopia eletrônica. Os resultados demonstraram redução na quantidade de *Prevotella sp.*, *Fusobacterium sp.* e *Streptococcus* β -hemolíticos nos dois grupos, não havendo diferença entre os tratamentos.

Mombelli e Lang, em 1992, realizaram avaliação clínica e microbiológica por meio de cultura em nove pacientes com bolsas peri-implantares acima de 5 mm. Como terapia anti-infecciosa, foi realizada a associação do debridamento mecânico, clorexidina local (0,5%) e terapia antibiótica sistêmica (ornidazol 1000mg por 10 dias). Após um ano de observação, constatou-se uma redução significativa nos índices de sangramento e na profundidade de sondagem. Os parâmetros microbiológicos indicaram uma melhora qualitativa e quantitativa imediatamente após o tratamento, porém após um ano esses parâmetros tenderam a voltar à condição pré-tratamento.

Porras et al., em 2002, avaliaram duas terapias para mucosite utilizando parâmetros clínicos e microbiológicos. Foram selecionados 16 indivíduos que receberam tratamento mecânico, que consistia no debridamento do biofilme e polimento com taça de borracha e pasta profilática associado ou não à irrigação de clorexidina a 0,12% no momento do tratamento. Após três meses, foi observado que os

dois tratamentos apresentaram benefícios clínicos e microbiológicos, reduzindo significativamente o nível de periodontopatógenos.

Mombelli et al., em 2001, avaliaram clínica e microbiologicamente (microscopia de campo escuro e cultura) o efeito do debridamento do implante sem acesso cirúrgico associado às fibras de tetraciclina local (Actisite®) em lesões de peri-implantite. O tratamento resultou em uma redução da profundidade de sondagem e sangramento à sondagem, sem induzir uma significativa recessão da mucosa peri-implantar. Esses resultados clínicos foram mantidos por 12 meses. Além disso, durante seis meses houve redução significativa do número de patógenos e na frequência de detecção de *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *Fusobacterium* sp., *T. forsythia* e *C. rectus*.

Leonhardt et al., em 2003, avaliaram o efeito da terapia cirúrgica e antimicrobiana para peri-implantite, por meio de uma avaliação radiográfica e microbiológica. O antibiótico foi selecionado de acordo com análise microbiológica. Durante sete anos, sete implantes foram perdidos, enquanto 58% dos implantes tratados obtiveram sucesso. Quatro implantes continuaram perdendo osso e seis apresentaram um ganho ósseo. Utilizando o meio de cultura, após 5 anos não foi observada a presença de *A. actinomycetemcomitans* em nenhum dos pacientes. Entretanto, o número de pacientes com *P. intermedia* e *P. nigrescens* aumentou. A espécie *P. gingivalis* foi observada em apenas um paciente no tempo inicial e novamente em um paciente cinco anos após o tratamento.

Romeo et al., em 2005, desenvolveram um estudo clínico randomizado para avaliar a estabilidade de implantes de titânio, de superfície jateada com plasma titânio portadores de peri-implantite tratados com acesso cirúrgico juntamente com a implantoplastia (alisamento da superfície do implante) ou somente acesso cirúrgico. Todos os pacientes receberam antibioticoterapia e durante a cirurgia, gel de metronidazol sobre a superfície dos implantes. Os implantes que receberam tratamento cirúrgico com implantoplastia obtiveram melhores resultados clínicos quando comparados aos implantes que receberam somente cirurgia ao longo de três anos.

Karring et al., em 2005 avaliaram, por meio de parâmetros clínicos e radiográficos, a efetividade do tratamento da peri-implantite com um dispositivo ultra-sônico (sistema Vector®) acoplado à pontas de teflon quando comparado ao debridamento subgingival com curetas de fibras de carbono em um desenho de “boca dividida”. Foi observado que, durante seis meses, não houve redução significativa da profundidade de sondagem, nem ganho ósseo em nenhum dos métodos utilizados. O grupo do ultrassom reduziu o sangramento à sondagem em 4 dos 11 implantes avaliados, enquanto o grupo do debridamento reduziu em apenas 1 implante do grupo controle. Porém, não houve diferenças significativas entre os dois tratamentos.

Vitussi em 2006, realizaram uma avaliação clínica e microbiológica pelo método *Checkerboard DNA-DNA hybridization* em lesões de peri-implantite tratadas com debridamento não-cirúrgico

associado ao metronidazol (400mg 3x/dia por 14 dias) e amoxicilina (500mg 3x/dia por 14 dias) sistêmicos, comparado ao debridamento mecânico não-cirúrgico. Ambas as terapias reduziram significativamente os níveis dos microrganismos periodontopatogênicos, embora somente o grupo teste tenha conseguido manter esses níveis em 90 dias. Apesar da observação de uma melhora clínica que se manteve durante todo o período avaliado, na comparação entre os grupos, não houve diferenças relevantes entre os grupos. .

Persson et al., em 2006, avaliaram por 12 meses o efeito microbiológico, por meio do *Checkerboard DNA-DNA hybridization*, de microesferas de minociclina local (Arestin®) em lesões de peri-implantite previamente tratadas com debridamento mecânico não-cirúrgico, profilaxia e gel de clorexidina (0,2%). Re-administrações da minociclina foram realizadas em 180 e 270 dias após a primeira aplicação em alguns casos. Os resultados demonstraram que o efeito deste tratamento foi superior para o *A. actinomycetemcomitans*, embora baixos níveis de *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* também tinham sido observados por mais de 180 dias.

Renvert et al., em 2006, desenvolveram um estudo clínico randomizado para avaliar durante um ano, resultados clínicos e microbiológicos de dois tratamentos para peri-implantite. Um deles consistia na eliminação do biofilme (tratamento não-cirúrgico) e aplicação tópica de minociclina (Arestin®) (grupo 1) e o outro na eliminação do biofilme em campo fechado associado à aplicação tópica de clorexidina a 1% (grupo 2). Utilizando os métodos microbiológicos *Checkerboard DNA-DNA hybridization* e cultura, foram observados efeitos longitudinais similares dos dois agentes antimicrobianos para todas as espécies bacterianas investigadas (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *T. denticola*, *P. micra*, *C. rectus*, *E. corrodens*, *S. noxia* e *S. intermedius*). Os valores médios bacterianos que estavam altos no tempo inicial foram decrescendo gradualmente até o 12º mês. Clinicamente, em 12 meses a média de placa visível foi reduzida em 27% e 21% nos grupos 1 e 2 respectivamente, a profundidade de sondagem se manteve a mesma no grupo 2 e reduziu para uma média de 3,6mm no grupo 1. O grupo 1 também apresentou uma maior redução do sangramento à sondagem.

Salvi et al., em 2007, avaliaram, em 1 ano, os efeitos clínicos e radiográficos da raspagem não-cirúrgica em associação à microesferas de minociclina (Arestin®) para o tratamento da peri-implantite em 31 implantes. Seis implantes persistiram com infecção peri-implantar sendo excluídos do trabalho pois receberam raspagem adicional com campo aberto e três implantes receberam retratamento com Arestin® após 180 e 270 dias. Entre o tempo inicial e um ano, todos os implantes que restaram apresentaram uma significativa redução da profundidade de bolsa e no sangramento à sondagem.

Dando continuidade ao estudo publicado em 2005, Romeo et al. (2007) apresentaram os dados radiográficos do estudo anterior. Os autores concluíram que no grupo teste não houve diferença na

média do nível ósseo entre o tempo inicial e três anos pós-terapia; entretanto, no grupo controle houve uma perda de tecido ósseo. Assim, a presença de implantoplastia apresentou efeitos positivos superiores a ausência da mesma em nível radiográfico.

1.4 Justificativa

Os implantes dentais têm sido fortemente introduzidos na clínica odontológica para reabilitação de pacientes edêntulos. Com o aumento da procura por esses dispositivos, tem sido observado uma grande evolução científica no que diz respeito à anatomia e superfície dos implantes com objetivo de reduzir o tempo de colocação de carga bem como nos componentes protéticos para melhorar a mecânica das próteses sobre implantes.

Entretanto, embora atualmente já esteja bem estabelecido o caráter infeccioso das doenças peri-implantares, pouco avanço científico foi observado em relação às terapias para as mesmas. Após revisão da literatura, observa-se que os tratamentos propostos são combinações aleatórias de terapias, sem grupos controles e com pequeno número de casos. Além disso, uma pequena parcela deles apresenta os dados clínicos associados ao perfil microbiológico antes e após a terapia sugerida.

Considerando que, com o aumento da colocação de implantes, a prevalência das doenças peri-implantares tende a aumentar nos próximos anos, propostas terapêuticas para a mucosite e peri-implantite com respaldo clínico e microbiológico serão muito importantes para uma tentativa de manutenção dos implantes acometidos por essas infecções.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil clínico e microbiológico por meio da técnica *Checkerboard DNA-DNA hybridization* de sítios com doenças peri-implantares (mucosite ou peri-implantite) antes e após terapia mecânica anti-infecciosa, comparativamente aos implantes saudáveis.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos

Foram selecionados 35 indivíduos, do gênero masculino ou feminino, total ou parcialmente edêntulos, portadores de pelo menos um implante osseointegrado do sistema Brånemark® de superfície usinada e sextavado externo com prótese em função à pelo menos doze meses. Os mesmos foram selecionados após avaliação de 224 indivíduos num total de 538 implantes nas clínicas de odontologia da Universidade Guarulhos (UnG), Associação Brasileira de Ensino Odontológico – São Paulo (ABENO) e Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-UNICAMP), no período de março de 2006 a maio de 2007. Foram excluídos os indivíduos fumantes, grávidas, lactantes, bem como os que apresentassem doenças sistêmicas (diabetes melito, osteoporose, desordens imunes, hepatite, etc). Foram excluídos também os sujeitos que tivessem recebido qualquer tratamento para peri-implantite ou medicamentos (antibióticos, antiinflamatórios ou hormônios) que pudessem interferir no curso da peri-implantite durante os seis meses anteriores ao estudo. Condições sistêmicas que contra-indicassem os procedimentos cirúrgicos odontológicos também foram consideradas situações de exclusão. Foram incluídos apenas indivíduos periodontalmente saudáveis ou que estivessem em terapia periodontal de manutenção.

Este estudo foi executado de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, após aprovação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Guarulhos (ANEXO A). Todos os indivíduos foram informados quanto aos objetivos e as características do trabalho. Após o esclarecimento verbal e por escrito, aqueles que estiveram de acordo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes do início das coletas e tratamentos.

3.2 Avaliações clínicas

Os seguintes parâmetros clínicos foram realizados em seis sítios ao redor de todo o implante e dentes (mesiovestibular, médiovestibular, disto-vestibular, mesiolingual, médiolingual, distolingual),

utilizando uma sonda milimetrada (Carolina do Norte, Hu-Friedy Co, Chicago, IL), por um mesmo examinador treinado e calibrado.

Índice de Placa Visível (IPV):

Com os implantes/dentes previamente secos, os valores foram atribuídos de forma dicotômica, sendo (0) ausência e (1) presença de depósitos de biofilme na região adjacente ao tecido gengival ou da mucosa do implante/dente (AINAMO e BAY, 1975).

Índice de Sangramento Gengival (ISG):

Presença ou ausência de sangramento da gengival ou mucosa marginal após percorrer levemente o sulco/bolsa peri-implantar com a sonda periodontal, ausência de sangramento recebeu o escore 0 e a presença de sangramento recebeu escore 1 (AINAMO e BAY, 1975).

Índice de Sangramento à Sondagem (SS):

O sangramento após a sondagem até a base do sulco/bolsa periodontal e peri-implantar foi verificado com a utilização da sonda milimetrada. O mesmo foi um registro dicotômico onde (1) representou presença de sangramento visível em 15 segundos após sondagem e (0) ausência de sangramento neste mesmo período.

Profundidade de sondagem (PS):

Essa medida foi obtida pela distância da margem gengival ou da mucosa ao fundo da bolsa ou sulco peri-implantar/periodontal, em mm.

Nível de inserção clínico relativo (NICr):

Uma vez que o implante não apresenta junção cimento-esmalte como o dente, foi obtido um nível de inserção clínico relativo (NICr). O NICr foi obtido a partir de um guia de sondagem (stent) ou um ponto de referência na prótese sobre implante (barra, pilar) até o ponto mais apical da bolsa/sulco peri-implantar por meio de uma sonda periodontal. Em caso da utilização do stent o mesmo foi confeccionado em resina acrílica auto-polimerizável a partir de modelos em gesso obtidos previamente por meio de moldagem com alginato.

Supuração (SUP):

Presença ou ausência de supuração espontânea ou após sondagem do sulco/bolsa peri-implantar ou periodontal, onde a ausência recebeu o escore 0 e a presença recebeu escore 1.

Nível clínico de inserção (NIC):

Essa medida foi obtida pela distância da junção amelo-cementária ao fundo do sulco/bolsa periodontal, em mm.

3.3 Calibração do examinador

Apenas um examinador executou todos os exames clínicos, sendo assim, apenas uma calibração intra-examinador foi executada no começo do estudo para as medidas ao redor dos implantes e dentes. Dez indivíduos com peri-implantite e dez indivíduos com periodontite foram recrutados para o exercício de calibração. O examinador executou todas as mensurações clínicas nos implantes e dentes e as mesmas avaliações foram repetidas 60 minutos depois. Em seguida, as variações intra-examinador para as medidas de profundidade de sondagem e nível de inserção clínica foram determinadas baseadas no erro padrão da medida, conforme descrito por Araújo et al., 2003. A variação intra-examinador foi de 0,14mm para profundidade de sondagem (PS) dental e 0,16mm para o nível de inserção clínica dental (NIC). Para o NIC e PS ao redor dos implantes a variação intra-examinador foi de 0,08mm. Os parâmetros clínicos medidos de forma dicotômica (sangramento gengival, sangramento à sondagem e supuração) foram calculados pelo teste Kappa-Light. A concordância intra-examinador foi de >0,85.

3.4 Diagnóstico do implante

Foram incluídos implantes do tipo Brånemark® de superfícies usinadas em função a mais de doze meses que após exames clínicos e radiográficos (radiografias periapicais pela técnica do paralelismo e posicionador) obtivessem um dos seguintes diagnósticos: **SAÚDE** - ausência de sangramento à sondagem, sangramento marginal e supuração; ausência de perda óssea radiográfica; **MUCOSITE** - sangramento à sondagem e/ou marginal, de perda óssea radiográfica; **PERI-IMPLANTITE** - sangramento à sondagem e/ou supuração, bolsa peri-implantar ≥ 5 mm, perda óssea radiográfica envolvendo no mínimo 3 roscas e até 50% do comprimento do implante. (MONBELLI e LANG, 1998; LEONHARDT et al., 2003). Foram excluídos os implantes cuja informação sobre o sistema e tempo de carga não estivessem claras nas fichas dos pacientes, bem como aqueles que o formato da prótese impedisse o exame clínico. Implantes com próteses desadaptadas foram excluídos desde que o ajuste da mesma fosse impossibilitado. Se um paciente tivesse mais de um implante, foi incluído o implante com pior diagnóstico entre peri-implantite, mucosite e saúde. Todos os implantes com mesmo diagnóstico em um dado paciente poderiam ser incluídos.

3.5 Preparo inicial

Todos os indivíduos dentados foram submetidos a um exame periodontal dos dentes remanescentes, incluindo profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, sangramento marginal e à sondagem e índice de placa visível. Em seguida, foram submetidos a um preparo inicial no qual receberam instruções de higiene bucal e raspagens dentais supragengivais e subgengivais, quando necessárias. Para os indivíduos que necessitaram de raspagem subgengival (3 indivíduos), a terapia peri-implantar foi realizada em 3 meses após a raspagem. Para os demais, a adequação foi feita entre 1 e 2 semanas antes do tratamento peri-implantar. Além disso, as próteses sobre implantes com parafusos soltos foram ajustadas no início do estudo. Os indivíduos foram instruídos a utilizarem escova convencional macia ou extra-macia de cabeça pequena pela técnica de Bass e, de acordo com o tipo de prótese sobre os implantes (barra, prótese fixa, prótese unitária, etc), escovas bitufo, interdental e/ou fita dental.

3.6 Delineamento do estudo

Foi realizado um estudo clínico prospectivo e longitudinal no qual os implantes dentais osseointegrados com diferentes diagnósticos clínicos (saúde, mucosite ou peri-implantite) receberam uma terapia mecânica anti-infecciosa direcionada para cada grupo experimental.

Todos os sujeitos foram examinados clínica e radiograficamente, por um único examinador treinado e calibrado no início do estudo (dia 0) e 90 dias após os tratamentos. Nesses mesmos períodos experimentais, foi realizada coleta de biofilme subgengival para avaliação microbiológica por meio do teste *Checkerboard DNA-DNA hybridization*.

3.7 Terapias mecânicas anti-infecciosas

Conforme descrito acima, todos os indivíduos da pesquisa receberam orientação de higiene bucal e remoção de cálculo supra e subgengival antes de serem submetidos aos tratamentos (preparo

inicial). Em seguida, de acordo com o diagnóstico inicial, as seguintes terapias foram propostas para os implantes doentes:

Mucosite:

Os sujeitos portadores de mucosite receberam debridamento do sulco peri-implantar com curetas de teflon (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL e Straumann, Villeret, Switzerland) sem ou com uso de anestésico (lidocaína a 2% e 1:00000 de adrenalina), profilaxia profissional com jato de bicarbonato, instrução de higiene ao redor do implante e remoção de excessos de próteses quando necessárias.

Peri-implantite:

Os portadores de peri-implantite receberam acesso cirúrgico para a descontaminação da superfície do implante com jato de bicarbonato e curetas de teflon (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL e Straumann, Villeret, Switzerland) (Figuras 1A – 1F). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo mesmo operador. Todos os indivíduos deste grupo receberam dose única de dexametasona (4mg) e dose única 1g de amoxicilina uma hora antes do procedimento cirúrgico, conforme preconizado por Andrade (1998). A dose única de antibiótico consistia em um regime profilático uma vez que a região incisada apresentava infecção e o jato de bicarbonato seria aplicado no implante com acesso cirúrgico. Os mesmos foram submetidos a uma anti-sepsia extra-oral com solução de clorexidina a 2% e intra-oral com bochecho de solução de clorexidina a 0,12%. A região operada foi anestesiada com uma solução de lidocaína a 2% e 1:100000 de adrenalina.

Uma incisão intra-sulcular foi realizada uma com lâmina de bisturi nº 15 ao redor do implante doente, conservando as papilas adjacentes. Incisões relaxantes horizontais estendendo-se pelos dentes ou implantes adjacentes foram realizadas nas terminações mesial e distal. Um retalho total foi realizado para acesso ao tecido ósseo peri-implantar. Após a remoção do tecido de granulação e exposição total das roscas, as mesmas foram descontaminadas com curetas de teflon (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL e Straumann, Villeret, Switzerland) e jato de bicarbonato (Jet Sonic, Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Todos esses procedimentos foram realizados sob irrigação local com solução de soro fisiológico estéril a 9%. O retalho foi colocado em sua posição original e estabilizado com suturas simples por meio de fio de nylon 5-0 (Nylon 5-0, Ethicon Inc. Johnson & Johnson Company, Somerville, NJ, EUA). Com o objetivo de minimizar a sintomatologia dolorosa, os indivíduos receberam analgésicos (Paracetamol 750mg, um comprimido a cada 6 horas, por 48 horas). Os mesmos foram instruídos a bochecharem 15ml de uma solução de clorexidina a 0,12%, de 12 em 12 horas, por um minuto durante sete dias para evitar infecção da área operada. Sutures foram removidas em no máximo 15 dias.

Os indivíduos com saúde receberam apenas a instrução de higiene bucal com o objetivo de manter esta condição no decorrer do experimento. Este grupo foi utilizado como um controle para comparação clínica e microbiológica entre os grupos.

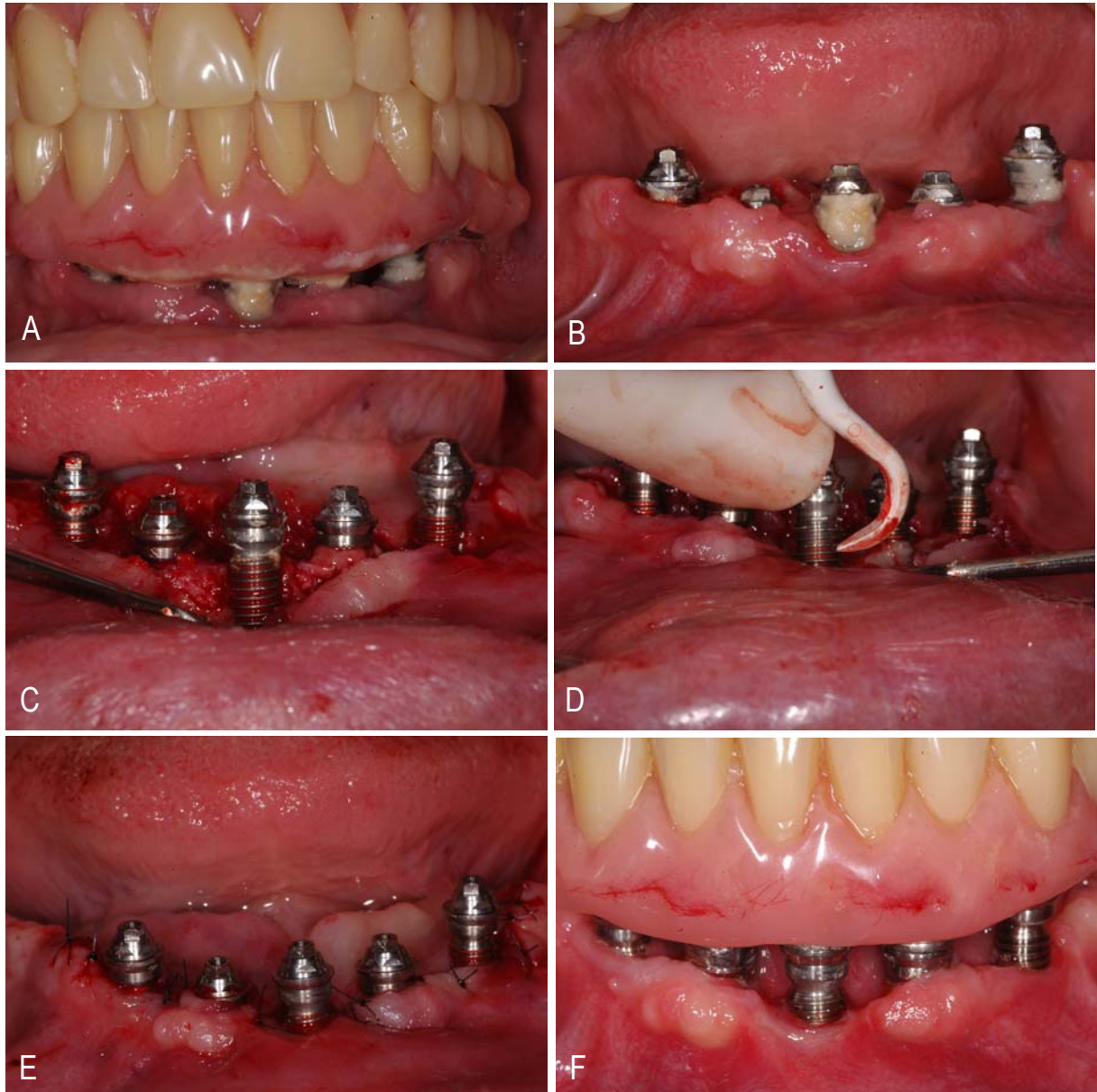


Figura 1: A- Aspecto clínico inicial de implantes com peri-implantite; B- Aspecto clínico inicial de implantes com peri-implantite após a remoção da prótese fixa; C- Retalho de espessura total para acesso à superfície dos implantes; D- Descontaminação do implante com cureta de teflon; E- Aspecto dos implantes após suturas simples interrompidas, imediatamente após a cirurgia; F- Aspecto dos implantes 3 meses após a terapia.

3.8 Avaliação microbiológica

3.8.1 Seleção dos sítios de coleta (sítios-teste)

Após exame clínico e radiográfico ao redor de todo implante, foi selecionado o sítio mais profundo para a realização da coleta de biofilme para a análise microbiológica. Nos casos em que dois ou mais sítios apresentaram a mesma profundidade de sondagem, o sítio-teste foi escolhido pela seguinte ordem: médio, mesial, distal/ vestibular e médio, mesial, distal/ lingual ou palatino.

3.8.2 Coleta das amostras de biofilme

Amostras de biofilme subgingival dos sítios selecionados foram coletadas por meio de curetas de Gracey do tipo mini-five (Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL) posicionadas na porção mais apical, com um único golpe. As amostras foram acondicionadas em tubos de polipropileno de 1,5 ml contendo 0,15 ml de solução tampão TE (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7,6). A cada tubo de polipropileno, contendo a amostra de placa subgingival, foi adicionado 0,10ml de 0.5 M NaOH e imediatamente congelado a -20°C.

3.8.3 *Checkerboard DNA-DNA hybridization*

A identificação dos microrganismos presentes no biofilme subgingival dos sítios selecionados foi realizada por meio da técnica do *Checkerboard DNA-DNA hybridization*, descrita por Socransky et al. (1994). As suspensões de biofilme em NaOH foram fervidas em banho-maria por 10 minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de 5 M de acetato de amônia. Com isso, as células bacterianas foram lisadas e o DNA ficou suspenso na solução. Cada suspensão de placa contendo DNA livre foi depositada nas fendas do *Minislot 30* (Immunelectrics, Cambridge, MA, USA) e o DNA foi concentrado na membrana de nylon (15 X 15 cm) com carga positiva (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra). As duas últimas canaletas do *Minislot 30* (Immunelectrics) foram

ocupadas por controles contendo uma mistura do DNA das espécies de microrganismos investigadas pelas sondas, nas concentrações correspondentes 10^5 e 10^6 células, ou seja, 1 ng e 10 ng de DNA de cada espécie, respectivamente (SOCRANSKY et al., 1994; HAFFAJEE et al., 1997a, b). A membrana foi removida do aparato e o DNA depositado na membrana foi então fixado na mesma pelo aquecimento em forno a 120°C por 20 min.

3.8.4 Hibridação das amostras com as sondas de DNA

Após fixação do DNA nas membranas, essas foram pré-hibridizadas a 42°C por 1 hora numa solução de 50% formamida, 1% caseína (Sigma), 5 X tampão salina citrato – SSC (1 x SSC = 150mM NaCL, 15 mM de citrato de sódio, pH 7,0), 25 mM de fosfato de sódio (pH 6,5) (Na_2HPO_4 , Labsynth) e 0.5 mg/ml de RNA de levedura (Sigma). Em seguida, cada membrana foi colocada sob a placa acrílica do *Miniblotter 45* (Immunetics, Cambridge, MA, USA) com as linhas contendo o DNA fixado perpendiculares as canaletas do *Miniblotter 45*. O *Miniblotter 45* contém 45 canaletas que servem cada uma para a colocação de uma sonda de DNA.

3.8.5 Sondas de DNA

Foram usadas neste estudo sondas de DNA específicas para 40 espécies, selecionadas devido à sua associação com diferentes tipos de doenças e saúde periodontais (SOCRANSKY et al., 1998). Anteriormente ao seu uso, as sondas foram testadas com uma mistura controle contendo as espécies investigadas, numa concentração de 10^4 células bacterianas. Suas concentrações foram ajustadas de tal modo que a intensidade dos sinais de todas as sondas fosse semelhante. Cada canaleta do *Miniblotter 45* foi preenchida com 130 μl de uma determinada sonda, contida numa solução de hibridização (45% 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, 1% caseína (Sigma) diluída a aproximadamente 20 ng/ml de sonda de DNA). As sondas hibridizaram perpendicularmente às linhas contendo o DNA bacteriano fixado, propiciando um formato de xadrez com as linhas de DNA, horizontais, e as sondas, verticais. O aparato contendo as membranas foi colocado dentro de um saco

plástico para evitar a desidratação das mesmas. A hibridização das membranas com as sondas ocorreu a 42°C, durante um período mínimo de 20 horas.

3.8.6 Detecção das espécies

Após hibridização com as sondas, as membranas foram removidas do *Miniblotter 45* (Immunetics) e lavadas por 40 minutos, a 65°C, numa solução estrigente (1% de SDS, 1 mM de EDTA e 20 mM de Na₂HPO₄), a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, as membranas foram imersas por 1 hora numa solução contendo 1% M ácido maleico (C₄H₄O₄), 3 M NaCl, 0,2 M NaOH, 0,3% Tween 20, 0,5% caseína, pH 8,0, e por 30 minutos na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenin conjugado à fosfatase alcalina numa concentração de 1:10.000. As membranas foram, então, lavadas com uma solução de 0.1 M ácido maleico, 3 M NaCl, 0.2 M NaOH, 0.3% Tween 20, pH 8.0, 1 vez por 5 minutos em 0.1 M Tris HCl, 0.1 Na Cl, 50 mM MgCl₂, pH 9.5. Em seguida, as membranas foram incubadas em uma solução detectora a base de fosfatase alcalina, CDP-Star™ *Detection Reagent* (Amersham Biosciences UK Limited, Buckinghamshire, Inglaterra), por 45 minutos a 37°C. Finalmente, as membranas foram colocadas num cassete sob um filme radiográfico (KodaK X-OMAT) por aproximadamente 40 minutos, e os filmes revelados logo em seguida de acordo com orientações do fabricante. As 40 cepas de referência usadas para confecção das sondas de DNA estão presentes na Tabela 1, distribuídas de acordo com os complexos microbianos descritos por Socransky et al. (1998). A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado, da seguinte forma: cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de placa 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. Estes registros foram posteriormente utilizados para determinar as proporções das diferentes espécies, expressos em nível médio das espécies em cada sítio em relação a uma quantidade total das 40 bactérias estudadas.

Tabela 1: Cepas, subdivididas em complexos microbianos (SOCRANSKY et al., 1998), utilizadas para a confecção das sondas de DNA.

Espécies	Cepas	Espécies	Cepas
Complexo Azul		Complexo laranja	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860 ^a	<i>Eubacterium nodatum</i>	33099 ^a
<i>Actinomyces israelii</i>	12102 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss. <i>nucleatum</i>	25586 ^a
<i>Actinomyces naeslundii</i> sp.1	12104 ^a	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss. <i>polymorphum</i>	10953 ^a
<i>Actinomyces naeslundii</i> sp. 2	43146 ^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>Parvimonas micra</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>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> a+b	43718/29523 ^a	<i>Eubacterium saburreum</i>	33271 ^a
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624 ^a	<i>Gemella morbillorum</i>	27824 ^a
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596 ^a	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201 ^a
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612 ^a	<i>Prevotella melaninogenica</i> I +II	25845 ^a
<i>Eikenella corrodens</i>	23834 ^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>	51146 ^a	<i>Neisseria mucosa</i>	19696 ^a

^a ATCC (American Type Culture Collection)

^b Forsyth Institute

3.9 Análises estatísticas

Os dados foram analisados utilizando um programa de computador denominado BioEstat 3.0, Sociedade Civil Mimirauá, CNPq, BR. O nível de significância estabelecido para todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$). As análises dos dados clínicos foram realizadas em nível do implante, dente e do sítio teste apenas para a profundidade de sondagem. As médias dos seis sítios de cada parâmetro clínico foram obtidas para cada implante antes e 90 dias após os tratamentos e para os dentes, no tempo inicial. Primeiro, o teste Kolmogorov-Smirnov foi usado para avaliar a normalidade dos dados. Após verificação da não-normalidade dos dados, para análise intra-grupos, foi realizado o teste de Wilcoxon para avaliar mudanças no IPV, ISG, SS, SUP e PS durante os tempos experimentais. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis na avaliação inter-grupos para comparar IPV, ISG, SS, SUP e PS entre as diferentes condições peri-implantares (saúde, mucosite e peri-implantite) em cada um dos tempos experimentais. A idade dos pacientes e o tempo de carga dos implantes foram submetidos à ANOVA.

Para os dados microbiológicos, a proporção de cada espécie foi determinada para cada sítio e avaliada entre cada grupo experimental no tempo inicial e 90 dias após os tratamentos. As diferenças significativas nas proporções das espécies bacterianas entre o tempo inicial e pós-terapias na média de proporção de cada espécie foram determinadas utilizando o teste de Wilcoxon. As diferenças nas proporções bacterianas entre os três grupos foram avaliadas utilizando o teste Kruskal-Wallis no tempo inicial e em três meses pós-terapias. Em seguida, os dados foram organizados por complexos microbianos descritos por Socransky et al. (1998) e os mesmos testes descritos para comparação de cada espécie individualmente foram utilizados para análises intra e inter-grupos dos complexos bacterianos. Finalmente, as contagens totais das espécies bacterianas em cada grupo experimental foram também comparadas pelos testes de Wilcoxon (intra-grupo) e Kruskal-Wallis (inter-grupos).

4 RESULTADOS

4.1 Resultados clínicos

O estudo abrangeu uma população de 35 indivíduos, 15 homens e 20 mulheres (média de idade $53,4 \pm 16,2$ anos). Após três meses, nenhum indivíduo foi excluído por fazer uso de antibiótico, ter sofrido tratamento do implante ou por outro fator de exclusão. Um total de 47 implantes (média de tempo de carga $4,8 \pm 1,9$ anos) foi avaliado no tempo inicial e após 90 dias. Não houve diferença no tempo de carga protética entre as diferentes condições peri-implantares. Descrições clínicas e demográficas da população estudada no tempo inicial para cada grupo estão presentes na tabela 2.

As tabelas 3 e 4 resumem, respectivamente, os dados clínicos relacionados à média dos seis sítios do implante (implante) e somente ao sítio teste (sítio teste), antes e após terapias para as diferentes condições peri-implantares. No tempo inicial os IPV, ISG e SS foram estatisticamente mais elevados ao redor dos implantes doentes (mucosite e peri-implantite) quando comparados aos implantes saudáveis ($p < 0,05$). O grupo da peri-implantite apresentou a maior profundidade de sondagem ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos. Três meses após as terapias, IPV, ISG, SS e PS mantiveram os mesmos níveis na saúde, enquanto foram reduzidos na mucosite e na peri-implantite ($p < 0,05$). A média de supuração foi significativamente reduzida para os implantes que inicialmente apresentavam peri-implantite ($p < 0,05$). Apesar da significativa melhora clínica após o tratamento peri-implantar quando comparado à condição inicial dos implantes doentes, somente SUP e PS dos implantes com peri-implantite foi similar ao implante saudável em 90 dias ($p < 0,05$). Após o tratamento, os implantes com mucosite apresentaram IPV e PS similares aos da saúde peri-implantar ($p < 0,05$), mas ISG e SS não se igualaram a média dos implantes saudáveis ($p > 0,05$). A média da redução das profundidades de sondagem e o ganho no nível clínico de inserção para saúde, mucosite e peri-implantite considerando todo o implante está representado no gráfico 1 .

Cinco implantes com peri-implantite continuaram com profundidades de sondagem ≥ 5 mm após o tratamento; onze deles permaneceram com sangramento à sondagem em pelo menos três dos seus sítios e sete com sangramento marginal em pelo menos três dos seus sítios. Apenas um implante continuou com supuração em 90 dias pós-terapia. Considerando os implantes com mucosite, apenas um implante continuou com sangramento marginal em pelo menos três dos sítios após o tratamento e quatro deles com sangramento à sondagem. Nenhum caso de enfisema subcutâneo devido à presença

de ar nos tecidos intersticiais foi observado nesse estudo após a aplicação de jato de bicarbonato. Neste momento, implantes que apresentaram sinais de supuração e/ou sangramento, receberam novamente descontaminação com cureta de teflon e jato de bicarbonato sem acesso cirúrgico.

Tabela 2. Descrição das características clínicas e demográficas da população estudada.

Características	Saúde	Mucosite	Peri-implantite
Número de pacientes	10	12	13
Idade (média \pm DP anos)	49,1 \pm 11,6	55,8 \pm 17	55,8 \pm 14,4
Gênero (F: feminino/ M: masculino)	F 6 / M 4	F 8 / M 4	F 6 / M 7
Número de implantes tratados	11	16	20
Totalmente edêntulos	2	4	5
Parcialmente edêntulos	8	8	8
Índice de placa dental (% média \pm DP) dos dentes remanescentes	5,8 \pm 10,3	11,4 \pm 15,9	24,8 \pm 4,9
Índice de sangramento gengival dos dentes remanescentes (% média \pm DP)	6,2 \pm 8,4	6,1 \pm 12,9	16,6 \pm 10,3
Índice de sangramento à sondagem dos dentes remanescentes (% média \pm DP)	4,4 \pm 8,7	6,0 \pm 13,0	18,5 \pm 7,0
Profundidade de sondagem dos dentes remanescentes (mm) (média \pm DP)	2,0 \pm 0,4	2,1 \pm 0,3	2,0 \pm 0,5
Nível clínico de inserção dos dentes remanescentes (mm) (média \pm DP)	2,5 \pm 0,7	2,3 \pm 0,3	3,1 \pm 1,1
Tempo de carga (média \pm DP anos)	3,9 \pm 1,6	5,2 \pm 2,4	4,9 \pm 1,8

Não houve diferenças significativas entre os grupos no dia 0 pelo teste de Kruskal Wallis e ANOVA.

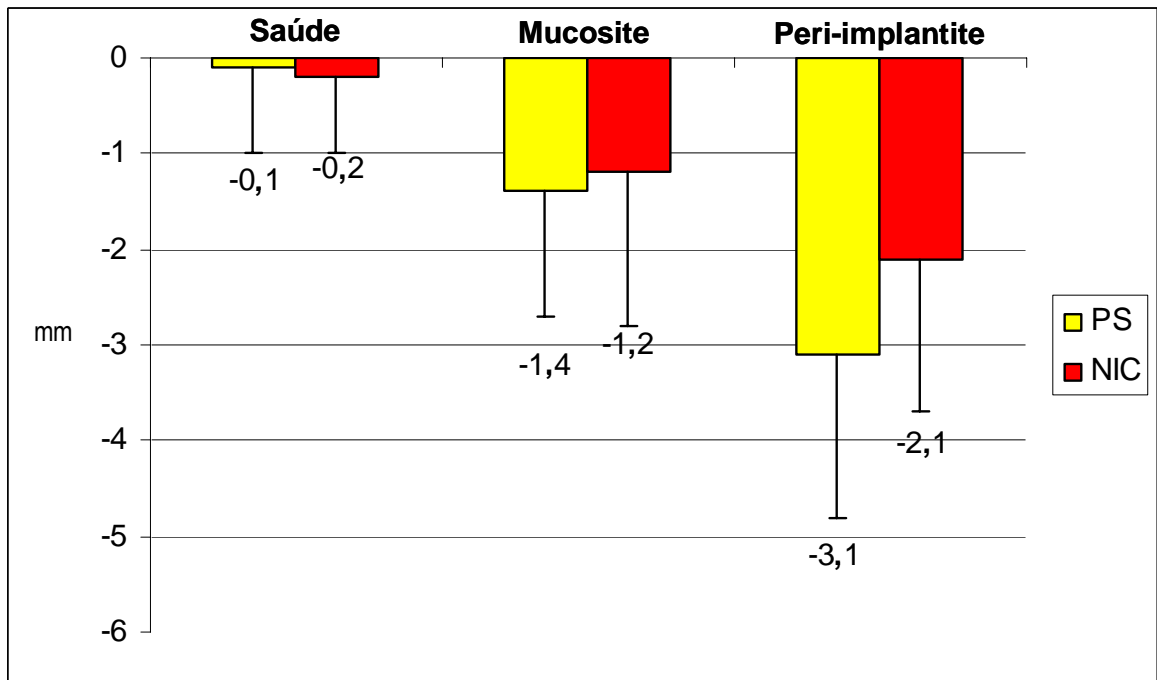


GRÁFICO 1 – Médias e desvios padrão da redução da profundidade de sondagem e ganho clínico de inserção para a saúde, mucosite e peri-implantite considerando os seis sítios do implante em 90 dias após a terapia.

Tabela 3. Parâmetros clínicos ao redor de todo implante (média dos seis sítios) antes e após os tratamentos para os implantes saudáveis, com mucosite ou peri-implantite. Médias e desvios padrão (\pm DP) da porcentagem de placa (IPV), sangramento marginal gengival (ISG), sangramento à sondagem (SS) e supuração (SUP) e da profundidade de sondagem (PS), em milímetros, no tempo inicial e em 90 dias após os tratamentos.

	IPV %		ISG %		SS %		SUP %		PS mm	
	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias
Saúde	19,7 \pm 23,4aA	13,6 \pm 26,7aA	0aA	3,0 \pm 6,7aA	0aA	0aA	0aA	0aA	3,8 \pm 0,8 aA	3,7 \pm 0,7aA
Mucosite	90,6 \pm 21,1aB	34,4 \pm 9,2bA	97,9 \pm 8,3aB	25 \pm 28,5bB	95,8 \pm 11,4 aB	31,3 \pm 37,5bB	0aA	0aA	5,2 \pm 1,3 aB	3,9 \pm 0,7 bA
Peri-implantite	90 \pm 30,8aB	50 \pm 39,4bB	93,9 \pm 20,9aB	48,3 \pm 41,5bB	100 aB	52,5 \pm 41,3bB	39,2 \pm 39,1aB	2,5 \pm 11,2bA	7,5 \pm 2,2 aC	4,4 \pm 1,1bA

Letras maiúsculas diferentes representam diferenças entre linhas pelo teste de Kruskal Wallis.

Letras minúsculas diferentes representam diferenças entre colunas pelo teste de Wilcoxon.

Tabela 4. Parâmetros clínicos no sítio teste, antes e após tratamentos para os implantes saudáveis, com mucosite ou peri-implantite. Número de sítios teste com presença de placa (IPV), sangramento gengival (ISG), sangramento à sondagem (SS) e supuração (SUP) Médias e desvios padrão (\pm DP) e da profundidade de sondagem (PS), em milímetros, no tempo inicial e em 90 dias após os tratamentos.

	IPV		ISG		SS		SUP		PS mm	
	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias	Tempo inicial	90 dias
Saúde (11)	1	0	0	0	0	0	0	0	3,8 \pm 1.0 aA	3,6 \pm 0.9 aA
Mucosite (16)	14	5	16	6	16	4	0	0	6,2 \pm 2.2 aB	4,3 \pm 1.2 bA
Peri-implantite (20)	18	9	20	8	20	6	6	1	8,0 \pm 2.2 aC	4,9 \pm 1.6 bA

Letras maiúsculas diferentes representam diferenças entre linhas pelo teste de Kruskal Wallis.

Letras minúsculas diferentes representam diferenças entre colunas pelo teste de Wilcoxon.

4.2 Resultados microbiológicos

Para o grupo da saúde, 3 sítios de coleta foram mesio-vestibulares (MV), 5 sítios mesio-linguais ou palatinos (ML/P), 1 sítio disto-vestibular (DV) e 2 sítios médio-vestibulares (MdV). Nos implantes com mucosite, 3 sítios foram MV, 5 sítios ML/P, 4 sítios disto-linguais ou palatinos (DL/P) e 4 sítios MdV. Na peri-implantite, 9 sítios foram MV, 2 sítios ML/P, 5 sítios DV e 4 sítios MdV.

As médias das proporções das 40 espécies bacterianas avaliadas nas amostras de biofilme subgingival das diferentes condições peri-implantares no início e em 90 dias após as terapias estão representadas nos gráficos 2 e 3. Em geral, a análise intergrupo demonstrou um perfil microbiano peculiar para cada tipo de condição clínica peri-implantar.

No tempo inicial houve diferença significativa entre os três grupos para cinco espécies bacterianas. *Actinomyces gerencseriae* estava em baixa proporção, enquanto *T. forsythia* estava em altas proporções no grupo da peri-implantite, quando comparados aos grupos da saúde e mucosite. *Capnocytophaga ochracea* estava aumentada na mucosite quando comparada aos demais grupos. *P. gingivalis* foi a espécie encontrada em maiores proporções no grupo de peri-implantite, embora não tenham sido detectadas diferenças significativas. As proporções de *Actinomyces naeslundii* stp.2 estavam reduzidas no grupo da peri-implantite em relação aos demais e a *Selenomona noxia* estava aumentada para o grupo da mucosite no tempo inicial (Gráfico 2).

Os implantes saudáveis apresentavam proporções muito baixas dos três patógenos do complexo vermelho (*T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola*). Três meses após as cirurgias, 3 espécies bacterianas consideradas potencialmente periodontopatógenas foram significativamente reduzidas na peri-implantite, *P. micra* do complexo laranja, *P. gingivalis* e *T. denticola* do complexo vermelho ($p < 0,05$). Adicionalmente, a proporção de *Neisseria mucosa* aumentou após a terapia peri-implantar ($p < 0,05$). Os níveis de *Fusobacterium nucleatum* ss. *nucleatum* e *Treponema socranskii* foram reduzidos e de *Gemella morbilorum* aumentaram após o tratamento dos implantes com mucosite ($p < 0,05$) (Gráfico 3).

A média total da contagem das 40 espécies avaliadas e as proporções dos diferentes complexos microbianos antes e após as terapias estão presentes no Gráfico 4. As áreas das circunferências foram ajustadas para representarem a contagem das 40 espécies avaliadas em cada tempo para cada grupo experimental. No tempo inicial, altos níveis de microrganismos foram encontrados na submucosa ao redor das peri-implantites, seguida pela mucosite e pelos implantes saudáveis. A contagem total de espécies bacterianas avaliadas reduziu significativamente no grupo da peri-implantite três meses após a cirurgia. Altas proporções do complexo vermelho foram observadas no grupo da peri-implantite no

tempo inicial (25%) seguido pelos grupos da mucosite (11%) e saúde (1%). Foram observadas significantes diminuições nas proporções desse complexo em três meses após terapias ($p < 0,05$) para mucosite (de 10,4% para 0,8%) e para peri-implantite (de 23,4% para 3,7%). Um significativo aumento nas proporções de “outras espécies” também foi observado e esse fato está relacionado ao aumento das proporções do *Neisseria mucosa*.

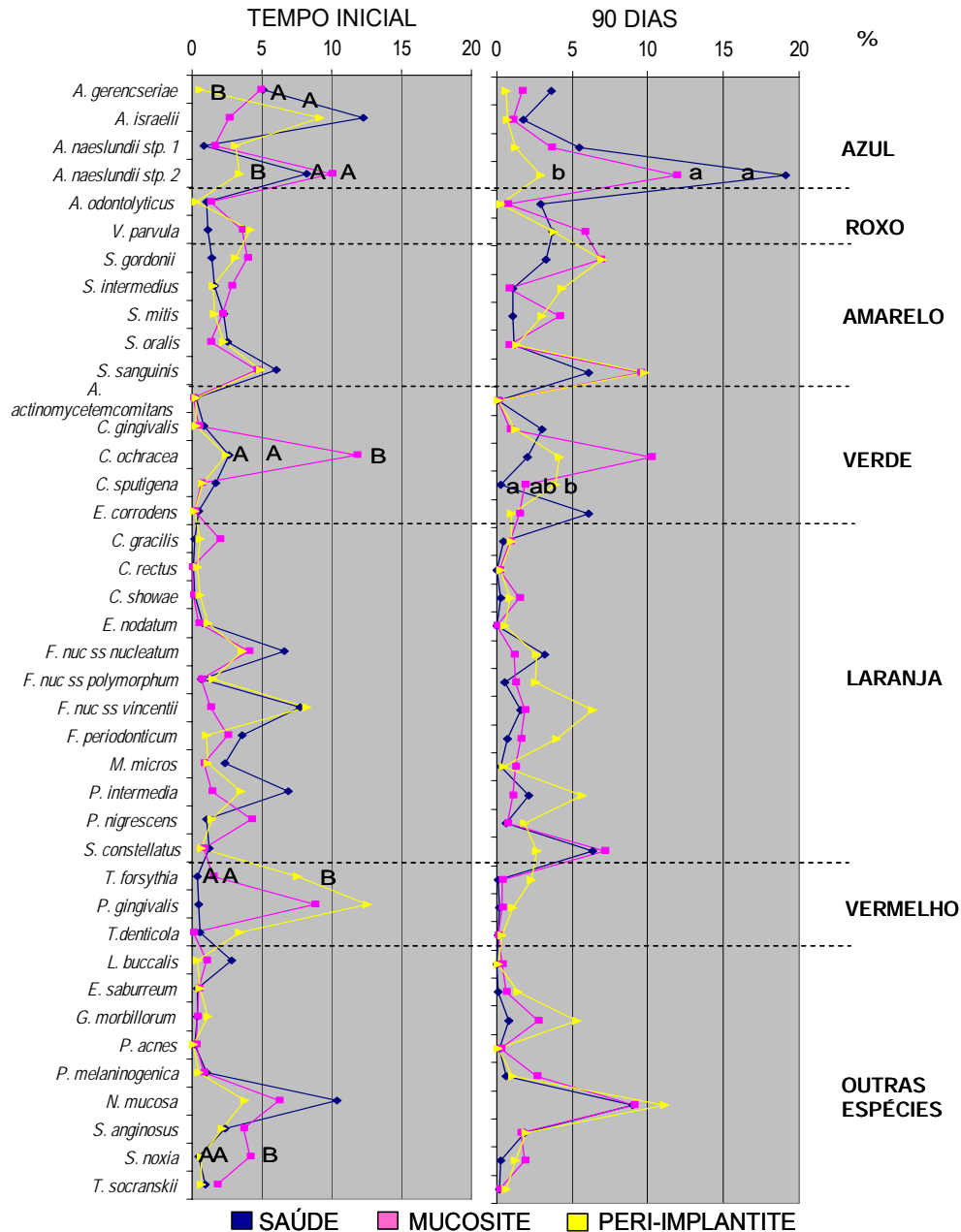


Gráfico 2 – Média das proporções das 40 espécies bacterianas na saúde, mucosite e peri-implantite antes e 90 dias após as terapias. Letras maiúsculas representam diferenças entre as espécies bacterianas em relação às diferentes condições clínicas peri-implantares ($p < 0,05$) no tempo inicial, enquanto as letras minúsculas representam estas diferenças em 90 dias após as terapias (Teste de Kruskal-Wallis).

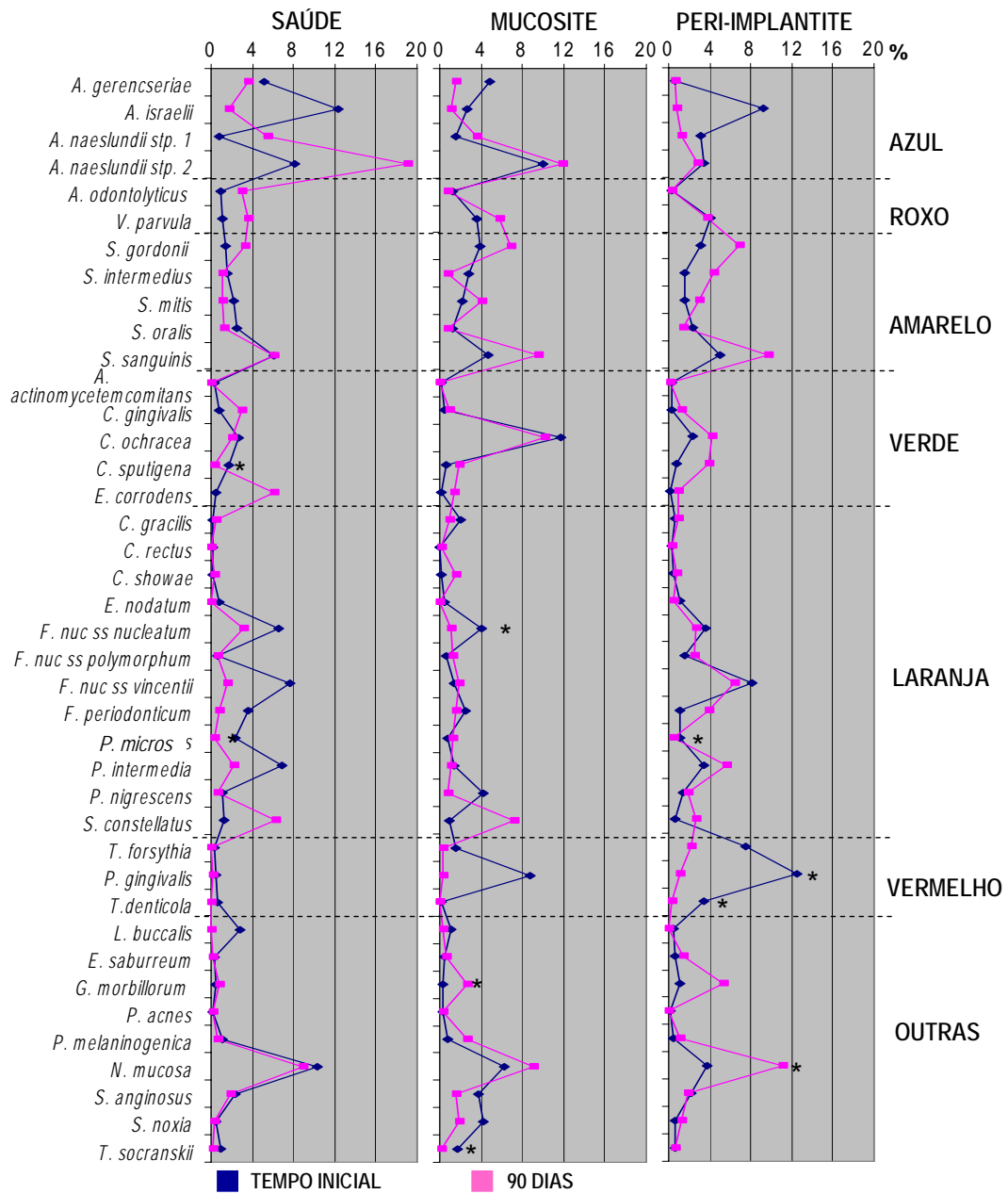


GRÁFICO 3 - Médias das proporções das 40 espécies bacterianas na saúde, mucosite e peri-implantite antes e em 90 dias após as terapias. * representa diferenças entre as espécies bacterianas antes e após os tratamentos em um mesmo grupo experimental ($p < 0,05$) pelo teste de Wilcoxon.

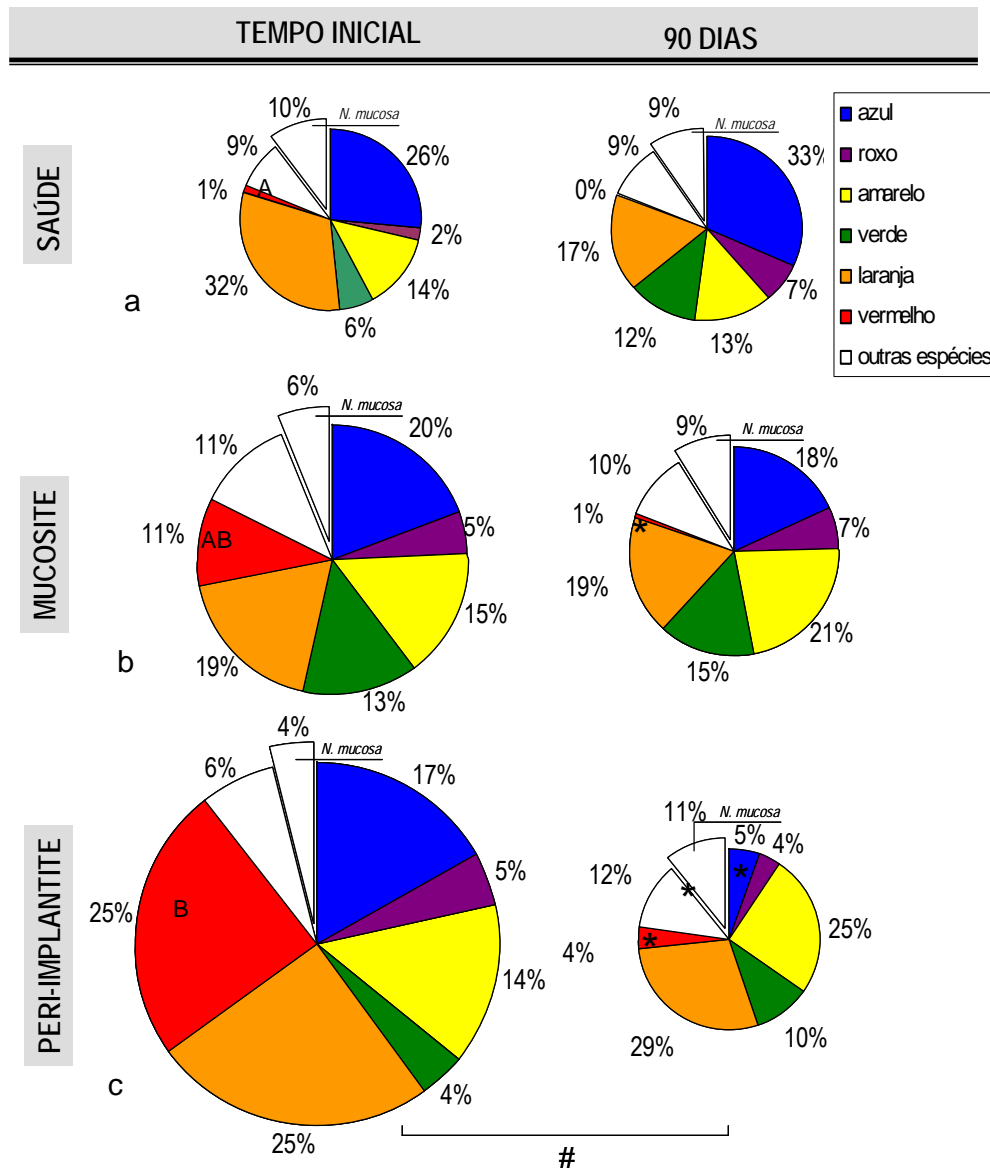


GRÁFICO 4 - Média das proporções dos complexos microbianos e da *N. mucosa* para os três grupos no tempo inicial e em três meses após terapia. As áreas das “pizza” foram ajustadas para representar a contagem total bacteriana para cada grupo.

(*) representa diferenças significativas na média de proporção dos complexos microbianos entre o tempo inicial e três meses após terapia pelo teste de Wilcoxon signed-rank ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas significam diferenças significativas nas proporções dos complexos microbianos no tempo inicial pelos testes Kruskal-Wallis e Dunn.

Diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas na contagem total das espécies avaliadas entre grupos no tempo inicial pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn. (#) representa diferença na média total de contagem das 40 espécies antes e após os tratamentos pelo teste de Wilcoxon signed-rank.

5 DISCUSSÃO

Baseados em evidências científicas sobre os tratamentos efetivos para as doenças periodontais, terapias similares têm sido propostas para as infecções peri-implantares. Assim, alguns estudos já avaliaram as mudanças clínicas e microbiológicas ao redor de implantes doentes após diferentes procedimentos terapêuticos. As estratégias de tratamentos geralmente propostas por esses estudos consistem no debridamento da superfície do implante sem acesso cirúrgico associado a um antimicrobiano sistêmico e/ou local. Algumas investigações têm sugerido ainda o debridamento da superfície do implante por meio do acesso cirúrgico; porém, a cirurgia tem sido frequentemente combinada a antimicrobianos e/ou procedimentos regenerativos (KLINGE et al., 2002 e ROOS JANSACKER et al., 2003). Entretanto, a literatura é desfavorecida de informações sobre o efeito isolado das terapias mecânicas para mucosite ou peri-implantite, sem a combinação com outro procedimento terapêutico. Além disso, a grande maioria dos protocolos terapêuticos para essas patologias são associações aleatórias de procedimentos sem respaldo clínico e microbiológico e, devido à predominância de relatos de casos clínicos como desenho de estudo, as recomendações de tratamento previamente descritas ainda são reconhecidas como empíricas. Portanto, o presente estudo avaliou o efeito clínico e microbiológico de duas terapias mecânicas anti-infecciosas para o tratamento da mucosite ou peri-implantite, em três meses após o término do tratamento. Foi possível ainda estabelecer uma comparação do perfil clínico e microbiológico entre as diferentes condições peri-implantares antes e após esses tratamentos.

Primeiramente, alguns aspectos metodológicos devem ser enfatizados para melhor compreensão do delineamento e dos resultados obtidos no presente estudo. É importante enfatizar que o objetivo desse estudo não foi comparar diferentes protocolos terapêuticos para as doenças peri-implantares, mas sim monitorar implantes em relação às mudanças clínicas e microbiológicas após o procedimento proposto para uma dada condição peri-implantar. Além disso, um único sistema de implante e um tipo de superfície específica foram avaliados (sistema Brånemark® e superfície usinada) para evitar que as diferenças entre os sistemas e superfícies influenciassem os resultados. Finalmente, uma vez que os implantes do tipo Brånemark® perdem osso ao redor das primeiras roscas durante o período de reparo e o primeiro ano após a instalação da prótese (ADELL et al., 1981; HERMANN et al., 1997; OH et al., 2002), neste estudo, peri-implantite foi definida como uma perda de tecido ósseo envolvendo três ou mais roscas sempre associada à profundidade de sondagem aumentada e aos sinais clínicos de inflamação do tecido mole, em implantes em função há mais de um ano.

Como previamente descrito por estudos utilizando diferentes técnicas microbiológicas (MOMBELLI et al., 1987; AUGHTHUN e CONRADS, 1997 e LEONHARDT et al., 1999, QUIRYNEN et al., 2006), os resultados do tempo inicial do presente estudo demonstraram que diferentes condições clínicas peri-implantares apresentam diferentes perfis microbianos no sulco ou bolsa peri-implantar. Esses dados estão de acordo com investigações prévias que demonstraram que implantes com ausência de sinais de inflamação são comumente colonizados por espécies gram-positivas facultativas enquanto as proporções de espécies anaeróbias gram-negativas como, por exemplo, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia*, são maiores em sítios peri-implantares doentes (Gráfico 4) (MOMBELLI et al., 1987 e 1994). Neste estudo, os implantes portadores de mucosite demonstraram uma tendência a serem colonizados por maiores níveis de espécies gram-negativas e baixas proporções de bactérias gram-positivas. Os portadores de peri-implantite, por sua vez, apresentaram altas proporções de *T. forsythia*. Similarmente, Papaioannou et al. (1995) reportaram que quanto maior a profundidade de bolsa, maior é a proporção de patógenos na microbiota. Leonhardt et al. (1999) identificaram a presença de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* e *A. actinomycetemcomitans* em 60% dos casos de peri-implantite. Hultin et al. (2000), que também utilizaram a técnica *Checkerboard DNA-DNA hybridization*, demonstraram altos níveis de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e *T. denticola* ao redor de implantes com perda óssea inseridos em pacientes dentados ou edêntulos. Porras et al. (2002) relataram que implantes com mucosite apresentam altos índices de espécies anaeróbias gram-negativas. Botero et al. (2005) detectaram proporções elevadas de patógenos periodontais como *Fusobacterium spp* e *P. gingivalis* em lesões peri-implantares, enquanto Gerber et al. (2006) demonstraram que *A. actinomycetemcomitans*, *P. nigrescens* e *T. denticola* foram mais prevalentes em sítios peri-implantares com sangramento à sondagem. Interessantemente, a *N. mucosa* foi a espécie encontrada em maiores proporções nos implantes saudáveis. Essa espécie estava presente em baixas proporções no grupo da peri-implantite no tempo inicial e aumentou após a terapia. Porém, mais estudos são necessários para elucidar o envolvimento preciso desta espécie com a superfície peri-implantar e os tecidos peri-implantares.

Já é um fato bem estabelecido que as bactérias patogênicas e seus fatores de virulência interagem com os tecidos peri-implantares de maneira similar à doença periodontal, ocupando o papel principal no estabelecimento e progressão da mucosite e peri-implantite. Dessa maneira, o objetivo dos dois tratamentos propostos no presente estudo foi a desorganização da integridade do biofilme e a redução do número de microrganismos ao redor dos implantes doentes. Uma vez que a aderência bacteriana está aumentada pelas micro-irregularidades da superfície dos implantes e pela presença das roscas, foi utilizado primeiramente as curetas de teflon para remoção dos grandes depósitos de cálculo e biofilme, seguido pelo jato de bicarbonato para a obtenção de uma descontaminação mecânica mais refinada. É

importante destacar que o debridamento mecânico por meio de ambos os jato de bicarbonato e curetas de teflon foi utilizado em estudos prévios, demonstrando adequada descontaminação do implante (ver revisão, ROOS JANSACKER et al., 2003) sem alterações extensas na topografia da superfície e prejuízos para adesão celular durante o reparo pós-terapia (PARHAM et al., 1989 e JOVANOVIC, 1999).

Embora a mucosite apresente perfis clínico e microbiológico similares a gengivite, existem poucas informações sobre o método mais adequado para tratamento da mesma. Os resultados desse estudo indicam que o debridamento mecânico não-cirúrgico associado à instrução de higiene ao redor dos implantes e eventuais remoção de excessos de próteses foram, de maneira geral, efetivos para diminuir os níveis de inflamação da mucosa e as proporções de espécies patogênicas, embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas significantes em todos os aspectos avaliados. É importante salientar que parte da ausência de diferenças estatísticas pode ser atribuída ao fato de que as respostas clínicas e microbiológicas favoráveis não se aplicam a 100% dos pacientes. Assim, como no tratamento da gengivite, com a atuação do profissional é possível re-estabelecer a saúde peri-implantar; porém, a manutenção desta saúde está atrelada à constante capacidade de higiene ao redor do implante realizada pelo paciente. Lavigne et al. (1994) e Porras et al. (2002) investigaram o efeito da aplicação local da clorexidina no tratamento da mucosite e questionaram o efeito benéfico desse antimicrobiano. Os resultados do presente estudo estão de acordo com os resultados do grupo controle destes trabalhos, no qual, a terapia mecânica sem antimicrobiano apresentou um efeito tão positivo para a mucosite em relação aos parâmetros clínicos e microbiológicos quanto ao mesmo protocolo associado à clorexidina (LAVIGNE et al., 1994 e PORRAS et al., 2002).

Combinações de terapias antimicrobianas e/ou regenerativas com o debridamento anti-infeccioso têm sido propostas para tratamento de peri-implantite em estudos realizados em animais e em humanos (KLINGE et al., 2002 e ROOS JANSACKER et al., 2003). No que diz respeito às técnicas cirúrgicas com objetivo exclusivo de desinfecção, o reposicionamento apical do retalho associado à osteotomia e polimento da superfície exposta do implante (implantoplastia) jateado com plasma de titânio foram sugeridos previamente para tratamento da peri-implantite, demonstrando efeitos positivos na sobrevida do implante em longo prazo (JOVANOVIC, 1993 e ROMEO et al., 2005). No presente estudo, o debridamento com acesso cirúrgico também foi considerado como terapia de escolha para a peri-implantite, com objetivo de aumentar o acesso à superfície contaminada do implante e facilitar a remoção mecânica do biofilme patogênico. Porém, o procedimento cirúrgico não foi combinado à osteotomia e polimento da superfície peri-implantar e o retalho foi colocado em sua posição original. A escolha deste procedimento cirúrgico está embasada na tendência atual das técnicas cirúrgicas anti-infecciosas periodontais em conservar os tecidos ao redor do dente periodontalmente envolvido. A

vantagem desse procedimento conservador é que alguns defeitos morfológicos ósseos (três e quatro paredes) podem favorecer o potencial regenerativo do tecido ósseo após a desinfecção e, os tecidos moles ao redor de defeitos horizontais e de uma parede apresentam uma tendência natural à recessão mesmo sem reposicionamento apical do retalho. Até o presente momento, não foram observadas evidências científicas sobre os efeitos clínico e microbiológico dessa terapia cirúrgica anti-infecciosa para peri-implantite. Os resultados clínicos apresentaram um padrão esperado; porém, existem alguns aspectos interessantes a serem discutidos. Após terapia, a média do ganho de inserção clínica foi inferior à redução da profundidade de sondagem, sugerindo que parte da redução da profundidade de bolsa pode ser atribuída à recessão do tecido marginal pela diminuição da inflamação da mucosa peri-implantar e pelo procedimento cirúrgico. Esse resultado é importante do ponto de vista estético e em relação ao controle de placa. A recessão do tecido marginal pode expor o metal do implante levando a um comprometimento estético e, as roscas expostas requerem maior habilidade do paciente para higienizar o implante. Talvez essa seja uma possível explicação para o fato da média do IPV, ISG e SS do grupo da peri-implantite após o tratamento não terem alcançado o nível do grupo dos implantes saudáveis. Apesar disso, é importante destacar que os resultados clínicos do presente trabalho tanto em relação ao implante como um todo (tabela 3), quanto ao sítio-teste (tabela 4) são comparáveis a estudos que utilizaram outras terapias e também observaram certa porcentagem de casos que não responderam ao tratamento (LEONHARDT et al., 2003; ROMEO et al., 2005 e PERSSON et al., 2006). Os parâmetros microbiológicos no presente estudo indicaram mudanças qualitativas após o tratamento da peri-implantite, incluindo redução significativa das espécies patogênicas *P. gingivalis* e *T. denticola*. Resultados similares foram observados em estudos prévios que utilizaram outras terapias (PERSSON et al., 2006 e MOMBELLI et al., 2001).

É de suma importância destacar a condição periodontal dos pacientes selecionados antes do tratamento dos implantes. De maneira geral, os pacientes apresentavam baixos índices de placa, sangramento à sondagem e marginal, bem como bolsas periodontais rasas. Tem sido demonstrado que pacientes com altos níveis de patógenos periodontais ao redor de dentes possui um aumento no risco de infecção cruzada de bactérias de sítios periodontais para os sítios peri-implantares (PAPAIIOANNOU et al., 1996 e QUIRYNEN et al., 2001 e 2006). Essa infecção cruzada pode ocorrer quando implantes são instalados em pacientes periodontais não-tratados ou parcialmente tratados (QUIRYNEN et al., 2001). Embora história de periodontite não tenha sido critério de exclusão do estudo, os indivíduos foram previamente tratados antes do tratamento peri-implantar. Com o tratamento periodontal e a conseqüente redução do nível de patógenos nos nichos periodontais antes do tratamento do implante, acredita-se que a recolonização peri-implantar por esses microrganismos foi minimizada, reduzindo o risco de insucesso do tratamento peri-implantar por esse motivo.

Avaliações adicionais devem ser consideradas para verificar se, e em qual extensão esses resultados iniciais podem ser sustentados ao longo do tempo bem como os efeitos dessas terapias considerando outras superfícies e sistemas de implantes. Também é importante enfatizar que o risco para re-infecção em doenças peri-implantares pode ocorrer não só pela incompleta eliminação dos patógenos durante o tratamento, mas também pela higienização deficiente do implante pelo paciente e por outros nichos bucais que funcionam como reservatórios para espécies patogênicas (dentes, próteses, língua). Por esse motivo, a terapia de suporte ou manutenção para o controle da re-infecção peri-implantar é ainda essencial para o sucesso de qualquer estratégia de tratamento para as doenças peri-implantares ao longo do tempo.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram um perfil microbiológico diferente para cada situação clínica peri-implantar. Além disso, houve melhora na quantidade de placa, inflamação da mucosa e profundidade de sondagem na mucosite e na peri-implantite em 90 dias após os diferentes tratamentos mecânicos anti-infecciosos. Adicionalmente, houve melhoras no perfil microbiológico de ambas as doenças neste mesmo período de tempo após as terapias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous. *Jaw Int J Oral Surg.* 1981;10:387-416.
2. Zarb GA, Schmitt A. The longitudinal clinical effectiveness of osseointegrated dental implants: the Toronto study: the prosthetic results. *J Prosthet Dent.* 1990;64(Pt 2):53-61.
3. Lang NP, Berglundh T, Heitz-Mayfield LJ, Pjetursson BE, Salvi GE, Sanz M. Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004; 19(Suppl):150-4.
4. Albrektsson T, Isidor F. Consensus report of Session IV. In: Lang NP, Karring T, editores. *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology; 2002.* London: Quintessence; 1994. p. 365-9.
5. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants (II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci.* 1998;106:721-64.
6. Astrand P, Engquist B, Anzen B, Bergendal T, Hallman M, Karlsson U, et al. A three-year follow-up report of a comparative study of ITI dental implants and branemark system implants in the treatment of the partially edentulous maxilla. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2004;6:130-41.
7. Roos-Jansaker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S. Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment: implant loss and associations to various factors. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(Pt 1):283-9.
8. Bain C, Moy P. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993;8:609-15.
9. Jovanovic SA. The management of peri-implantitis breakdown around functioning osseointegrated dental implants. *J Periodontol,* 1993;64:1176-83.
10. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(Suppl, 3):197-212.
11. Pjetursson B, Tan K, Lang N, Brägger U, Egger M, Zwahlen M. A systematic review of the survival and complications rates of fixed partial dentures (FPDs) after an observation period of at least 5 years. *Clin Oral Implant Res.* 2004;15:625-42.

12. Ferreira SD, Silva GLM, Cortelli JR, Costa JE, Costa FO. Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J Clinical Periodontol.* 2006;33:929-35.
13. Van Winkelhoff AJ, Goene RJ, Benschop C, Folmer T. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clin Oral Impl Res.* 2000;11:511–20.
14. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of “pristine” peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17:25-37.
15. Fürst MM, Salvi GE, Lang NP, Persson GR. Bacterial colonization immediately after installation an oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18:501-8.
16. Rosenberg ES, Torosian JP, Slots. Microbial differences in two clinically distinct types of failures of osseointegrated implants. *Clin Oral Implants Res.* 1991;2:135-44.
17. Berglundh T, Lindhe J, Marinello C, Ericsson I, Liljenberg B. Soft tissue reaction to novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in dog. *Clin Oral Implants Res.* 1992;3:1-8.
18. Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1998a;9:73-9.
19. Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues: a study in a beagle dog. *Clin Oral Implants Res.* 1992;3:9-16.
20. Schou S, Holmstrup P, Reibel J, Juhl M, Hjorting-Hansen E, Kornman K. Ligature – induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth: stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys (*Macaca Fascicularis*). *J Periodontol.* 1993;64:529-37.
21. Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J, Klinge B. Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. *J Clin Periodontol.* 1995;22:255-61.
22. Ong ES, Newman HN, Wilson M, Bulman JS. The occurrence of periodontitis: related microorganisms in relation to titanium implants. *J Periodontol.* 1992;63:200-5.
23. 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;5:254-9.

24. Loë H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965;36:177-87.
25. Mombelli A, Van Oosten MA, Schurch EJr, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol and Immunol.* 1987;2:145-51.
26. Augthun M, Conrads G. Microbial findings of peri-implant bone defects. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12:106-12.
27. Rams TE, Roberts TW, Tatum Junior H, Keyes PH. The subgingival microbial flora associated with human dental implants. *J Prosthet Dent.* 1984;51:529-34.
28. Leonhardt A, Dahlen G, Renvert S. Five-year clinical, microbiological and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. *J Periodontol.* 2003;74:1415-22.
29. Tanner A, Maiden MF, Lee K, Shulman LB, Weber HP. Dental implant infection. *Clin Infec Dis.* 1997; 25:S213-S7.
30. George K, Zafiroopoulos GG, Murat Y, Spierkemann H, Nisengard RJ. Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. *J Periodontol.* 1994;65:766-70.
31. 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;12:287-94.
32. Botero J, González A, Mercado R, Olave G, Contreras A. Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol.* 2005;76:1490-5.
33. Papaioannou W, Quirynen M, Nys M, van Steenberghe D. The effect of periodontal parameters on the subgingival microbiota around implants. *Clin Oral Implants Res.* 1995;6:197-204.
34. Quirynen M, Papaioannou W, van Steenberghe D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *J Periodontol.* 1996;67:986-93.
35. Leonhardt A, Renvert S, Dahlen G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implants Res.* 1999;10:339-45.

36. Listgarten MA, Lai CH. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. *J Periodontol.* 1999;70:431-7.
37. Hultin M, Gustafsson A, Hallstrom H, Johansson L-A, Ekfeldt A, Klinge B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13:349-58.
38. 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;3(Suppl):213-25.
39. Roos-Jansaker AM, Renvert S, Egelberg J. Treatment of peri-implant infections: a literature review. *J Clin Periodontol.* 2003;30:467-85.
40. Hayek RR, Araújo NS, Gioso MA, Ferreira J, Baptista-Sobrinho CA, Yamada AM et al. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and conventional therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs. *J Periodontol.* 2005;76:1275-81.
41. Deppe H, Horch HH, Neff A. Conventional versus CO2 laser-assisted treatment of peri-implant defects with the concomitant use of pure-phase beta-tricalcium phosphate: a 5-year clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007;22:79-86.
42. 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;7:320-8.
43. 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.* 2003;45:17-23.
44. Mombelli A, Lang NP. Antimicrobial treatment of periimplant infections. *Clin Oral Implants Res.* 1992;3:162-8.
45. Porras R, Anderson GB, Caffesse R, Narendran S, Trejo PM. Clinical response to two different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *J Periodontol.* 2002;37:1118-25.
46. 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: clinical outcome. *Clin Oral Implants Res.* 2005; 16(Pt 1):9-18.
47. Karring ES, Stavropoulos A, Ellegaard B, Karring T. Treatment of peri-implantitis by the Vector system. *Clin Oral Implants Res.* 2005; 16(3):288-93.

48. Vitussi T. Utilização do metronidazol associado à amoxicilina no tratamento das peri-implantites. Guarulhos, SP: Universidade de Guarulhos; 2006.
49. Persson GR, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJA, Lang NP. Antimicrobial therapy using a local drug delivery system (Arestin) in the treatment of peri-implantitis I: microbiological outcomes. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17:386–93.
50. Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Lindahl C, Svensson M. Topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement of incipient peri-implant infections: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2006;33:362-9.
51. Salvi GE, Persson GR, Heitz-Mayfield LJA, Frei M, Lang NP. Adjunctive local antibiotic therapy in the treatment of peri-implantitis II: clinical and radiographic outcomes. *Clin Oral Implants Res.* 2007;8:281-5.
52. Romeo E, Lops D, Chiapasco M, Ghisolfi M, Vogel G. Therapy of peri-implantitis with resective surgery: a 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants: radiographic outcome. *Clin Oral Implants Res.* 2007; 18(Pt 2):179-87.
53. Andrade ED. Indicação do uso de antibióticos. In: Andrade ED. *Terapêutica medicamentosa em Odontologia: procedimentos clínicos e uso de medicamentos nas principais situações da prática odontológica.* 1ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1998. p. 162.
54. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25:229-35.
55. Araújo 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;12:1736-40.
56. Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontol* 2000. 1998;17:63-76.
57. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques.* 1994;17:788-92.
58. Feinberb AP, Vogelstein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem.* 1983;132:6-13.

59. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Junior RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998; 25:134-44.
60. Hermann JS, Cochran DL, Nummikoski PV, Buser D. Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol*. 1997 Nov;68(11):1117-30.
61. Oh TJ, Yoon J, Misch CE, Wang HL. The causes of early implant bone loss: myth or science? *J Periodontol*. 2002;73:322-33.
62. Mombelli A, Lang NP. Microbial aspects of implant dentistry. *Periodontol 2000*. 1994;4:74-80.
63. Hultin M, Gustafsson A, Klinge B. Long-term evaluation of osseointegrated dental implants in the treatment of partly edentulous patients. *J Clin Periodontol*. 2000;27:128-33.
64. Gerber J, Wenaweser D, Heitz-Mayfield L, Lang NP, Persson GR. Comparison of bacterial plaque samples from titanium implant and tooth surfaces by different methods. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17:1-7.
65. Parham Junior PL, Cobb CM, French AA, Love JW, Drisko CL, Killoy WJ. Effects of an air-powder abrasive system on plasma-sprayed titanium implant surfaces: an in vitro evaluation. *J Oral Implantol*. 1989;15:78-86.
66. Jovanovic SA. Peri-implant tissue response to pathological insults. *Adv Dent Res*. 1999;13:82-6.
67. Lavigne SE, Krust-Bray KS, Williams KB, Killoy WJ, Theisen F. Effects of subgingival irrigation with chlorhexidine on the periodontal status of patients with HA-coated integral dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1994; 9(2):156-62.
68. 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;7:405-9.
69. Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D. The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol*. 2001; 28:499-507.

ANEXO A



Guarulhos, 07 de novembro de 2005.

Exma. Sra.
Profª. Poliana Mendes Duarte

PARECER Nº 09/2005

Referência: **Aprovação de Projeto**
SISNEP/98 - "Perfis microbiológico e de expressão de citocinas pró- e anti-inflamatórias associadas as diferentes severidades da perimplantite. Estudo em humanos"

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos analisou o Projeto de Pesquisa de sua autoria "Perfis microbiológico e de expressão de citocinas pró- e anti-inflamatórias associadas as diferentes severidades da perimplantite. Estudo em humanos" - SISNEP/98, na reunião de 07.11.2005, e no uso das competências definidas na Res. CNS 196/96, considerou o Projeto acima **aprovado**.

As orientações abaixo devem ser consideradas pelo Pesquisador Responsável durante a realização da pesquisa, visando que a mesma se desenvolva respeitando os padrões éticos:

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou, aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata.
- Eventuais modificações ou emendas e eventos adversos ao protocolo, devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.
- Esclarecemos a necessidade da apresentação de relatório de andamento até **31.10.2006** e relatório final até **31.10.2007**.

Luciene Cristina de Figueiredo
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa