



**MESTRADO EM IMPLANTODONTIA**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO IMPLANTODONTIA**

**RENATO GAUDIOSI VIANNA**

**INFILTRAÇÃO BACTERIANA ENTRE A INTERFACE DO IMPLANTE  
E COMPONENTE PROTÉTICO. COMPARAÇÃO ENTRE O TITÂNIO  
GRAU 4 VERSUS TITÂNIO HARD. ESTUDO *IN VITRO*.**

Guarulhos

2016

**RENATO GAUDIOSI VIANNA**

**INFILTRAÇÃO BACTERIANA ENTRE A INTERFACE DO IMPLANTE  
E COMPONENTE PROTÉTICO. COMPARAÇÃO ENTRE O TITÂNIO  
GRAU 4 VERSUS TITÂNIO HARD. ESTUDO *IN VITRO*.**

Dissertação apresentada à Universidade  
Guarulhos, para obtenção do título de  
Mestre em Odontologia.  
Área de Concentração: Implantodontia.  
Orientador: Marcelo de Faveri.  
Co-Orientador: Jamil Awad Shibli.

Guarulhos

2016

V617i

Vianna, Renato Gaudiosi

Infiltração bacteriana entre a interface do implante e componente protético comparação entre o titânio grau 4 versus titânio hard estudo *in vitro* / Renato Gaudiosi Vianna. -- 2016.

41 f.; 31 cm.

Orientador: Profº. Dr. Marcelo de Faveri

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Centro de Pós-Graduação e Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, Guarulhos, SP, 2016.

1. Interface Implante/pilar protético 2. Microinfiltração bacteriana 3. Peri-implantitites I. Título II. Faveri, Marcelo de, (Orientador). III. Universidade Guarulhos

CDD. 617.6



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, intitulada “INFILTRAÇÃO BACTERIANA ENTRE A INTERFACE DO IMPLANTE E COMPONENTE PROTÉTICO. COMPARAÇÃO ENTRE TITÂNIO GRAU 4 VERSUS TITÂNIO HARD. ESTUDO *IN VITRO*”, em sessão pública realizada em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2016, considerou o candidato SONIA SETSUKO KUSHIMA \_\_\_\_\_.

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

1. Prof. Dr. Marcelo de Favari (UnG)\_\_\_\_\_

2. Profa. Dra. Flávia Matarazzo (UEM)\_\_\_\_\_

3. Prof. Dr. Murilo Fernando Neuppmann Feres (UnG)\_\_\_\_\_

Guarulhos, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2016.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Guarulhos, instituição onde tive a oportunidade de dar um importante passo rumo ao crescimento científico e profissional.

Ao Prof. Dr. Marcelo de Faveri, pela paciência, pela competente orientação e correção deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Jamil Awad Shibli, e demais professores da *Stricto Sensu* em Odontologia da Universidade Guarulhos, pela atenção, amizade e convivência científica compartilhada.

Aos colegas do Curso do Mestrado em Odontologia, pela amizade e companheirismo.

À Profa. Geisla Soares e a aluna Nara Santos de Moraes pela atenção e colaboração.

Aos funcionários dessa Universidade que de alguma forma contribuíram para os meus trabalhos durante este período.

À Bibliotecária da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas de São Paulo à Srta. Maria Alice pela colaboração, coleta e seleção de material, para a realização deste trabalho.

À empresa Conexão de Sistema de Prótese pelo fornecimento do material para a realização deste trabalho.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao meu pai Roberto (*in memoriam*), à minha mãe Dirce, à minha esposa e filha, Roselene e Fernanda, com amor, admiração, gratidão pela compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo de período do curso e da elaboração deste trabalho.

### *Por traz da capa*

*Eu descobri a semelhança entre livros e homens. Há livros que compro só porque gosto da arte gráfica e da qualidade do papel, mesmo sabendo que, evidentemente, o que importa é o texto.*

*O texto pode ser escrito em diversos tipos de suporte: em pedra, papel, fita magnética ou em disco rígido do computador. O texto pode até sobreviver ao suporte. Ele é, em resumo, a alma do livro.*

*Da mesma forma, há homens que se dizem pelo esplendor da capa, pela elegância da impressão, e o texto não condiz. Existem romances ruins que são bem encadernados.*

*Outros, ao contrário, tiveram azar com o editor, mal os notamos e então somos surpreendidos pela qualidade do texto, a originalidade da trama e o vigor das metáforas.*

*Faiza Hayat*



## RESUMO

A presença de uma microfenda na interface entre o implante e o componente protético possibilita a infiltração bacteriana e desta forma pode ser uma das causas de perdas ósseas peri-implantares. O objetivo desse trabalho foi por meio de um estudo microbiológico *in vitro* avaliar a infiltração bacteriana na interface entre a plataforma do implante e o componente protético de dois sistemas de conexão protética, hexágono externo e cone morse, submetidos a dois diferentes torques de inserção do parafuso. Neste trabalho foram usados 4 modelos de implantes da empresa Conexão® que foram divididos em 4 grupos, contendo 10 implantes por grupo. Nos grupos 1 e 2 foram incluídos implantes do sistema de conexão tipo hexágono externo e nos grupos 3 e 4 foram incluídos implantes do sistema de conexão tipo cone morse. Nos grupos 1 e 3, foram incluídos sistemas de implantes fabricados com titânio Grau 4 convencionais e por outro lado nos grupos 2 e 4 foram incluídos implantes fabricados com titânio TiGr4 Hard® que resistem a um maior torque de travamento de parafuso. Dentro de cada grupo de implantes foram utilizados seus respectivos pilares protéticos universais tipo UCLA e seus respectivos parafusos de fixação. Os grupos receberam com o auxílio de uma micropipeta 8µL de meio de cultura líquido estéril na porção interna do implante. Posteriormente, o componente protético foi conectado ao implante e aplicado o torque de 20Ncm em implantes com titânio Grau 4 convencional e 30Ncm nos implantes com titânio Grau 4 Hard®. O conjunto implante e pilar protético foram inoculados com *Escherichia coli* em estufa bacteriológica à 37°C durante 24 horas. Após este período, o conteúdo do interior dos implantes foram transferidos para placas de ágar LB e após 24hs de plaqueamento, o número de unidades formadoras de colônia (UFC) em cada uma das amostras foram contabilizadas. Observamos uma diferença significativa em relação a presença ou ausência de contaminação interna entre os 4 grupos experimentais ( $p < 0,05$ ), onde 100%, 60%, 50% e 0% das amostras estavam contaminadas no grupo de conexão HE TiGr4 (20Ncm), HE TiGr4 Hard® (30Ncm), CM TiGr4 (20Ncm) e CM TiGr4 Hard® (30Ncm), respectivamente. As maiores médias de UFC foram encontradas para o grupo HE TiGr4 ( $1137 \pm 445$ ) em comparação aos grupos HE TiGr4 Hard ( $351 \pm 414$ ), CM TiGr4 ( $66,3 \pm 88,3$ ) e CM TiGr4 Hard ( $0 \pm 0$ ), sendo está diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os dois grupos de CM (grupos 3 e 4), entretanto o grupo CM TiGr4 Hard apresentou uma média de UFC significativamente inferior a média do grupo HE TiGr4 Hard ( $p < 0,05$ ). Desse modo conclui-se que implantes de plataforma cone morse apresentam um melhor selamento bacteriano quando comparados a implantes tipo hexágono externo e que o aumento do torque de travamento do pilar protético apresentou uma grande influência no selamento bacteriano do implante.

Palavra chave: Interface Implante/pilar protético; Microinfiltração bacteriana; Peri-implantitites.

## ABSTRACT

The presence of a microgap at the implant interface and prosthetic component allows bacterial penetration and thus can be a cause of the peri-implant bone loss. The objective of this work was through a microbiological *in vitro* study evaluating the bacterial leakage at the interface between the implant platform and the prosthetic component two prosthetic connection systems, external hexagon and Morse cone, submitted to two different screw insertion torque. In this study we used 4 Conexão® Company implant models were divided into 4 groups, with 10 implants per group. In groups 1 and 2 were included in the implant external hexagon connection type system and in groups 3 and 4 were included implants Morse cone type connection system. In groups 1 and 3, made of titanium implants with conventional systems Grade 4 they were included and otherwise in groups 2 and 4 were included with titanium implants produced TiGr4 Hard®. Within each group, implants were used the respective universal type prosthetic UCLA abutments and their respective fixing screws. The groups received with the aid of a micropipette 8UL of sterile liquid culture medium in the internal portion of the implant. Subsequently, the prosthetic component was connected to the implant and applied the 20 Ncm torque on implants with titanium Grade 4 standard and 30Ncm the implant with titanium Grade 4 Hard. The prosthetic implant and abutment assembly inoculated with *Escherichia coli* bacterial oven at 37° C for 24 hours. After this period, the contents of the interior of the implants were transferred to LB agar plates and further 24h after plating, the number of colony forming units (CFU) of each sample were counted. We observed a significant difference in the presence or absence of internal contamination among the four experimental groups ( $p < 0.05$ ), where 100%, 60%, 50% and 0% of the samples were contaminated in the connection TiGr4 HE group (20 Ncm) Hard HE TiGr4 (30Ncm), CM TiGr4 (20 Ncm) and CM TiGr4 Hard (30 Ncm), respectively. The highest average CFUs were found to HE TiGr4 group ( $1137 \pm 445$ ) compared to groups HE TiGr4 Hard ( $351 \pm 414$ ), CM TiGr4 ( $66.3 \pm 88.3$ ) and CM TiGr4 Hard ( $0 \pm 0$ ), being statistically significant difference ( $p < 0.05$ ). No significant differences were found between the two groups of CM (groups 3 and 4), however the CM TiGr4 Hard group averaged UFC significantly below average HE TiGr4 Hard group ( $p < 0.05$ ). Of this we concluded that Morse taper platform implants have a better sealing when compared to the bacterial outer hexagon type implants which increase the locking torque of the abutment had a large influence on the bacterial implant sealing.

Key Words: Interface implant / abutment prosthetic; bacterial microleakage; periimplantitis

## SUMÁRIO

	p.
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>08</b>
<b>2. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>22</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>23</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>36</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de implantes dentais osseointegrados, cirurgicamente implantados no osso alveolar, que visa à substituição de dentes ausentes ou perdidos, tem se tornado uma prática importante na odontologia moderna, e assim sendo representa uma das mais importantes linhas de tratamento reabilitadoras para suportar tanto próteses fixas quanto próteses removíveis. O uso padrão da instalação de implantes dentais conforme a técnica descrita por Brånemark (Lorenzoni *et al.*, 2003) já segue uma sequência totalmente estabelecida por um protocolo cirúrgico e protético cientificamente validado. Inicialmente o implante é instalado em uma loja cirúrgica no tecido ósseo e após o período de osseointegração uma nova cirurgia é realizada no qual irá permitir a colocação do componente protético, que assim será parafusado no interior do implante; e desta forma sobre este pilar será confeccionada a prótese que têm como função substituir o dente (Faverani *et al.*, 2011). Desde o início do tratamento que corresponde à fase cirúrgica do implante até o período que o implante entra em função na cavidade bucal, podem ocorrer processos infecciosos próximos à crista óssea alveolar, que corresponde a área onde se encontra a junção entre implante e o pilar protético (Zanatta *et al.*, 2009).

Como a gengiva, a mucosa peri-implantar cria uma primeira forma de barreira ligado à superfície do implante, o que veda o movimento de bactérias e toxinas bucais no espaço entre o implante e os tecidos biológicos, selando a região. Qualquer dano ao epitélio dessa junção pode levar a uma perda da capacidade de proteção e uma remodelação óssea ao redor do implante. (Broggini *et al.*, 2003; Mombelli; Decaillet, 2011). Induzindo assim, à ocorrência de processos inflamatórios e infecciosos que podem ser correspondentes as doenças periodontais ao redor dos dentes. Além disso, esse perfil de cicatrização tecidual, do ponto de vista ósseo ou de tecidos moles, que ocorre na união implante e conector protético, pode ser influenciado pela modalidade do tipo de conexão protética do implante, seja ela interna ou externa, e também pela resposta inflamatória que pode ocorrer nesta junção (Pimentel *et al.*, 2010). Desta forma, o sucesso ao longo prazo dos implantes,

pode ser influenciado pela conexão protética que será usada durante o processo cirúrgico e reabilitador (Bisognin *et al.*, 2010).

Estudos demonstram que entre a plataforma do implante e o pilar protético existe uma microfenda, denominada de “gap” ou “microgap”, que possivelmente pode ser colonizada por microrganismos presentes no meio bucal e desta forma induzir a um processo imunoinflamatório (Lopes *et al* 2010; Silva *et al.*,2011). Além disso, o perfil tecidual formado no espaço biológico ao redor dos implantes pode ser influenciado por este “microgap” (Meleo *et al.*, 2012), bem como, o tamanho deste “microgap”, pode ser associado à instabilidade entre o pilar e o implante (Caspar *et al.*, 2012) e assim contribuir para uma perda óssea e conseqüentemente para perda do implante. Estudos experimentais demonstraram que o rebordo ósseo peri-implantar e os tecidos moles subjacentes são influenciados diretamente pela posição do ombro do implante, onde se localizam os “microgaps” entre ele e o componente protético (Hanggi *et al.*, 2005).

Estudos *in vitro* sugeriram que a contaminação bacteriana através das interfaces implante/pilar protéticos pode ser, eventualmente, correlacionada com a microfenda. O nível de contaminação depende da variação não só sobre a precisão da adaptação implante/pilar, mas do torque aplicado. A incidência de cargas e o desajuste do pilar protético pode aumentar essa infiltração, enquanto que na adaptação ideal, micromovimentos mínimos e planejamento oclusal são fatores que podem prevenir ou minimizar infiltração (Steinebrunner *et al.*, 2005; Zipprich *et al.*, 2007; Harder *et al.*, 2012)

Assim sendo, mesmo com muitos esforços no desenvolvimento técnico científico de diferentes sistemas de implantes, um dos grandes fatores preocupantes para o sucesso dos mesmos é a interface entre o implante e o componente protético. Mombelli *et al.* (1988) e Meffert (1988) estudaram esta conexão implante/pilar e observaram que a existência de má adaptação entre o componente protético e o implante poderia favorecer o desenvolvimento de microrganismos, e desta forma contribuir para os insucessos na osseointegração. Bisognin *et al.* (2010) sugeriram que a interface entre o implante e o componente protético segura deveria ser inferior a 10µm, e acima dessa medida, se tornaria ainda maior o número de

bactérias alojadas no “microgap” podendo vir a colonizar o meio e liberar seus ácidos ocasionando uma perda óssea.

Nesse sentido, houve uma preocupação em quantificar e qualificar a perda óssea em fisiológica ou patológica. Adell *et al.* (1981), afirmam que uma perda óssea de 1,5 mm durante o processo de osseointegração concomitante ao primeiro ano de função mastigatória, e de 0,1 mm de perda óssea anual, é considerado um padrão de sucesso para implantes de plataforma hexágono externo (HE). Vários outros trabalhos relataram remodelações ósseas semelhantes para implantes com plataformas protéticas tipo hexágono externo (HE) e tipo hexágono interno (HI) (Albrektson *et al.*, 1986; Cochran *et al.*, 2009). Embora, a razão para a remodelação óssea que ocorre ao redor de implantes com plataformas HI e HE, no primeiro ano em função não fosse bem conhecida até o início da década de 90 (Adell *et al.*, 1990), atualmente sabe-se que a existência do “microgap” na interface implante e pilar protético pode ser considerada um fator importante nesse processo de remodelação óssea e formação do espaço biológico ao redor dos implantes. (Hermann *et al.*, 1997; Piattelli *et al.*, 2003; Brogгинi *et al.*, 2006; Cappiello *et al.*, 2008).

Neste contexto, as conexões cônicas, também conhecidas como conexões cone morse (CM), são consideradas superiores por apresentarem uma grande área de contato e resistência friccional na região de interface implante/pilar protético (Mangano *et al.*, 2009), direcionando as cargas ao longo eixo do implante, além de limitar o espaço de infiltração entre implante/pilar (Dibart *et al.*, 2005). Ainda, minimizam a remodelação óssea ao redor da plataforma protética, não só pela mínima e/ou nenhum microfenda entre o implante/pilar, mas também pela redução do diâmetro da plataforma de assentamento do pilar em relação ao implante, proporcionando um ganho de espessura gengival na região e levando a um aumento das defesas naturais do organismo (Gebrim, 2005).

A prevenção da infiltração bacteriana pela interface pilar/implante é um dos maiores desafios na construção dos sistemas modernos de implantes de dois estágios, minimizando as reações inflamatórias e maximizando a estabilidade do tecido ósseo ao redor da plataforma do implante (Dibart *et al.*, 2005; Harder *et al.*,

2010). Neste íterim, as empresas de implantes visam diminuir essa penetração aumentando a estabilidade da junção pilar/implante, reduzindo sua movimentação, e construindo embriamentos mecânicos no processo de travamento de alto nível de precisão, de poucos micrômetros, fator esse, importante na prevenção de infiltrados (Dibart *et al.*, 2005).

### **1.1. Selamento bacteriano em implantes com conexões protéticas tipo hexágono externo e interno**

Com o intuito de avaliar essa colonização bacteriana no interior de implantes, Quirynen; van Steenberghe (1993) realizaram um estudo em nove pacientes, analisando a presença de microrganismos nas partes internas de implantes com sistema de conexão por hexágono externo. Os autores observaram que em todos os parafusos dos pilares intermediários apresentavam quantidade significativa de microrganismos na porção mais apical e levantaram três possibilidades da origem dessa contaminação: no momento da inserção do conector protético, no momento da remoção do conector protético ou através de infiltração de fluidos microbianos pela interface implante/pilar protético. Descartaram a possibilidade de contaminação durante a inserção do conector, uma vez que foram selecionados pacientes sem bolsas, sem sangramento, ausência de fluido gengival ativo, além da irrigação dos tecidos peri-implantares com clorexidina a 2% previamente ao experimento. A contaminação do parafuso ao desparafusar o pilar intermediário também foi descartada devido aos cuidados tomados, isolando o sulco peri-implantar. A causa mais provável da contaminação interna dos implantes, na opinião dos autores, foi devido à infiltração microbiana dos tecidos peri-implantares em direção à parte interna do implante. Porém, concluíram que os bons resultados em longo prazo utilizando-se implantes Brånemark® têm mostrado que esta troca de fluidos microbianos parece ter uma relevância clínica limitada.

Em outro estudo *in vitro* para se avaliar a infiltração bacteriana, Quirynen *et al.* (1994), avaliaram as interfaces dos componentes dos implantes do sistema

Brånemark®. Trinta e dois conjuntos implante/pilar protético/coroa protética foram instalados em um meio de cultura previamente contaminado com microrganismos. Dezesesseis conjuntos foram parcialmente submersos e dezesesseis completamente submersos no meio de cultura. Após sete dias de incubação, os micro-organismos da parte interna dos componentes foram coletados e cultivados em um meio de cultura apropriado. Os micro-organismos foram encontrados em todos os conjuntos totalmente submersos ao meio de cultura contaminado e uma quantidade mais baixa, nos conjuntos parcialmente submersos, indicando que houve infiltração em todas as condições testadas.

Persson *et al.* (1996), examinaram em um estudo *in vivo* a microbiota da superfície interna de 28 implantes do sistema Brånemark®, em dez pacientes edêntulos, reabilitados com uma prótese parcial fixa, em função por um período de um a oito anos. Os autores encontraram uma microbiota heterogênea. Não puderam observar uma associação entre o tipo do pilar intermediário, a estabilidade do pilar, perda óssea, e tipo e número de micro-organismos encontrados nas amostras. Foi sugerido que essa presença de bactérias fora resultante da contaminação dos pilares intermediários e dos componentes da prótese durante o primeiro ou segundo estágio de instalação e/ou da transmissão de micro-organismos do meio bucal durante a função, após a instalação da prótese.

Guindy *et al.* (1998) investigaram a microinfiltração bacteriana entre conjunto de implantes/pilares protéticos Ha-Ti®, tanto pela interface implante/pilar protético, quanto pelo parafuso transversal de fixação. Este trabalho foi realizado em duas direções: do meio externo para o interno e no sentido contrário. Foram usadas pontas de papel absorventes para a coleta do material. Os autores observaram infiltração de bactérias num período de 24 a 120 horas, e concluíram que a principal via dessa infiltração ocorreu pelo orifício do parafuso transversal e não pela microfenda marginal; e afirmaram que mesmo sistemas de implante com um alto grau de precisão de adaptação, como o sistema Ha-Ti®, não garantem uma vedação contra microrganismos pela microfenda marginal.

Tsuge *et al.* (2008), compararam e avaliaram a adaptação marginal e tamanho da microfenda na interface implante/pilar entre pilares protéticos com anti-

rotação para sistemas de implantes do tipo hexágono externo e interno. Utilizando três sistemas de implante com conexão interna (Osseotite Certain®, Replace Select®, Camlog®) e dois com conexão externa (Osseotite External Hex®, Brånemark System MKIII®) e usando as técnicas de microscopia eletrônica de varredura, mensuraram o espaço existente entre o implante e seu respectivo pilar intermediário. Os valores encontrados do tamanho desta microfenda foram de 2,3 a 5,6  $\mu\text{m}$ . Os resultados das discrepâncias verticais e horizontais sugeriram não haver relação entre a adaptação marginal implante/pilar protético e o tipo de conexão.

Em estudos clínicos recentes, tem sido observada a contaminação das partes internas de implantes dentários com a penetração de bactérias ao longo dos componentes do implante. Do Nascimento *et al.* (2008), investigaram a infiltração bacteriana através da interface entre implantes hexágono externo e seus pilares protéticos, 10 pré-fabricados e 10 fundidos (sistema Sin®, São Paulo, Brasil). Avaliaram por 14 dias a passagem de bactérias do interior do implante para o meio externo. Os implantes foram inoculados com 3  $\mu\text{L}$  de suspensão da bactéria e os pilares conectados com torque de 32 Ncm. A parte superior de cada amostra foi selada com uma camada de gutapercha e adesivo de cianocrilato. Uma amostra de cada grupo foi eliminada do estudo por contaminação externa imediata, restando 9 em cada um deles. Foi observada infiltração bacteriana em uma amostra de cada grupo (11,1%). Os autores concluíram que se as instruções e procedimentos de fundição indicados pelo fabricante forem seguidos, os pilares pré-fabricados ou fundidos podem apresentar baixos índices de infiltração bacteriana.

Em próteses sobre implantes em função, o parafuso do pilar protético pode sofrer desajustes e favorecer a colonização bacteriana pela interface, podendo levar a perda dos implantes. Ricomini Filho *et al.* (2010), avaliaram a perda do torque e a infiltração bacteriana através da interface implante/pilar protético de sistemas de conexão cônica e hexágono externo, submetidos à ciclagem térmica e fadiga mecânica (CF). Quatro diferentes sistemas de conexão implante-pilar foram avaliados: hexágono externo com munhão universal, Cone Morse com munhão universal, Cone Morse com munhão universal com parafuso passante e conexão cônica com pilar padrão. Os conjuntos (implante/pilar) foram submetidos à ciclagem

térmica e à fadiga mecânica. Esses conjuntos foram imersos em uma cultura bacteriana e incubados a 37°C e 10% de CO<sub>2</sub> por 72 horas. Os valores do contratorque foram registrados. A infiltração bacteriana foi avaliada e os pilares foram observados por microscopia eletrônica de varredura. Todos os sistemas de pilares parafusados apresentaram maiores valores do contratorque quando submetidos à CF e todos os sistemas cônicos apresentaram infiltração bacteriana. Os resultados mostraram que não houve relação entre a perda da pré-carga e a infiltração bacteriana.

Estudos mostram que a contaminação das partes internas de implantes dentários pela penetração de bactérias ao longo da interface implante/pilar, pode causar mau odor e inflamação dos tecidos peri-implantes. Faria *et al.* (2011), avaliaram a infiltração bacteriana na interface pilar/implante, comparando 3 tipos de conexões (n = 50): Hexágono Externo (HE) e pilar tipo UCLA, Hexágono Interno (HI) e pilar tipo UCLA e Cone Morse (CM) com pilar tipo MICROUNIT. Sob condições estéreis, colônias de bactérias foram colocadas na porção apical do parafuso do pilar, que foi fixado ao implante com torque de 20 Ncm. Para avaliar contaminação externa imediata, cada conjunto foi colocado em uma placa de Petri (TSA), em seguida, foi coberto com agar solubilizado e removido da placa. Subsequentemente, cada amostra foi colocada em tubo de ensaio contendo (TSB). As placas com agar solidificados foram incubadas a 37°C por 24 horas para verificar a ocorrência de crescimento bacteriano. Os conjuntos contaminados foram eliminados do estudo. Foram realizados acompanhamentos diários durante 7 dias. Os caldos que apresentaram turvação do meio foram semeados em placas de Petri e incubados em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Ao final do período, todos os conjuntos (implante/pilar) foram separados e o conteúdo interno foi coletado com pontas de papel absorvente e foram novamente semeados para avaliação da viabilidade bacteriana. As amostras que não apresentaram viabilidade para a bactéria foram descartadas do estudo. Os autores não encontraram diferenças estatísticas entre os grupos HE (10,53%) - 4 amostras, HI (4,88%) - 2 amostras e CM (7,50%) - 3 amostras, concluindo assim que a infiltração bacteriana ocorreu similarmente nos 3 tipos de conexões protéticas, apesar das diferentes configurações das interfaces.

## 1.2. Selamento bacteriano em implantes com conexões protéticas tipo cone morse

Aloise *et al.* (2010), em um estudo *in vitro*, avaliaram a microinfiltração na interface de implantes/pilares protéticos em sistema de conexão do tipo cone morse e compararam a frequência da infiltração bacteriana. Esses dois sistemas possuem diferentes formas de ativação dos pilares: batido (Bicon®) e parafusado (Ankylos®). Vinte conjuntos pilar/implante esterilizados foram utilizados: 10 Bicon® e 10 Ankylos®. Na parte interna dos 20 implantes, foram inoculados 0,1 µL de endotoxina e então os pilares foram conectados. Estes foram totalmente imersos em 20 tubos de ensaio contendo solução nutriente (BHI). Os conjuntos foram então incubados sob condições anaeróbias em autoclave a 37°C durante 14 dias e foram avaliados diariamente para a verificação da turvação do meio que é um indicativo da presença de microinfiltração bacteriana. Os autores encontraram uma taxa de 20% (2 amostras) com infiltração bacteriana nos dois sistemas, não havendo diferenças estatísticas entre eles. Concluíram que tanto para o sistema parafusado, quanto para o sistema batido, houve o mesmo índice de infiltração bacteriana.

Deconto *et al.* (2010), em um estudo *in vitro*, compararam o selamento bacteriano na interface implante/pilar protético do sistema conexão tipo Cone Morse. Vinte e dois conjuntos de implante/pilar foram divididos em 2 grupos: S - pilares do tipo sólido e P - pilares de parafuso passante. Para cada grupo, adicionou-se 2 conjuntos para o controle positivo e negativo de contaminação. Na porção interna do implantes, foi inoculado 0,3 µL de suspensão microbiana e então os pilares foram conectados e torqueados com 20Ncm para o grupo S e 10Ncm para o grupo P, seguindo as recomendações do fabricante. As amostras eram então submersas em 5 mL de caldo BHI e incubadas em estufa a 37°C por 7 dias em acompanhamento diário para a turvação do caldo. Após a incubação, as colônias foram contadas. Os autores não encontraram diferença estatística entre os grupos P e S com relação ao número de colônias nem e ao percentual de infiltração.

A microinfiltração tem sido discutida como um fator importante que contribui para reações inflamatórias na ligação implante/pilar. Harder *et al.* (2010), avaliaram

a capacidade do selamento das microinfiltração de toxinas bacterianas na interface implante/pilar de sistemas de conexão tipo cone morse, e verificaram ainda o tamanho da microfenda marginal através da análise da microscopia electronica de varedura (MEV). Dezesesseis implantes das marcas comerciais Astra® e Ankylos® foram selecionados e divididos em dois grupos, sendo compostos de oito amostras cada. Em condições de esterilidade, e com auxílio de pinça clínica e pipeta automática foi inoculada no interior dos implantes 0,5 µL de solução endotoxina, colocados seus respectivos pilares e aplicados torque, seguindo a recomendação do fabricante, com auxílio de um torquímetro manual previamente calibrado. As amostras foram acompanhadas após 5 minutos, 24 horas, 48 horas e 168 horas. No grupo Astra® apenas três implantes não apresentaram sinais de contaminação após 5 minutos. Após 24 e 72 horas, dois implantes não mostraram sinais de contaminação e 168 horas apenas um implante não demonstrou sinal de contaminação. Enquanto no grupo de implantes Ankylos®, todos os implantes mostraram contaminação após 5 minutos. Quando a microfenda fora avaliada a partir de microscopia de varredura foram encontradas valores de 1-2 µm para o sistema Astra® e de 4 µm para o sistema Ankylos®.

Microfenda entre um pilar e um implante dentário são inevitáveis, e infiltração pode ocorrer, levando a problemas como a peri-implantite. Teixeira *et al.* (2011), em um estudo *in vitro*, avaliaram a microinfiltração bacteriana direta e indireta em implantes de dois estágios. Dividiram o experimento em implantes de conexão tipo cone morse e hexagonal interno. Para isso, vinte implantes e pilares de conexão tipo cone morse foram divididos em dois grupos: Grupo A - avaliação da microinfiltração do meio externo para dentro do implante; Grupo B - avaliação da microinfiltração da parte interna do implante para o meio externo. Além disso vinte implantes do tipo hexágono interno foram divididos em dois grupos: Grupo C - avaliação da microinfiltração da meio externo para dentro do implante; Grupo D - avaliação da microinfiltração da parte interna do implante para o meio externo. Para a avaliação do meio interno para o externo, os conjuntos tiveram sua porção interna inoculada com *Staphylococcus aureus* e foram incubados em caldo BHI estéril por uma semana. Para a avaliação da passagem das bactérias do meio externo para a porção interna, cada conjunto implante/pilar foi individualmente submerso em 4 ml

de suspensão contendo *Staphylococcus aureus* e incubados por 2 semanas. Os autores concluíram que o vazamento microbiana ocorreu em todos os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e C ou entre os grupos B e D.

Sabe-se que a geometria da interface do pilar protético influencia no risco de invasão bacteriana para a parte interna do implante, embora a contribuição de carga nesta invasão pouco foi avaliada. Koutouzis *et al.*, (2011), avaliaram *in vitro* a colonização bacteriana na interface implante/pilar com aplicação de carga com vinte e oito implantes. Estes foram divididos em 2 grupos variando o desenho das conexões cônicas dos implantes e dos componentes protéticos: 14 - Grupo 1 - conexão interna do tipo Cone Morse com pilar *standard* de 6 mm de altura e torqueados a 25Ncm e 14 - Grupo 2 - conexão interna do tipo cônica com 4 canais de encaixe, com pilar *multibase* de 4 mm de altura e torqueados a 35Ncm. O teste de carga foi realizado em um simulador de desgaste com um dispositivo confeccionado com dois cilindros, o primeiro de diâmetro maior, em aço inoxidável, no qual 10 amostras eram fixadas com resina acrílica e o segundo cilindro (antagonista), de diâmetro menor, feito de teflon era pressionado contra os conjuntos implante/pilar/prótese com uma força de 15Ncm. Um total de 500.000 ciclos foi aplicado, correspondendo, segundo o autor, a 2 anos de função clínica. Durante o teste, os dois cilindros foram submersos em 250 ml de suspensão contendo uma endotoxina. Em seguida, os pilares eram desconectados dos implantes sob condições estéreis, por intermédio de um torquímetro, e o torque de desaperto fora medido. Amostras de micro-organismos foram coletadas das roscas internas dos implantes com *swabs* (espécie de microbrush) estéreis que em seguida foram plaqueadas e incubadas para detecção e contagem da viabilidade bacteriana. Uma amostra no G1 e 12 amostras no G2 apresentaram crescimento bacteriano. Os implantes do G1 apresentaram um maior valor do torque de remoção. Os autores concluíram que a diferença no desenho das conexões pode afetar o potencial de infiltração bacteriana na interface pilar/implante sob aplicação de carga.

Na interface entre o implante e o pilar protético, muitas vezes, apresentam uma microfenda e esta, pode atuar como uma porta de entrada para as bactérias.

Em um estudo *in vitro* Assenza *et al.*, (2012), avaliaram a migração de duas espécies microbianas diferentes do interior para o exterior do conjunto de implante/pilar em três tipos de ligação diferentes. Foram utilizados para esse estudo, 30 implantes, os quais foram divididos em 3 grupos (n = 10): Grupo 1 - conexão (Trilobado) parafusada, Grupo 2 - conexão sólido (cimentado) e Grupo 3 - conexão tipo cônica interna. A parte interna da metade das amostras de cada grupo foi inoculada com suspensão da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e a outra metade com suspensão de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Os pilares protéticos foram instalados e torqueados conforme dados do fabricante. A passagem da bactéria de dentro do implante para o meio externo era determinada pela turvação do caldo. Os resultados encontraram contaminação bacteriana em 6 de 10 amostras no grupo 1, em nenhuma amostra do grupo 2 e em 1 amostra no grupo 3. Diferenças estatísticas foram observadas entre o grupo 1 e 3, e entre o grupo 1 e 2. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre o grupo 2 e 3. Os autores concluíram que o presente estudo confirmou os resultados precedentes quanto ao vedamento hermético dos conjuntos pilares/implantes cimentados, a baixa permeabilidade bacteriana das conexões cônicas e a alta incidência de infiltração bacteriana em conexões parafusadas.

A prevenção da infiltração microbiana na junção implante/pilar é um grande desafio para a construção de implantes de duas fases, a fim de minimizar as reações inflamatórias e para maximizar a estabilidade do implante. D'Ercole *et al.* (2014), em um estudo *in vitro*, avaliaram a contaminação bacteriana entre implantes com conexões de hexágono externo e implantes de conexões cônicas. Um total de 20 conjuntos pilar/implante foi utilizados nessa pesquisa, divididos em 2 grupos (n = 10): Grupo 1 - implantes de conexão cônica com pilares parafusados e Grupo 2 - implantes de conexão de hexágono externo com pilares parafusados. A parte interna de 5 implantes por grupo foi inoculada por suspensão de *Pseudomonas aeruginosa* (PS), e os 5 implantes restantes de cada grupo foi inoculada com suspensão de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA). A verificação da passagem das bactérias do interior do conjunto para o meio externo era avaliada pela turvação do caldo. No Grupo 1, 3 de 5 amostras apresentaram infiltração bacteriana com inoculação de PS, e 2 de 5 amostras apresentaram infiltração com inoculação com

AA, num total de 5 amostras infiltradas. No Grupo 2, a contaminação bacteriana foi encontrada em 4 de 5 amostras inoculadas com PS e 4 de 5 amostras inoculada com AA, gerando um total de 8 conjuntos com microinfiltração. Os autores relatam que os dados apresentados confirmam os relatos de alta permeabilidade de infiltração bacteriana dos implantes com pilares retidos por parafusos. Porém, foram observadas menores taxas de infiltração nas conexões do tipo cone morse, embora não apresentem significância estatística.

### **1.3. Influência do torque de travamento do pilar protético no selamento bacteriano**

Uma análise sobre o torque empregado para a colocação dos intermediários, foi realizado por Goheen *et al.* (1994), comparando o uso de um torquímetro calibrado com o uso do torque manual. Verificaram que o torque manual é três vezes menor que o torque mecânico. O seu significado clínico é muitas vezes negligenciado pelos profissionais que utilizam os intermediários sem o devido torque indicado pelo fabricante. Clinicamente, esta observação pode favorecer um aumento da interface implante/pilar protético quando for usado o aperto manual, permitindo assim troca de fluidos e bactérias entre a parte interna do implante e o meio bucal.

Microinfiltração pode ocorrer na interface implante/pilar protético em implantes osteointegrados e pode causar uma inflamação de tecidos peri-implante. Gross *et al.* (1999), avaliaram o grau de microinfiltração de fluidos na interface entre o pilar e o implante em 5 sistemas disponíveis no mercado, variando o torque. Os sistemas de implante testados pelos autores foram: Spline (Sulzer®), ITI (Straumann®), CeraOne (Nobel®), Steri-Oss (Steri-Oss®) e 3i (Implant Innovations®), sendo testadas três amostras para cada grupo. Os implantes e seus respectivos pilares foram apertados com auxílio de um torquímetro manual e torques de 10, 20Ncm e toques de 20 a 35Ncm recomendados pelo fabricante. Os implantes foram inseridos em tubos de silicone com pressão controlada, selados e preenchidos por corante de baixo peso molecular. A passagem de fluido na interface entre o pilar e o implante foi medida em diferentes tempos: 5, 20 e 80 minutos. Dependendo do sistema a microinfiltração

diminuiu significativamente com o aumento do torque. No período de vinte minutos, o ITI (Straumann®), apresentou maior infiltração. Nos outros tempos de avaliação, a infiltração foi semelhante para todos os sistemas.

O parafuso do pilar protético de implantes tendem a afrouxar sob condições clínicas. Weiss *et al.*, (2000), compararam a perda de resistência ao torque após consecutivos fechamentos em diferentes sistemas implante/pilar protético. Sete sistemas foram testados: 1) ITI Strauman - cone morse; 2) Alph Bio - cone morse; 3) Spline Calcitek - *Spline*; 4) Integral Calcitek - interface de borda plana; 5) Steri-oss straight - hexágono externo; 6) Omniloc Calcitek - octógono interno; 7) Brånemark Nobel - hexágono externo. A aplicação do torque foi realizada com torquímetro digital pelo mesmo operador. Para cada pilar, o teste foi feito da seguinte maneira: no parafuso do pilar foi aplicado um torque de 20Ncm, mantido por 5 segundos. Após 10 segundos, o pilar foi desaparafusado e o torque de remoção mensurado. Em seguida, procedeu-se novamente o aperto. Os ciclos de torque e contratorque foram repetidos por duzentas vezes. Diminuição progressiva dos valores de torque de remoção foi obtida em todos os sistemas. Os valores de perda de torque de remoção registrados foram: 1) 0,5Ncm (ITI Strauman); 2) 0,6Ncm (Alph Bio); 3) 31,2Ncm (Spline Calcitek); 4) 2,6Ncm (Integral Calcitek); 5) 3,4Ncm (Steri-oss); 6) 6,5Ncm (Omniloc Calcitek); 7) 6,2Ncm (Brånemark Nobel). Concluíram que repetidos torque e contratorques nos pilares podem causar uma perda da retenção do, parafuso variando, entre os sistemas de implantes.

Silva-Neto *et al.* (2012) realizaram estudo *in vitro* relacionando a microinfiltração bacteriana na interface entre pilares e implantes de hexágono externo com diferentes torques de aperto dos componentes. Na primeira fase do experimento, 9 conjuntos de pilares e implantes (n = 3) foram inoculados com diferentes volumes da suspensão: V0,5 - 0,5 µl; V1,0 - 1,0 µl e V1,5 - 1,5 µl; e o torque recomendado pelo fabricante foi aplicado. Na segunda fase, 27 conjuntos foram inoculados com 0,5 µL da suspensão bacteriana e divididos em 3 grupos (n = 9) de acordo com o torque de aperto: T10 - 10Ncm, T20 - 20Ncm e T32 - 32Ncm. As amostras foram imersas em caldo (BHI) e incubadas durante 14 dias. Nesse período, a turvação do caldo foi avaliada diariamente e ao final do período, a

viabilidade das bactérias foram testadas. Os resultados encontrados durante a primeira fase foram que após 24 horas, todos os conjuntos dos grupos V1,0 e V1,5 apresentaram turvação do caldo, que foi interpretado pelos autores como transbordamento da suspensão. Sendo assim, na segunda fase do experimento, foi padronizada a utilização de 0,5 µl da suspensão. Durante as primeiras 24 horas, 2 amostras do grupo T10 (20%) e 1 amostra do grupo T20 (10%) apresentaram turvação do caldo indicando a microinfiltração bacteriana. Nenhuma amostra do grupo T32 apresentou turvação do meio. Não houve diferença estatística entre os grupos. Os autores concluíram que os diferentes torques não influenciaram estatisticamente a microinfiltração bacteriana, no entanto, apenas as amostras com torque de 32Ncm não apresentaram nenhuma contaminação.

#### **1. 4 Justificativa**

Desta forma, observamos que o tipo de conexão protética, bem como o torque exercido na fixação do parafuso do pilar protético, podem influenciar demasiadamente o “*microgap*” existente entre a interface implante/pilar (Binon P, 2000). Entretanto, estudos mostram que quando o torque de fixação dos pilares protéticos excede os valores estabelecidos pelos fabricantes, deformações podem ocorrer na plataforma do implante e desta forma comprometer a longevidade da reabilitação protética (González *et al.*, 2014). Neste contexto, um novo modelo de implante foi lançado no mercado nacional, no qual pode ser submetido a uma maior força de travamento do pilar sem exercer qualquer deformação em sua plataforma (Elias *et al.*, 2015), todavia não encontramos na literatura estudos que realizaram ensaios de contaminação do “*microgap*” em diferentes modelos de implantes.

## 2. PROPOSIÇÃO

O objetivo desse trabalho foi por meio de um estudo microbiológico *in vitro* avaliar a infiltração bacteriana na interface entre a plataforma de dois modelos de implantes, hexágono externo e cone morse, fabricados com diferentes titânios (TiGr4 e TiGr4 Hard®) e os seus correspondentes componentes protéticos, que foram submetidos a dois diferentes torques no parafusos de fixação, 20 Ncm e 30 Ncm, respectivamente.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Neste trabalho foram usados 4 modelos de implantes da empresa Conexão® que foram divididos em 4 grupos (Figura 1 e Tabela 1). Nos grupos 1 (n=10) e 2 (n=10) foram incluídos implantes do sistema de conexão tipo hexágono externo e nos grupos 3 (n=10) e 4 (n=10) foram incluídos implantes do sistema de conexão tipo cone morse. Nos grupos 1 e 3, foram incluídos sistemas de implantes fabricados com titânio GR4 e por outro lado nos grupos 2 e 4 foram incluídos implantes fabricados com titânio Gr4 Hard®. Dentro de cada grupo de implantes foram utilizados seus respectivos pilares protéticos universais tipo UCLA e seus respectivos parafusos de fixação (Figura 2). O material foi fornecido pela empresa em suas embalagens originais, já estéreis e os protocolos de torque foram seguidos conforme as normas do fabricante. Previamente, foi realizado um ensaio-piloto para que a metodologia proposta pudesse ser avaliada. A partir deste ensaio, foram especificados o método de contaminação a ser utilizado, o método de controle da contaminação externa, o mecanismo de fixação dos implantes, o torque empregado e o período necessário para leitura dos resultados.



Figura 1. Modelos dos implantes submetidos aos teste.  
CM - TiGr4 convencional, CM - TiGr4 Hard, HE - TiGr4 Hard, HE - TiGr4 convencional



Figura 2: Pilares protéticos universais tipo UCLA e seus respectivos parafusos de fixação.

**TABELA 1** -Descrição dos implantes dos grupos experimentais do presente estudo

Grupos	Tipo de conexão	Tipo de Titânio	Aparafusamento	Modelo do Implante	Código	Lote
Grupo 1	Hexágono Externo	TiGr4 convencional	20Ncm	Master Double®	51571099	151968
Grupo 2	Hexágono Externo	CP TiGr4 Hard®	30Ncm	Easy Grip®	52271099	152039
Grupo 3	Cone Morse	TiGr4 convencional	20Ncm	AR Morse Expand®	52471099	150437
Grupo 4	Cone Morse	CP TiGr4 Hard®	30Ncm	AR Torq®	52571099	151490

### 3.2. DESENHO EXPERIMENTAL

Todos os procedimentos foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar previamente desinfetada e recoberta com campo estéril, estando o operador devidamente paramentado para a manutenção do meio estéril. Além disso, todos os procedimentos foram realizados ao redor de um bico de Bunsen instalado no interior do fluxo. Os implantes foram removidos de suas embalagens fornecidas pelo fabricante (Conexão® Sistemas de Prótese-Arujá/SP) e fixadas em uma base de prova previamente esterilizada (Figura 3). Esta base de prova foi confeccionada em resina acrílica e já apresentava a dimensão de inserção do implante. Em todos os grupos, os implantes foram fixados nesta base de prova com o auxílio das chaves de instalação de cada sistema, até apresentarem resistência. Posteriormente, todos receberam com o auxílio de uma micropipeta (Eppendorf, Alemanha) 8 uL de meio

de cultura líquido LB (Luria-Bertani) estéril na porção interna do implante (Figura 4). Posteriormente, com auxílio de pinças clínicas o componente protético foi conectado ao implante e aplicado o torque preconizado pelo fabricante conforme descrito na Tabela 1. Para execução do torque final do pilar protético à plataforma do implante, o mesmo foi estabilizado a uma pinça hemostática para o mesmo não apresentasse instabilidade durante o procedimento (Figura 5). Para aplicação do torque no parafuso protético foi utilizado a chave 1,2 do mesmo fabricante acoplada a um torquímetro número de série SN:0713141 devidamente aferido pelo fabricante (Figura 6 e 7). Tanto os suportes como a base, as pinças clínicas e as pinças hemostáticas foram esterilizados em autoclave, sempre usados de maneira asséptica para evitar contaminação na porção interna e externa dos implantes.

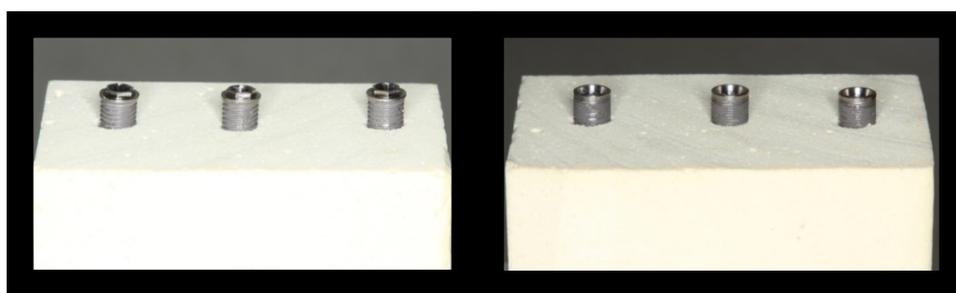


Figura 3. Implantes fixados em sua base de prova de resina acrílica.

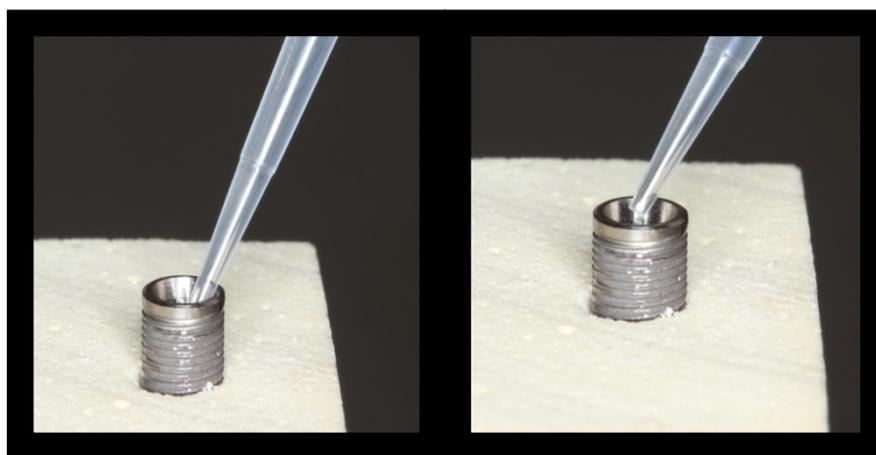


Figura 4. Inserção de 8  $\mu$ L de meio de cultura líquido LB (Luria-Bertani) estéril na porção interna do implante.

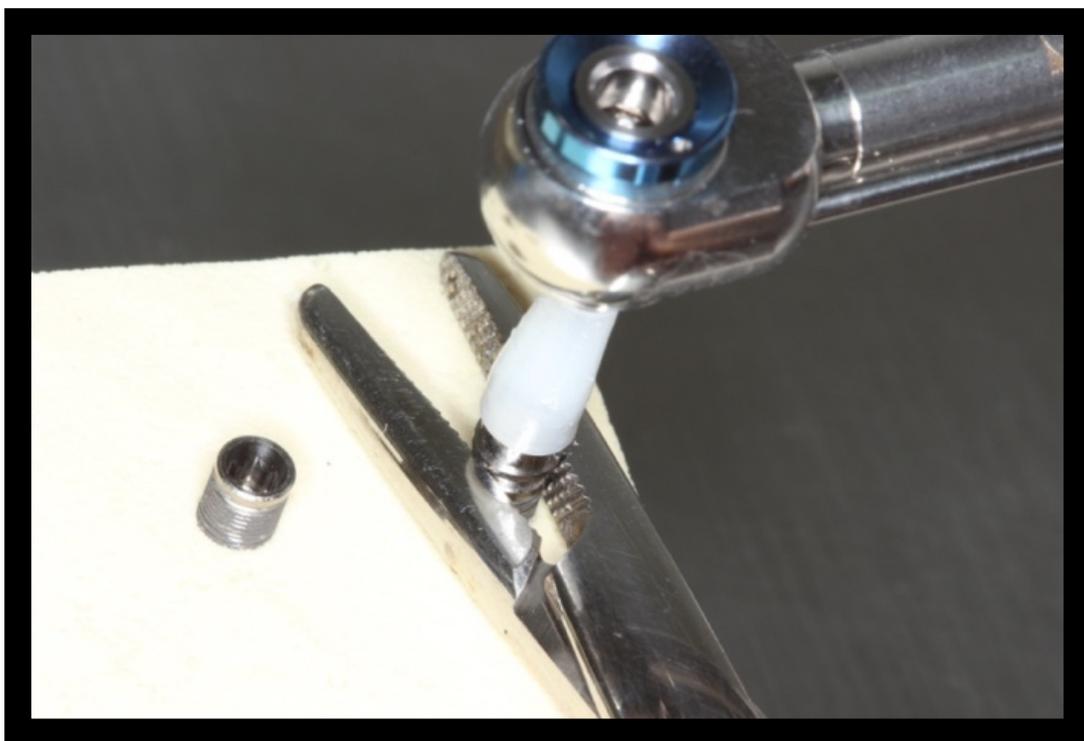


Figura 5. Conjunto fixado a uma pinça hemostática para que o mesmo apresentasse estabilidade durante o procedimento.



Figura 6. Torquímetro utilizado no delineamento.



Figura 7. Torquímetro usado na pesquisa foi aferido pela empresa Conexão com certificação de aferição.

Com o auxílio de uma pinça clínica, o conjunto implante e pilar protético foram removidos de sua base de prova e foram transferidos para tubos de plásticos individuais contendo 150 uL de meio de cultura líquido LB contendo  $1 \times 10^6$  células de *Escherichia coli* (ATCC 25922) (Figura 8).



Figura 8. Conjunto implante/conector protético inoculado em tubo plástico contendo  $1 \times 10^6$  células de *Escherichia coli*.

O volume do meio de cultura de *Escherichia coli* no interior dos tubos plásticos foi padronizado para que não houvesse extravasamento deste meio para dentro do pilar protético. Posteriormente as amostras foram incubadas em estufa bacteriológica à 37°C durante 48 horas. Após este período, o conjunto implante/conector protético foram transferidos para um novo tubo contendo 150 uL de solução de dicluginato de clorexidina 2% durante 5 minutos afim de promover uma descontaminação da superfície externa do implante e evitar qualquer contaminação cruzada. Em seguida, os corpos de prova foram inseridos novamente na base de prova previamente esterilizado e o contra torque foi feito da mesma forma descrita anteriormente para o torque final de instalação. Após desacoplar o conector protético de cada um dos implantes dos 4 grupos experimentais, o meio de cultura líquido que fora adicionado no interior dos implantes foram transferidos por meio de micropipetas (Eppendorf, Alemanha) e plaqueados em ágar LB. As amostras foram então incubadas em estufa bacteriológica à 37°C durante 24 horas (Figura 9). Após este período de 24hs, o número de unidades formadoras de colônia (UFC) em cada uma das amostras foram contabilizadas por meio de um contador de colônias (Stuart Scientific – USA).



Figura 9. Amostras incubadas em estufa bacteriológica à 37°C durante 24 horas.

Como controle positivo e negativo dos experimentos, os meios de cultura LB estéril que fora adicionados no interior dos implantes nos 4 grupos experimentais, bem como o meio de cultura contaminado com *E Escherichia.coli* foram transferidos para meio ágar LB afim de constatar a ausência de contaminação e ou a viabilidade celular destes meios de cultura no momento dos ensaios experimentais.

### **3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

O número médio de UFC de cada um dos grupos foram contabilizados e posteriormente as diferenças significativas entre os grupos foram exploradas por meio do teste Kruskall-Wallis e Teste Dunn. As diferenças significativas em relação a presença ou não de contaminação do interior do implante foram exploradas por meio do teste exato de Fisher. A significância estatística foi estabelecida em 5%.

## 4. RESULTADOS

Após o período de incubação observamos que não houve nenhum crescimento bacteriano nas placas de ágar LB provenientes do meio de cultura que foram adicionados dentro da porção interna dos implantes e que em 100% dos casos houve crescimento da espécie *E.coli* nas placas de ágar LB provenientes do meio de cultura contaminado no qual o conjunto implante/pilar foi inserido.

A tabela 2 apresenta a frequência de corpos de prova que se apresentavam contaminados internamente com a espécie *E.coli* nos grupos experimentais. Observamos uma diferença significativa em relação a presença ou ausência de contaminação interna entre os 4 grupos experimentais ( $p < 0,05$ ), onde 100%, 60%, 50% e 0% das amostras estavam contaminadas no grupo de conexão HE - TiGr4 (20Ncm), HE - TiGr4 Hard (30Ncm), CM - TiGr4 (20Ncm) e CM - TiGr4 Hard, respectivamente.

**Tabela 2.** Número (percentual) de corpos de prova que estavam ou não colonizados internamente pela espécie *E.coli* 24hs após incubação

	Grupos experimentais				*valor p
	HE TiGr4	HE TiGr4 Hard	CM TiGr4	CM TiGr4 Hard	
Presença	10 (100%)	6 (60%)	5 (50%)	0 (0%)	0,001
Ausência	0 (0%)	4 (40%)	5 (50%)	10 (100%)	

HE, hexágono externo; CM, cone morse; \* teste exato de Fisher.

A média e o desvio padrão do número de UFC presentes nos 4 grupos experimentais estão apresentadas na Figura 10. Com exceção do grupo 4 (CM TiGr4 Hard), todos os demais grupos apresentaram UFC presentes interior do implante após o período de incubação de 24 hs. As maiores médias de UFC foram

encontradas para o grupo HE TiGr4 ( $1137 \pm 445$ ) em comparação aos grupos HE TiGr4 Hard ( $351 \pm 414$ ), CM TiGr4 ( $66,3 \pm 88,3$ ) e CM TiGr4 Hard ( $0 \pm 0$ ), sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os dois grupos de CM (grupos 3 e 4), entretanto o grupo CM TiGr4 Hard apresentou uma média de UFC significativamente inferior a média do grupo HE TiGr4 Hard ( $p < 0,05$ ). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos HE TiGr4 Hard e CM TiGr4 ( $p > 0,05$ ).

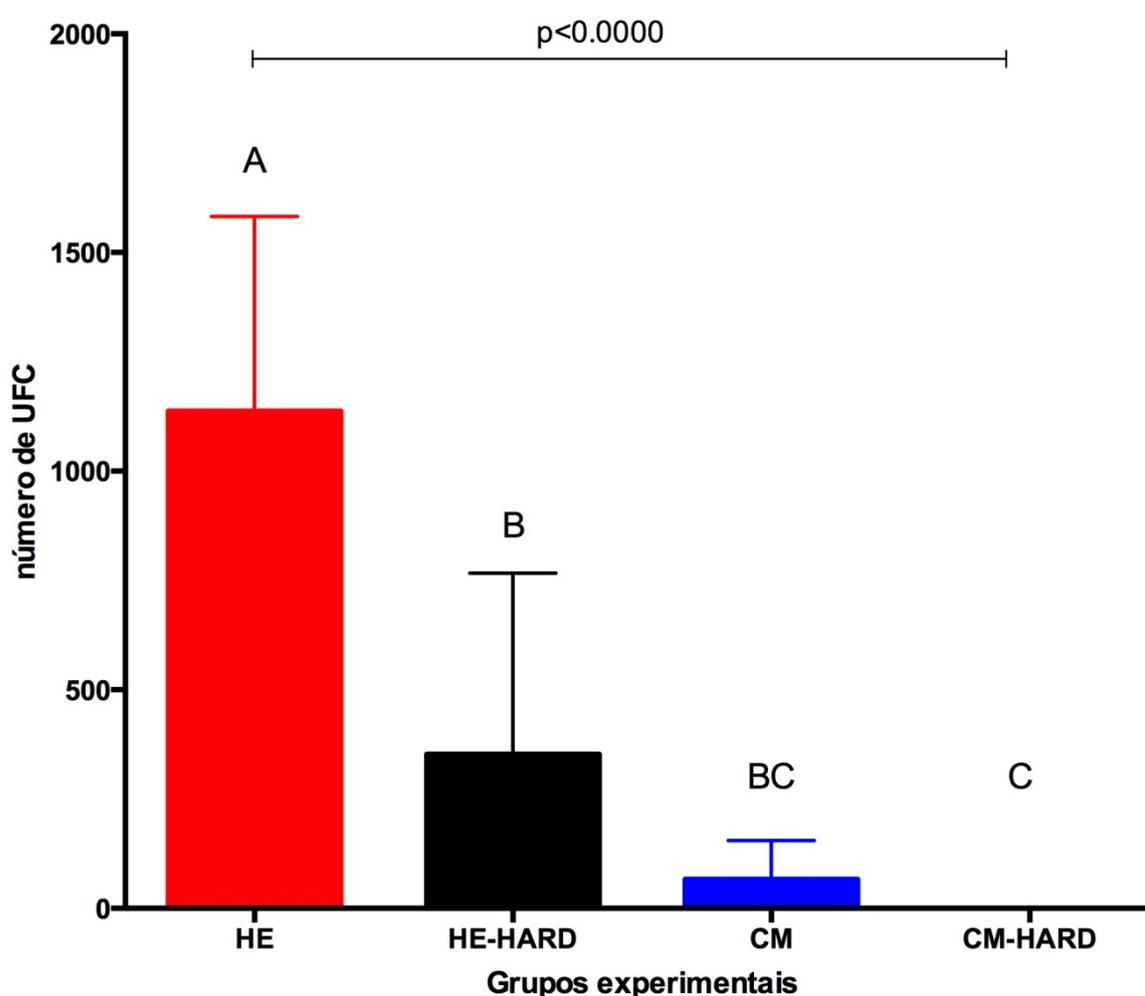


Figura 10. Número médio e o desvio padrão do número de UFC presentes nos 4 grupos experimentais após o período de 24hs de incubação. As diferenças significativas foram analisadas pelo teste Kruskal-Wallis e Teste Dunn (letras apresentam as diferenças estatísticas entre os grupos experimentais). HE, exágono externo; CM, cone morse; \* teste Qui-quadrado.

## 5. DISCUSSÃO

A infiltração bacteriana na interface implante pilar protético é um fator a ser considerado na sobrevida dos implantes, visto que já está bem estabelecido na literatura que pode servir de reservatório de periodonto patógenos, bem como no perfil de formação do espaço biológico ao redor dos implantes dentais (Bisognin *et al.*, 2010). Após a exposição do implante ao meio bucal, a instalação da prótese, e esta, submetida à função, uma aderência da mucosa ao pilar protético se torna necessária para proteção da osseointegração (Berglundh *et al.*, 1991; Abrahamsson *et al.*, 1996) e que fontes de infecção provenientes do implante podem influenciar nesta aderência dos tecidos moles (Abrahamsson *et al.*, 1997; James *et al.*, 2000; Piatteli *et al.*, 2003; Sukekava, Silva, 2010). Os implantes de dois estágios cirúrgicos possuem uma interface que se resume na distância entre o implante e o componente protético. Segundo Callan *et al.* (2005), essa microfenda é geralmente menor que 10  $\mu\text{m}$ , mas pode haver uma grande variação conforme o sistema do implante. Por outro lado, o tamanho dos micro-organismos apresentam uma grande variação, sendo geralmente menor do que 2  $\mu\text{m}$ . Assim, pelas dimensões dos microrganismos apresentadas, a ocorrência de infiltração se torna altamente possível. Além disso, a carga oclusal aplicada sobre os implantes pode acarretar em um aumento no tamanho da microfenda e assim aumentar o potencial de infiltração bacteriana e percolação de fluídos. Por estes motivos, os estudos da percolação bacteriana entre o meio externo e o interior do implante são necessários, afim de se entender o comportamento deste selamento bacteriano nos diferentes sistemas de implantes e modelos de conexões protéticas. Desta forma, observamos em nosso estudo que o modelo de conexão protética (hexágono externo ou cone morse) e o torque que estes componentes podem ser submetidos (20Ncm ou 30Ncm) influenciam na contaminação interna dos implantes dentais.

Os resultados do presente estudo corroboram com estudos anteriores nos quais observa-se um melhor selamento na interface plataforma do implante e pilar protético de implantes cone morse quando comparados por implantes do tipo hexágono externo (Pimentel *et al.*, 2010), o que foi demonstrado na comparação

entre os grupos 1 e 3, onde apenas a conexão protética do implante foi avaliada (Tabela 2 e Figura 10). Silva-Neto *et al.*, (2012), realizaram uma revisão de literatura sobre a contaminação interna dos implantes dentais e após selecionarem nove estudos sobre o tema observaram que os implantes de hexágono externo apresentaram maiores quantidades de contaminação, variando de 10 a 100% de contaminação dentre as amostras testadas. Segundo Hermann *et al.* (2000) e Piattelli *et al.* (2001) a interface entre os conectores protéticos e o sistema de implantes HE são os mais propensos a perfusão de fluídos e bactérias. A microfenda desta interface neste modelo de sistema é considerada a maior, podendo variar de 1 a 49  $\mu\text{m}$ , e desta forma formando um nicho retenção de biofilme bacteriano. Por outro lado, Dibart *et al.* (2005), testaram *in vitro* a capacidade de vedação em um sistema de implante, tipo conexão cone morse, de impedir a infiltração de bactérias bucais. Concluíram que o contato cônico entre o implante e o pilar intermediário decorrente do formato desta vedação foi hermético no que se refere à invasão bacteriana, mesmo existindo uma microfenda de 500 $\mu\text{m}$  na interface.

Quando comparamos o tipo de titânio, seja ele o TiGr4 convencional ou TiGr4 Hard® observamos que para ambos os modelos de conexão, hexágono externo ou cone morse, o fato de poder exercer um maior torque de travamento do pilar protético no titânio tipo TiGr4 Hard® influenciou na prevalência bem como nos níveis de contaminantes. Maiores níveis de UFC de *E.coli* e de prevalência de contaminação foram observados nos implantes tipo TiGr4 convencional, independentemente do tipo de conexão protética. Segundo o fabricante, o titânio TiGr4 Hard® é obtido por meio de um processo envolvendo uma modificação na tempera do processamento do pino de titânio (Viana *et al.*, 2011). A tempera é um resfriamento brusco que resultará na obtenção de uma microestrutura que garante ao material uma maior resistência mecânica e dureza, desse modo o fabricante pode preconizar 30Ncm de torque no parafuso sem que a plataforma do implante seja danificada (Chiaverini, 1986). Os dados do presente estudo corroboram com estudos prévios que observaram um menor número de contaminantes quando maiores torques foram aplicados no vedamento do pilar protético à plataforma do implante (Gross *et al.*, 1999; Alves *et al.*, 2014). Em estudo com infiltração de corante na interface entre o pilar e o implante, variando o torque (10, 20 Ncm e o recomendado

pelo fabricante), Gross *et al.*, (1999), observaram que a microfenda diminuiu, significativamente, com o aumento do torque em todos os sistemas.

Assim sendo, tais resultados reafirmam a ideia de que os encaixes protéticos do tipo cone morse associados a plataformas nos quais podem ser submetidos maiores torques de travamento do pilar protético podem oferecer um melhor selamento bacteriano. Desta forma, podemos hipotetizar que a desejável solda fria entre os componentes nos sistemas cone morse associado ao maior torque de travamento pode ter impedido a migração bacteriana da parte externa do implante para a parte interna e desta forma o caminho inverso (interior do implante para o exterior) também poderia ter o mesmo resultado. Entretanto, novos estudos precisam ser realizados para confirmar tais afirmações.

## **6. CONCLUSÃO**

Implantes de plataforma cone morse apresentam uma menor infiltração bacteriano quando comparados a implantes do tipo hexágono externo. O aumento do torque de travamento do pilar protético apresentou uma grande influência no selamento bacteriano do implante.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrahamsson I, Berglundh T, Wennström J, Lindhe J. The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1996 Sep; 7(3): 212-9.

Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. The mucosal barrier following abutment dis/reconnection: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1997 Aug; 24(8): 568-72.

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

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

Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1986; 1(1): 11-25.

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

Alves CCD, Carvalho PSP, Martinez FE. In vitro microbiological analysis of bacterial seal at the implant/abutment interface using two morse taper implant models. *Braz Dental J.* 2014; 25(1): 48-53.

Assenza B, Tripodi D, Scarano A, Perrotti V, Piattelli A, Iezzi G, D' Ercole S. Bacterial leakage in implants with different implant-abutment connections: an in vitro study. *J Periodontol.* 2012 Apr; 83(4): 491-7.

Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsem P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral implants Res.* 1991 Apr-Jun; 2(2): 81-90.

Binon PP. The external hexagonal interface and screw-joint stability: a primer on threaded fasteners in implant dentistry. *Quintessence of Dental Technology (QDT);* 2000 Feb; 23; 91.

Bisognin EDC, Dias ECLCM, Soares GA, Junior Vidigal GM Jr. Avaliação da adaptação e capacidade de infiltração microbiana na interface implante/pilar. *Rev Implantnews* 2010; 7(6): 801-10.

Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK, Buser D, Mellonig JT, Cochran DL. Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *J Dent Res*. 2003 Mar; 82(3): 232-7.

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

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

Cappiello M, Luongo R, Di Iorio D, Bugea C, Cocchetto R, Celletti R. Evaluation of peri-implant bone loss around platform-switched implants. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008 Aug; 28(4): 347-55.

Caspar RC, Barros VM, Simão ABR, Vaz RR, Oliveira JCS, Discacciati JAC, Guimarães MM. Reabilitação Estética e Funcional Utilizando Implante Cone Morse: Relato de caso clínico. *Rev Cient SOMGE* 2012; 1(1) : 44-50.

Chiaverini V. *Tecnologia Mecânica*. 2a ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 1986.

Cochran DL, Nummikoski PV, Schoolfield JD, Jones AA, Oates TW. A prospective multicenter 5-year radiographic evaluation of crestal bone levels over time in 596 dental implants placed in 192 patients. *J Periodontol*. 2009 May; 80(5): 725-33.

D' Ercole S, Scarano A, Perrotti V, Mulatinho J, Piattelli A, Iezzi G, Tripodi D. Implants with internal hexagon and conical implant-abutment connections: an in vitro study of the bacterial contamination. *J Oral Implantol*. 2014 Feb; 40(1): 30-6.

Deconto MA, Salvoni AD, Wassall T. In vitro microbiological bacterial seal analysis of the implant/abutment connection in morse taper implants: a comparative study between 2 abutments. *Implant Dent*. 2010 Apr; 19(2): 158-66.

Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. In Vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005 Sep; 20(5): 732-7.

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

Elias CN, Fernandes DJ, Resende CR, Roestel J. Mechanical properties, surface morphology and stability of a modified commercially pure high strength titanium alloy for dental implants. *Dent Mater*. 2015 Feb; 31(2): 1-13.

Faria R, May LG, Vasconcellos DK, Volpato CAM, Bottino MA. Evaluation of the bacterial leakage along the implant-abutment interface. *J Dent Implants*. 2011 Jul-Dec; 1(2): 51-7.

Faverani LP, Ferreira GR, Jardim ECG, Okamoto R, Shinohara EH, Assunção WG, Garcia IR Jr. Implantes osseointegrados: evolução sucesso. *Salusvita* 2011; 30(1): 47-58.

Gebrim L. Design dos implantes osseointegrados. *Rev Implant News*. 2005 Nov/Dez; 2(6): 578-9.

Goheen KL, Vermilyea SG, Vossoughi J, Agar JR. Torque generated by handheld screwdrivers and mechanical torquing devices for osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1994 Mar-Apr; 9(2): 149-55.

González C, Shimizu RH, Herman C, Sartori JAM. Efeito de diferentes níveis de torques na resistência ao destorção do parafuso e dos pilares de duas peças em junções cone-morse. Estudo in vitro. *Rev. Implant News*, 2014; 11(4): 444-50.

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

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

Hänggi MP; Hänggi DC; Schoolfield JD; Meyer J; Cochran DL; Herman DL. *J Periodontol*. 2005 May; 76 (5): 791-802.

Harder S, Dimaczek B, Açil Y, Terheyden H, Freitag-Wolf S, Kern M. Molecular leakage at implant-abutment connection - in vitro investigation of tightness of internal conical implant-abutment connections against endotoxin penetration. *Clin Oral Invest* 2010 Aug; 14(4): 427-32.

Harder S, Quabius ES, Ossenkop L, Kern M. Assessment of lipopolysaccharide microleakage at conical implant-abutment connections. *Clin Oral Invest* 2012; 16: 1377-1384.

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.

Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Cochran DL. Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol.* 2000 Sep; 71(9): 1412-24.

Koutouzis T, Wallet S, Calderon N, Lundgren T. Bacterial colonization of the implant-abutment interface using an in vitro dynamic loading model. *J Periodontol.* 2011 Apr; 82(4): 613-8.

Lopes CA, Rezende EEC, Fernandes SM, Weinfeld I. Infiltração bacteriana na interface implante/pilar: considerações ao implantodontista. *Rev. Gaúcha Odontol.* 2010 Abr-Jun; 58(2) :239-42.

Lorenzoni M, Pertl C, Zhang K, Wegscheider WA. In-patient comparison of immediately loaded and non-loaded implants within 6 months. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Jun; 14(3): 273-9.

Mangano C, Mangano F, Piattelli A, Iezzi G, Mangano A, La Colla L. Prospective clinical evaluation of 1920 Morse taper connection implants: results after 4 years of functional loading. *Clin Oral Implants Res.* 2009 Mar; 20(3): 254-61.

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

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

Mombelli A, Decaillet F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol* 2011;38: 203-213.

Norton MR. Assessment of cold welding properties of the internal conical interface of two commercially available implant systems. *J Prosthet Dent.* 1999 Feb; 81(2): 159-66.

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

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

Piattelli A, Vrespa G, Petrone G, Iezzi G, Annibali S, Scarano A. Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *J Periodontol.* 2003 Mar; 74(3): 346-52.

Pimentel GHD, Martins LM, Ramos MB, Lorenzoni FC, Queiroz AC. Perda óssea Peri-implantar e diferentes sistemas de implantes. *Innov Implant J, Biomater Esthet* 2010 Maio-Ago; 5(2): 75-81.

Quirynen M, Bollen CM, Eyssen H, van Steenberghe D. Microbial penetration along the implant components of the Brånemark system. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res.* 1994 Dec; 5(4): 239-44.

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

Ricomini Filho AP, Fernandes FS, Straioto FG, da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Preload loss and bacterial penetration on different implant-abutment connection systems. *Braz Dent J.* 2010; 21(2): 123-9.

Silva RC, Filho GH, Goiato CM. Perda óssea sobre implante. *Rev Odontol Araçat.* 2011 Jan-Jun; 32(1): 32-6.

Silva-Neto JP, Prudente MS, Carneiro Tde A, Nóbilo MA, Penatti MP, Neves FD. Micro-leakage at the implant-abutment interface with different tightening torques in vitro. *J Appl Oral Sci.* 2012 Sep; 20(5): 581-7.

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

Sukekava F, Silva CO. Espaço biológico peri-implantar. In: Sallum AW, Cicarelli AJ, Querido MRM, Bastos Neto FVR. *Periodontologia e Implantodontia: soluções estéticas e recursos clínicos.* Nova Odessa: São Paulo: Napoleão; 2010. Cap 15, p. 261-71.

Teixeira W, Ribeiro RF, Sato S, Pedrazzi V. Microleakage into and from two-stage implants: an in vitro comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011 Jan-Feb; 26(1): 56-62.

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

Viana DR, Lottermann LJ, Spohr CB. Transferência de calor no processo de têmpera. SIEF - Semana Internacional das Engenharias da FAHOR - Faculdade Horizontina RS, 2011.

Weiss EI, Kozak D, Gross MD. Effect of repeated closures on opening torque values in seven abutment-implant systems. *J Prosthet Dent*. 2000 Aug; 84(2): 194-9.

Zipprich H, Weigl P, Lauer HC, Lange B. Micro-movements at the implant-abutment interface: measurements, causes and consequences. *Implantologie*. 2007; 15: 31-45.

Zanatta FB, Ravanello F, Antoniazzi RP, Rösing CK. Tratamento da Peri-implantite: Uma revisão de literatura sistemática. *R. Periodontia* 2009 Dez; 19(4): 111-120.