



João Paulo da Silva Neto



Avaliação da microinfiltração bacteriológica na interface pilar/implante em Implantes Hexágono Externo com diferentes torques

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínica Odontológica

Uberlândia - 2009

João Paulo da Silva Neto

Avaliação da microinfiltração bacteriológica na interface pilar/implante em Implantes Hexágono Externo com diferentes torques

Orientador: Prof.Dr. Flávio Domingues das Neves

Co-Orientador: Prof.Dr. Mário Paulo Amante Penatti

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínica Odontológica

Banca Examinadora:

Prof.Dr. Flávio Domingues das Neves

Prof.Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto

Prof.Dr. Gustavo Augusto Seabra Barbosa

Uberlândia - 2009

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586a Silva Neto, João Paulo da, 1985-

Avaliação da microinfiltração bacteriológica na interface pilar/
implante em implantes hexágono externo com diferentes
torques [manuscrito] / João Paulo da Silva Neto. 2009.

89 f. : il.

Orientador:.Flávio Domingues das Neves.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Inclui bibliografia.

1. Implantes dentários - Teses. I. Neves, Flávio Domingues das.
II.Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação
em Odontologia. III. Título.

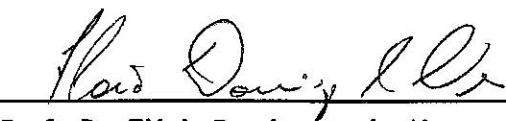
CDU: 616.314-089.843

 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

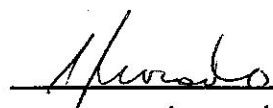
**RELATÓRIO DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DE MESTRADO DE
JOÃO PAULO DA SILVA NETO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA.**

Às nove horas do dia quinze de dezembro do ano de dois mil e nove, reuniu-se a Comissão Julgadora indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia/UFU, para o julgamento da Dissertação de Mestrado apresentada pelo candidato JOÃO PAULO DA SILVA NETO com o título: *Avaliação da Microinfiltração Bacteriológica na Interface Pilar/Implante em Implantes Hexágono Externo com diferentes torques*. O julgamento do trabalho foi realizado em sessão pública compreendendo a exposição, seguida de arguição pelos examinadores. Encerrada a arguição cada examinador, em sessão secreta, exarou o seu parecer. A Comissão Julgadora, após análise do Trabalho, verificou que o mesmo encontra-se em condições de ser incorporado ao banco de Dissertações e Teses da Biblioteca desta Universidade. Acompanham este relatório os pareceres individuais dos membros da Comissão Julgadora.

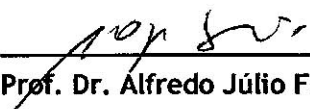
Uberlândia 15 de dezembro 2009



Prof. Dr. Flávio Domingues das Neves
Titulação: Doutor
Universidade Federal de Uberlândia - UFU



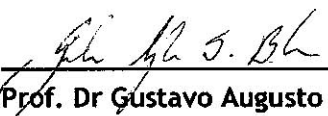
Aprovado/Reprovado



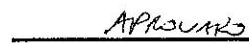
Prof. Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto
Titulação: Doutor
Universidade Federal de Uberlândia - UFU



Aprovado/Reprovado



Prof. Dr. Gustavo Augusto Seabra Barbosa
Titulação: Doutor
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN



Aprovado/Reprovado

Dedicatória

A Deus,

Sempre presente em meu coração, e que guia os meus caminhos e sonhos, sem ele junto a mim nada disso seria possível.

Aos meus Pais Júlio e Ana Glória,

Principais incentivadores e exemplos da minha vida, apesar de me terem longe de casa e da saudade, sempre me apoiaram, incentivaram e não mediram esforços para fazer tudo que estava ao seu alcance, tornando esse sonho real mesmo que muitas vezes deixassem de realizar os seus próprios. Amo vocês! E agradeço a Deus todos os dias a família que tenho.

Aos meus Irmãos Tiago e Rodrigo, pelo amor, amizade, apoio e incentivo em todos os momentos, privando-se de muitas coisas para que eu pudesse conseguir vencer mais esta etapa. Obrigado, Amo vocês!

A minha família e aqueles que sempre me apoiaram durante esses anos, fazendo possível a realização desta etapa na minha vida. Em especial a minha **Tia Monique** minha principal incentivadora.

Agradecimentos Especiais

Ao **Prof.Dr. Flávio Domingues das Neves**, por me permitir realizar o sonho de fazer mestrado, pelos ensinamentos transmitidos, por ser o espelho de um futuro ao qual sonho trilhar, pela confiança incondicional depositada sempre no meu nome, pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional, desafios e cobranças diárias, que me fizeram a cada dia buscar sempre o aperfeiçoamento. Mas acima de tudo por me tratar como um filho durante esses dois anos, pois só um verdadeiro pai faz tudo o que você fez por mim neste período. Nunca terei forma de agradecer tudo que fez por mim, serei eternamente grato e um dia se Deus permitir ter a oportunidade de fazer algo para um aluno, como você fez por mim. Espero que possamos sempre manter essa relação de amizade e orientação nas próximas fases da minha formação e por toda vida. Meu muito obrigado!

Ao **Prof.Dr. Gustavo Augusto Seabra Barbosa**, principal responsável pela minha vinda para Uberlândia, tenho muito orgulho de ter sido seu primeiro monitor, participado da primeira turma do projeto de extensão - Centro de Atendimento a Pacientes portadores de disfunção do aparelho Estomatognático – CIADE, agradeço pela amizade, confiança no meu trabalho, oportunidades, e por acreditar e me apoiar em todas as horas para que esse sonho pudesse ser realizado. Obrigado por tudo, devo a você as principais oportunidades e alegrias de minha vida profissional, espero sempre deixá-lo orgulhoso, pois minhas vitórias também são suas vitórias, porque você sempre será meu orientador.

Aos **amigos do Centrinho**, agradeço toda compreensão por minhas cobranças e dedicação em todas as horas para recuperação de um projeto que poucas universidades do País têm a oportunidade. Talvez um dos maiores desafios durante esses anos em minha passagem por Uberlândia. Espero que vocês mantenham-no funcionando sempre, de forma que cada vez mais alunos possam ter a oportunidade de aprender o que tivemos a cada dia durante esses anos.

Agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Uberlândia** em nome do Reitor **Prof.Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto**, pelo acolhimento nesses dois anos de mestrado, tornando-se minha casa a qual terei sempre um eterno carinho.

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, por todas as oportunidades oferecidas.

À **Área de Oclusão, Prótese Fixa e Materiais Odontológicos**, pela recepção e acolhimento durante esses anos.

Ao **Prof.Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto**, exemplo de mestre, dedicação e amor pelo ensino e pelas coisas as quais acredita. Agradeço pela receptividade, acolhimento, atenção desde a minha chegada em Uberlândia.

Ao **Prof.Dr. Carlos Soares**, exemplo de dedicação, persistência, trabalho, e que com força de vontade e amor ao que fazemos podemos chegar a qualquer lugar. Obrigado pela amizade, disponibilidade, ensinamentos, carinho e confiança depositada em mim. Sem seus ensinamentos e oportunidades o mestrado não seria o mesmo. Obrigado por ter sido facilitador do meu aprendizado e por me ensinar a ser facilitador do aprendizado dos meus futuros alunos.

Ao **Prof.Dr. Adérito da Mota**, pelos ensinamentos de vida, pela disponibilidade de me oferecer aprendizado clínico e compreender que cada paciente tem uma história por trás de um problema clínico, pela presença todas as quintas de manhã mesmo com problemas de saúde para ajudar um único aluno que tinha vontade de aprender a fazer. Obrigado pelo carinho, que Deus abençoe seu caminho e que as situações que você tem vivido nos últimos tempos possam ser resolvidas o mais rápido possível.

Ao **Prof.Dr. Mário Paulo Penatti**, pela disponibilidade, ensinamentos sobre a microbiologia e co-orientação, obrigado pela paciência, confiança, carinho e amizade, sem sua dedicação e orientações este trabalho não poderia ser realizado.

Ao **Prof.Dr. Paulo César Simamoto Júnior**, pelo acolhimento em Uberlândia, pela disposição em sempre ajudar, oportunidades, pelos ensinamentos e exemplo.

Ao **Prof.Dr. Ricardo Alves do Prado** pela amizade e acolhimento.

Aos Professores da Área de Oclusão, Prótese Fixa e Materiais Odontológicos, **Alfredo, Adérito, Márcio Teixeira, Ricardo, Célio e Marlete**.

Ao **Prof.Dr. Paulo Quagliato**, pela recepção, amizade, carinho, e convivência durante esses anos de mestrado.

Ao **Prof.Dr. Paulo Vinicius Soares**, pela amizade, convivência constante em todos os momentos, incentivo e confiança depositada.

Aos professores **Paulo César Santos Filho, Murilo Menezes, Veridiana Novais Simamoto**, pela amizade e incentivo.

Ao **Prof.Dr. Denildo Magalhães**, pela amizade e convivência.

Ao **Prof.Dr. Darceny Barbosa**, pelos ensinamentos e convivência.

Ao amigo **Thiago Lucena (Thiagão)**, pela recepção em Uberlândia, ajuda na adaptação a cidade, amizade e alegria de sempre.

Ao amigo **Luis Raposo**, pela amizade, parceria e ajuda durante todo tempo de mestrado, agradeço também pelo carinho da sua família: seu Bonerges, Dona Mirinha, Xande e Carol, por me fazer sentir também em casa.

Ao casal de amigos **Vitor Coró e Carol**, pela amizade e receptividade durante todo o tempo de mestrado.

Aos irmãos da república dos paraíbas em Uberlândia **George e João Paulo Lyra (geléia)**, pela amizade e presença nos momentos de trabalho, tristezas e alegrias.

Ao amigo e irmão de coração **Lucas Dantas**, pela amizade e apoio em todas as horas.

Aos amigos de Mestrado **Thiago Stape, Gabriela Mesquita, Luciana Zaramela, Fabiane Maria, Polianne, Bruno Barreto, Mirna, Marininha, Andréia Dolores, Bruno Reis, Danilo Saletti, Gustavo Assis, Adriana, Germana, Marina, Fernandinha, Flaviana, Natália, Maria Antonieta, Lara, Marília, Bianca, Naila, Gustavo Rabelo, Elenilde, Karla Zancopé**.

Aos amigos e orientados de Iniciação Científica, **Thiago Prado e Marcel Prudente**, pela amizade, confiança e dedicação constante, meu muito obrigado, sem vocês este trabalho não seria realizado. Espero que este seja o início de uma bonita caminhada de vocês.

A **Gabriela Tavares Ferreira**, pela ajuda constante no centrinho, compreensão as minhas cobranças, amizade e confiança incondicional.

A família Domingues das Neves, **Fernanda, Olívia, Laurinha e Júlia** pela atenção, acolhimento e amizade em todos os momentos em Uberlândia.

Ao conterrâneo **Prof.Ms. Jonas Dantas**, pela amizade ofertada em todos os momentos durante minha estada por Uberlândia.

Ao amigo **Lucas Zago**, pela amizade e ajuda constante.

À todos os **amigos de Natal**, pela amizade incondicional apesar da distância. Sem vocês não conseguiria realizar esta etapa.

Aos funcionários da Área de Oclusão, Prótese Fixa e Materiais Odontológicos, **Susy e Wilton**, pela disponibilidade e ajuda constante.

Ao **Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN**, pela formação que me proporcionou alcançar novos horizontes.

As **professoras da área de Dentística da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Prof.Dra. Suhem Lauar e Prof.Dra. Isana Álvares Ferreira** pela oportunidade de ser monitor durante dois anos desta disciplina e despertar a vontade de ser professor.

À secretária da sessão de Pós-graduação da faculdade de Odontologia de Uberlândia: **Abgail**.

A todos que fazem parte da clínica Eikon, **Dra. Denise, Fabiana, Érica, Graça, Dr. Ricardo Passos, Dr. Leandro e Dr. Fabiano Capanema**.

A todos do curso de aperfeiçoamento da Eikon, **Fernando, Donizetti, Rafael, Itamar**.

A **Escola Técnica de Saúde – ESTES da Universidade Federal de Uberlândia**, por me dar a oportunidade de iniciar minha vida acadêmica.

Aos Professores das disciplinas de Prótese Removível Total e Parcial, **Prof.Dra. Terezinha Rezende** e **Prof.Dr. Francisco de Freitas**, pela amizade e compreensão nos momentos precedentes a esta defesa.

À todos ex-orientados do Prof. Flávio Domingues das Neves, **Clébio**, **Franciele**, **Letícia**, **Tânia**, **Lia**, **Vitor Coró**, **Sérgio Bernardes**, **Gustavo Mendonça**, **Adeliana**, **Gustavo Seabra**, **Paulo Simamoto** pela ajuda ofertada.

Ao **Prof.Dr. Mauro Antônio de Arruda Nóbilo**, pela confiança no meu trabalho e oportunidade de iniciar o Doutorado.

A empresa **Neodent Implantes Osseointegráveis**, por ceder todos os implantes e componentes necessários para este trabalho. Agradeço a orientação, disponibilidade, confiança e amizade da **Prof.Dra. Ivete A. Mathias Sartori**, coordenadora científica do Ilapeo.

Ao **laboratório de microbiologia do curso técnico de análises clínicas**, pelo espaço e material necessário para esta pesquisa.

Aos estagiários do curso técnico de análises clínicas **Gabriel** e **Suzane**, pela ajuda constante na realização deste trabalho.

À todos que ajudaram direta e indiretamente a realização deste trabalho, mas sobretudo aqueles que contribuíram na minha formação durante o mestrado. Meu muito obrigado e minha eterna gratidão.

"Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá."

Ayrton Senna

Sumário

1. Lista de Abreviaturas.....	13
2. Resumo.....	15
3. Abstract	16
4. Introdução.....	17
5. Revisão de Literatura.....	21
6. Proposição.....	52
7. Materiais e Métodos.....	54
8. Resultados.....	66
9. Discussão.....	72
10. Conclusão.....	81
11. Referências Bibliográficas.....	83

1. Lista de Abreviaturas

P/I – Pilar/Implante

HE- Hexágono Externo

µL – Microlitros

µm – Micrometros

Ncm – Newtons centímetro

mm – milímetros

Fab. – de acordo com o fabricante

CFU/mL – Unidades formadoras de colônia por mililitros

° - graus

°C – graus Celsius

Hz- Hertz

Min – minutos

atm – atmosfera – unidade de pressão

h(s)- hora(s)

N – Newton

mm² – milímetro quadrado

BHI – Brain Heart Infusion

TSBy - Tryptic Soy Broth yeast

Resumo e Abstract

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a microinfiltração da interface pilar/implante de implantes hexágono externo (HE) com diferentes torques. Para isso, foram utilizados nove implantes HE torque externo, pilar cônico e seu respectivo parafuso, selecionados aleatoriamente e divididos em três grupos. Utilizados em duas fases do experimento. Uma suspensão bacteriana de *Escherichia coli* à densidade padrão de 0,5 McFarland foi preparada e inoculada nas partes internas dos implantes sendo esses acompanhados a cada 24 horas durante 14 dias. Ao final deste período, a viabilidade bacteriana foi verificada por teste microbiológico. Na primeira fase do experimento os grupos foram divididos em V0,5: composto por implantes inoculados com volume de 0,5 µL; V1,0: implantes inoculados com 1,0 µL e V1,5: implantes inoculados com 1,5 µL. Tendo seus pilares apertados com torque recomendado pelo fabricante. Na segunda fase, o experimento foi repetido três vezes para verificação de reprodutibilidade. Os conjuntos foram divididos em grupos com diferentes torques: T10: pilares apertados com torque de 10 Ncm; T20: apertados com 20 Ncm e T32: apertados com 32 Ncm. Na primeira fase V1,0 e V1,5 apresentaram todas as amostras com turbidez dos tubos de controle de extravazamento nas primeiras 24 horas. Na segunda fase três amostras apresentaram resultados positivos para microinfiltração, sendo duas do T10 e uma do T20 durante período 14 dias. Após este período todas as amostras apresentaram viabilidade da suspensão inoculada. Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que o torque influenciou na microinfiltração bacteriológica de implantes HE e que a padronização da metodologia apresentou minimização de falhas relacionadas ao operador.

Palavras-chaves: Implantes Dentais; Microinfiltração Bacteriana; Interface Pilar/Implante; Bactérias; Hexágono Externo; microbiologia.

2. Abstract

The aim of this study was to evaluate the microleakage of abutment/implant interface (A/I) in external hexagon implants (HE) with different torques values. Nine HE implants extern torque with conical abutments and screws were randomly selected and divided into three groups: V0.5, V1.0 and V1.5 and used in two experimental steps. A *Escherichia coli* bacterial suspension (BS) was prepared to the density of 0,5 McFarland standard and inoculated in the inner parts of the implants. The clarity of the broth was observed each 24 hours during 14 days, and after this period, the bacterial viability was checked by a microbiological test. In the first step, implants were inoculated as follows: V0.5- with 0.5 µL of BS; V1.0- with 1.0 µL of BS; and V1.5- with 1.5 µL of BS. Then the abutments were wrench following the manufacturer's recommended torque values. In the second step, the experiment design was repeated three times for checking the reproducibility and the assemblies were divided into three groups with different torques values: T10- abutments wrench with 10 Ncm; T20- wrench with 20 Ncm and T32- wrench with 32 Ncm. The results showed that in the first step all the samples of V1.0 and V1.5 groups presented cloudy broth on the control tubes in the first 24 hours. In the second step, three samples presented positive results for bacterial leakage during the period of 14 days, which two were from the T10 group and one from the T20 group. After this period all the samples presented viability for the bacterial test. Within the limitations of this study, it was concluded that the torque value influenced the HE implants bacterial microleakage and that the standardization of the test methodology offered lower operator variables.

Key words: Dental Implants; bacterial microleakage; abutment/implant interface; Bacterial; external hexagon; microbiology.

Introdução

4. Introdução

O sucesso da terapia de implantes exige um equilíbrio dinâmico entre os fatores biológicos e mecânicos. A falência mecânica tem sido associada à instabilidade da junta parafusada entre pilar e implante (P/I). É comprovado que o tipo de conexão entre P/I é diretamente relacionado com o infiltrado bacteriológico e presença de células inflamatórias que levam a perda óssea ao redor da microfenda existente na região da conexão.^{1,2} Os implantes originalmente desenvolvidos por P.I. Brånemark possuíam o desenho hexagonal externo na plataforma, utilizado na colocação dos implantes e para conexão do intermediário. Este tipo de conexão apresenta uma perda óssea ao redor dos implantes considerada normal, que é de aproximadamente 1,0 mm no primeiro ano em função e menos de 0,2 mm após o primeiro ano.³ Porém, enquanto o estabelecimento da altura do osso peri-implantar é pouco previsível,⁴ sua manutenção é subjetiva e está relacionada a aspectos mecânicos^{5,6} e microbiológicos^{1,2} relacionados a conexão P/I.⁷ O desajuste entre P/I tem sido indicado como um dos fatores causais das falhas protéticas⁸ e possivelmente pela diminuição do osso ao redor da plataforma do implante.^{1,2}

Sabe-se que o grau de infiltração bacteriológica entre implante e componentes protéticos depende de fatores variáveis como a precisão de assentamento dos componentes, torque e micromovimentos entre as partes conectadas durante a função.⁹⁻¹³ A prevenção da infiltração bacteriana na interface P/I é um dos maiores desafios na construção dos sistemas modernos de implantes em dois estágios, minimizando reações inflamatórias e maximizando a estabilidade do osso ao redor da plataforma do implante.^{14,15} Microfendas e pequenos espaços ainda estão presentes nos sistemas de implantes atuais. Sendo a penetração microbiológica um importante fator para o infiltrado inflamatório crônico e reabsorção óssea marginal.^{1,16} As empresas de implantes visam diminuir esta penetração aumentando a estabilidade da

junção P/I, reduzindo sua movimentação, e construindo embricamentos mecânicos no processo de apertamento de alto nível de precisão, de poucos micrometros, fator importante na prevenção de infiltrados.^{14,17}

Estudos de infiltração bacteriológica têm utilizado diversos tipos de bactérias, que vão desde anaeróbias facultativas a anaeróbias estritas, com tamanhos em torno de 1 a 10 μm ,^{9,12-14,18-25} tal como suas toxinas¹⁵ e até corantes,^{21,26,27} ambos com moléculas extremamente pequenas. Baseado no fato, que alguns estudos relatam que a microfenda subgingival entre o implante e os componentes protéticos está em torno de 1 e 49 μm ,¹⁸ consequentemente representam um local ideal e potencial para retenção de placa, permitindo o fluxo microbiano.^{9,11-13,15,23-25,28}

Diversas metodologias tem sido utilizadas para determinar, tanto a magnitude desta microfenda,^{14,15,18,21,29,30} quanto a sua real influência no processo de infiltração microbiológica. Estudos analisam essa infiltração tanto do sentido interno das partes do implante para o meio externo,^{12,13,15,18-20,23,24,26,27} como do sentido externo para as partes internas dos implantes.^{14,19-22,25} Analisando por método qualitativo e quantitativo desde a análise da turbidez de caldos nutritivos até a análise por DNA bacteriano. Entretanto, existem diversos pontos críticos nestas metodologias que podem atuar como fatores potenciais para resultados falsos positivos e negativos. Entre estes fatores podemos destacar a utilização de fórceps para apreensão dos implantes, a inoculação do caldo bacteriológico nos implantes a mão livre, o recobrimento total dos implantes podendo favorecer uma possível penetração de fluido na interface do parafuso de pilar e pilar, a utilização de um mesmo torquímetro para diversas amostras, a não determinação do volume interno do implante, o tipo de bactéria e a sua sobrevivência nas condições do estudo *in vitro* e até mesmo os procedimentos de desinfecção realizados para a avaliação no sentido meio externo/interno. Fato este que pode ser comprovado devido à variabilidade de resultados observados nesses estudos. Segundo Coelho e colaboradores²⁷ em 2008, enquanto não houver uma

compreensão da magnitude desta microfenda e sua influência na colonização e proliferação de bactérias, não se pode prover nenhuma informação sobre a transferência de fluídos entre as partes internas e externas da conexão P/I.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a microinfiltração da interface P/I de implantes com conexão hexagonal externa com diferentes torques, padronizando-se os procedimentos experimentais e discutindo as diversas metodologias no intuito de sugerir uma com menores possibilidades de interferência do operador.

Revisão de Literatura

5. Revisão de Literatura

MEFFERT (1988) verificou que a existência de desadaptações entre a junção P-I favorece o desenvolvimento de microrganismos, contribuindo para os insucessos na osseointegração, sendo este um dos fatores de insucesso mais preocupantes. Apesar de todos os esforços no desenvolvimento e aperfeiçoamento dos sistemas de implantes dentais.

BAUMANN et al. (1992) observaram em seu estudo que a microbiota que circunda os implantes sem alterações periimplantares é similar a encontrada no sulco gengival saudável, com predominância de bactérias gram positivas, outras bactérias não móveis e espiroquetas. Nas regiões onde há alterações periimplantares, ocorre a predominância de bactérias móveis e *Bacteroides intermedia* e *bacteroides gingivali*.

QUIRYNEN & VAN STEENBERGHE (1993) realizaram um estudo *in vivo* em nove pacientes, com reabilitações sobre implantes tipo Brånemark® com objetivo de verificar a colonização bacteriana no interior de implantes dentais. Os autores observaram que todos os pacientes apresentaram contaminação da parte mais apical dos intermediários protéticos. Segundo o estudo, esta contaminação poderia ter etiologia da contaminação no momento da inserção do intermediário protético, contaminação no momento da remoção ou da troca bidirecional de fluídos microbianos através de micro-espacos entre o intermediário protético e o implante. A contaminação da parte interna do implante, durante a inserção do intermediário foi reduzida ao máximo, uma vez que foram selecionados pacientes sem bolsas, sem sangramento, ausência de fluido gengival ativo, além da irrigação dos tecidos periimplantares com clorexidina a 0,2% previamente ao experimento. A contaminação do intermediário protético ao tirar o parafuso foi cuidadosamente evitada pelo isolamento do sulco periimplantar. A provável contaminação na opinião dos autores foi devido ao

vazamento microbiano dos tecidos periimplantares em direção à parte interna do implante. Os bons resultados à longo prazo utilizando-se implantes Brånemark® têm mostrado que esta troca de fluídos microbianos parece ter uma relevância clínica limitada.

DHARMAR et al. (1994) realizaram um estudo comparativo da microbiota presente no sulco gengival de dentes naturais e no sulco periimplantar. Foram selecionados dezoito pacientes parcialmente edêntulos e seis edêntulos totais, divididos em dois grupos, sendo o grupo controle constituído de 22 dentes naturais e o grupo teste composto de 64 implantes do Sistema Brånemark. Após a coleta do material no sulco gengival e periimplantar, as amostras foram analisadas. Os achados mostraram que os microrganismos presentes não tiveram diferenças significantes nos dois grupos, sendo em sua maior parte constituídos por cocos, bastonetes móveis e não móveis, fusiformes e espiroquetas, sendo essas últimas não encontradas em pacientes edêntulos totais.

GOHEEN et al. (1994) realizaram um estudo analisando o torque empregado para a colocação dos intermediários protéticos, comparando o uso de um torquímetro calibrado e com o uso de 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/intermediário protético quando for usado o aperto manual, permitindo assim troca de fluidos e bactérias entre a parte interna do implante e o meio bucal.

QUIRYNEN et al. em 1994, analisaram a infiltração bacteriana, num modelo *in vitro*, ao longo dos componentes do sistema de implantes Branemark (Nobel Pharma AB, Goteborg, Suécia). Nesse estudo, foram utilizados 32 conjuntos implante-pilar. Os pilares foram conectados aos implantes com torque de 10 Ncm. Oito pares dessas

uniões esterilizadas foram totalmente imersos num líquido previamente inoculado com flora oral, sendo quatro pares com a porção interna seca e quatro com a porção interna umedecida com soro fisiológico. Os outros oito pares foram parcialmente imersos (permitindo a penetração do líquido apenas até a interface implante-pilar), e da mesma forma, em quatro deles a porção interna estava seca e nos outros quatro pares umedecida com soro fisiológico. O autor mostrou por meio de um desenho esquemático as possíveis vias de penetração bacteriana para a parte interna do implante. Após sete dias de imersão, foram coletadas amostras da porção interna das fixações e do meio inoculado durante um período de 2 minutos. As amostras foram cultivadas em ágar sangue e incubadas em câmara anaeróbica a 37°C. Tanto nas amostras parcialmente imersas quanto nas totalmente imersas, foi observada presença de microorganismos, confirmando a infiltração bacteriana, sendo que naquelas o vazamento foi menor. Contudo, a concentração de microorganismos na porção interna do implante foi 10.000 vezes menor que a do meio.

ERICSSON et al. (1995) descreveram histologicamente em um estudo em cães os tecidos periimplantares ao redor de implantes de duas peças. Os autores quantificaram a dimensão do sulco marginal gengival, localização do epitélio no implante, e a localização dos tecidos moles em relação ao osso. Dois tipos de lesões inflamatórias foram observados nos tecidos periimplantares. Uma associada com infiltrado de células inflamatórias no sulco gengival a uma profundidade de aproximadamente 0,5 a 1,0 mm coronal a interface, denominada de “placa associada”, e a segunda lesão a 1,0 a 1,5mm, área de células inflamatórias associadas a interface P/I, denominada infiltrado de células inflamatórias dependente do pilar, presente mesmo em condições saudáveis de higienização.

PERSSON et al. em 1996, conduziram um estudo que examinou a microbiota na superfície interna dos componentes de 28 implantes Brånemark (Nobel Pharma AB,

Goteborg, Suécia), em dez pacientes com edentulismo parcial que tinham sido tratados com uma prótese parcial fixa cada. O tratamento cirúrgico e protético foi realizado de acordo com os procedimentos de rotina descritos (BRÅNEMARK et al., 1985; JEMT, 1986). As próteses, em função por um período entre 1 a 8 anos, eram checadas em relação a estabilidade e depois removidas. A presença de placa bacteriana era determinada com um explorador através dos critérios de SILNESS & LOE (1964), em quatro superfícies ao redor dos pilares, e a presença de inflamação na mucosa perimplantar era determinada visualmente, nos mesmo sítios examinados para placa. Os parafusos dos pilares eram afrouxados e classificados como estáveis, facilmente removidos ou soltos. Depois disso os pilares eram novamente parafusados e era verificada a estabilidade do implante. Após a remoção do pilar, amostras foram obtidas de bactérias das várias superfícies internas do sistema de implante, com auxílio de um bastão plástico esterilizado. Estimativas e identificação das espécies predominantes foram realizadas em placas de ágar sangue. A identificação foi baseada na reação de Gram, sensibilidade ao oxigênio e testes bioquímicos. As superfícies internas dos componentes dos implantes, após um período variável em função na cavidade oral, nutriram uma microbiota anaeróbica primária heterogênea. As amostras individuais mostraram uma grande variação. Em todas as amostras não houve nenhuma relação aparente entre tempo do implante em função e perda óssea marginal. Nenhuma relação pôde ser vista entre o tipo e comprimento dos pilares, estabilidade do pilar, perda óssea e tipo e número de microorganismos encontrados nas amostras. A flora consistia principalmente de streptococcus anaeróbicos e facultativos, bastonetes anaeróbicos Gram positivos como *Propionibacterium*, *Eubacterium* e *Actinomyces* species e bastonetes anaeróbicos Gram negativos incluindo *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Porphyromonas* species. Segundo os autores, existem razões para sugerir que a presença de bactérias é resultado de contaminação da fixação e dos componentes do pilar durante o primeiro e segundo estágio de

instalação do implante e/ou uma transmissão de microorganismos do meio oral durante a subsequente instalação da prótese fixa.

QUIRYNEM et al. (1996) avaliaram em estudo *in vivo* a influência da superfície do titânio de intermediários protéticos na adesão de placa e desecadeamento de gegivites. Para isso seis pacientes desdentados parciais receberam quatro pilares com diferentes tipos de polimento superficial. Em seus resultados verificaram pequenas diferenças na adesão de bactérias entre os diferentes tipos de pilares, entretanto os pilares mais lisos apresentaram menores índices de placa e a presença principalmente de bactérias do tipo cocos, de menor pontencial periodonto patogênicas.

ABRAHAMSSON et al (1997), relataram em um estudo em modelos caninos avaliando o efeito das sucessivas remoções e colocações de pilares nos tecidos moles. Que quanto maior o número de vezes em que o pilar é conectado e removido, grande parte dos tecidos moles se posiciona mais apicalmente a interface P/I. Os autores explicam que as sucessivas colocações do pilar devem formar uma ferida nos tecidos moles e essa por sua vez gera reações nos tecidos moles que induzem uma remodelação do osso da crista marginal, como consequência da tentativa dos tecidos moles criarem uma barreira contra essa agressão.

JANSEN et al. (1997) analisaram a relação entre microinfiltração bacteriana e a adaptação da interface P/I de treze diferentes combinações de implantes, utilizando nove diferentes sistemas. Foram avaliados os sistemas Ankylos[®], Astra Tech[®], Bonefit[®], Bonefit Octa[®], Branemark[®], Calcitek[®], Frialit-2[®], Ha-Ti[®], IMZ[®] e Semados[®]. Esses sistemas apresentavam muitas diferenças entre si desde a composição dos pilares em duas peças ou não, até o tipo de conexão, cônica (tipo Morse) e plana ou Flat (tipo Hexagonal Externa e Interna). Todos os implantes eram industrialmente fabricados e comercializados com exceção do Frialit-2 com dispositivo de silicone. Os implantes foram levados em condições de esterilidade e inoculados na extremidade do

parafuso do intermediário protético com 0,5 µL de uma suspensão pura de *E. coli*, os pilares foram conectados aos implantes sem que houvesse toque nas bordas do mesmo e com o auxílio de pinças o pilar foi apertado seguindo as recomendações do fabricante. Os parafusos de acesso dos sistemas que apresentavam duas peças (parafuso e pilar) foram obliterados com resina auto ou fotopolimerizável. Uma possível contaminação no processo da instalação do pilar foi avaliado pela imersão prévia do conjunto em caldo nutritivo. As peças montadas após imersão de controle foram armazenadas em caldo de BHI com volume variável entre 200 a 400 µL de acordo com o sistema, necessário para recobrimento da junção P/I em alguns milímetros. A turbidez indicativo de colonização bacteriana foi acompanhada durante período de 1, 3, 5, 7, 10 até completar 14 dias. Após este ensaio um conjunto de cada grupo foi levado a microscopia óptica de varredura onde a microfenda da interface P/I foi mensurada. Os resultados deste trabalho mostraram que todos os grupos apresentaram amostras com infiltrado bacteriológico, embora ao final dos catorze dias nem todas tenham apresentado turbidez do meio. Todos os grupos apresentaram amostras com alteração da claridade da solução no primeiro dia de observação com exceção do sistema Frialit-2 com dispositivo de silicone. A maioria das amostras se apresentou com turbidez da solução até o segundo dia de análise. O sistema Frialit-2 com dispositivo de silicone apresentou resultados melhores quando comparados aos demais sistemas após período de catorze dias. A microfenda encontrada em todos os pilares foi menor que 10 µm. O valor médio para essas fendas foi de 5 µm. Os espaços encontrados no grupo Astra e no Bonefit foram de 1-2 µm e no grupo Ankylos foi de 4 µm.

GUINDY e colaboradores (1998), analisaram em um estudo *in vitro* a microinfiltração bacteriológica na interface entre pilar/implante e pilar/parafuso de retenção do sistema Ha-Ti[®] de conexão hexagonal interna. trinta amostras foram selecionadas contendo cada uma delas coroas pré-fabricadas e implantes Ha-Ti[®] de

diâmetro de 4,5mm, divididas em três grupos com diferentes pilares que variavam superfícies e estrutura de titânio. Uma cultura de *Staphylococcus aureus* foi preparada em uma concentração média de 8×10^8 UFC/mL em caldo nutritivo a base de soja e distribuídas em tubos de ensaio com o volume de 3 mL. Os implantes foram incubados nestas soluções e analisados em intervalos diários de 24 a 120 horas (cinco dias). Uma segunda fase do experimento analisou ainda a microinfiltração do sentido interno da partes do implante para o meio externo. Para isso os implantes esterilizados foram inoculados com 2 µL de suspensão bacteriana de *S.aureus* em uma concentração de 8×10^8 UFC/mL, tanto na parte interna do implante quanto na parte interna do parafuso do pilar que abrigaria o parafuso de retenção da coroa pré-fabricada. Após o procedimento de inoculação foram instalados o pilar e após a segunda inoculação a coroa pré-fabricada. Um controle de extravazamento foi realizado com papel absorvente e avaliado após 24 horas. Então os espécimes foram imersos em solução nutritiva a base de soja de dois modos, sendo o primeiro recobrimo completamente o implante, ou seja, interface entre pilar/implante e parafuso/pilar, e na segunda fase recobrimo-se apenas a interface pilar/implante. Na primeira fase do experimento foram encontradas a presença de *S.aureus* em nove das dez amostras de cada grupo em um período de 24 a 48 horas. Na segunda fase, foi encontrada a presença de *S. aureus* em todas as amostras após o período de 24 a 120 horas, quando apenas a fenda marginal foi imersa em solução nutriente. Quando avaliadas as amostras completamente recobertas por caldo nutritivo alguns diferenças quanto a microinfiltração foram observadas entre os diferentes tipos de pilares, entretanto após 120 horas nenhuma diferença foi observada. Quando imersos apenas a microfenda até 96hs a maioria se apresentava sem microinfiltração, começando a apresentá-la no período de 96 a 120 horas. Concluindo-se que todos os implantes após um período de 120 horas apresentaram infiltração bacteriológica.

BYRNE et al., em 1998, compararam a adaptação e ajuste marginal de pilares pré-usinados com pilares calcináveis em termos de ajuste pilar/implante e ajuste entre a parte inferior da cabeça do parafuso de ouro e a base do parafuso de pilar. Das seis combinações estudadas, duas utilizaram pilares calcináveis e apresentaram maior frequência e magnitude de discrepâncias verticais nas duas interfaces estudadas. Os resultados mostram que a presença de desajuste vertical pode reduzir a estabilidade mecânica do conjunto pilar/implante e atuar como um espaço para acúmulo de bactérias.

BESSIMO et al. (1999), conduziram uma pesquisa analisando bidirecionalmente a possibilidade de infiltração bacteriana em implantes de junção hexagonal interna. Para tanto utilizaram trinta uniões implantes/coroas Ha-Ti. O implante Ha-Ti usa um pilar transmucoso de titânio sobre o qual uma coroa de metal nobre foi conectada por meio de um parafuso de fixação transverso. Para avaliar o selamento das amostras teste, uma quantidade de 2 µl de cultura de *Staphylococcus aureus* foi cuidadosamente inoculada na porção interna do hexágono. Depois do aparafusamento do pilar, mais 2 µl eram inoculados no orifício do parafuso do intermediário protético. Após desinfecção externa com etanol a 70%, as amostras eram submersas em 4 ml de caldo de soja típico e incubados a 37°C por uma semana. Não houve extravasamento do caldo inoculado na cavidade interna do implante para o meio de cultura em nenhuma amostra teste após uma semana. A análise do vazamento do meio de cultura bacteriano para dentro das amostras teste foi executada da seguinte maneira: Verniz Cervitec foi aplicado em todas superfícies de contato do implante com componentes. Em seguida foi utilizado etanol a 70% durante 30 segundos para minimizar a possível contaminação por outras bactérias durante a manipulação e secagem por ar. O conjunto era, então, submerso em 4ml de cultura de *Staphylococcus aureus*, em tubos plásticos, e incubados a 37°C. As uniões primeiramente eram completamente imersas (incluindo a microfenda marginal e orifício

do parafuso transversal da coroa) por oito semanas e depois parcialmente imersas (apenas a microfenda marginal) por 11 semanas. Cinco amostras eram removidas do meio de cultura a cada semana, imersos por três minutos em etanol a 70%, secados com ar e desmontadas cuidadosamente. A superfície interna das coroas e do hexágono era testada para contaminação com o uso de pontas de papel esterilizadas que eram pinceladas em ágar e incubadas em caldo de soja a 37°C por 24 hs. A contaminação por *Staphylococcus aureus* no teste de submersão total da amostra foi registrado em 1 das 5 amostras incubadas por 4 semanas, enquanto nenhuma infiltração foi detectada nas espécies incubadas por 3, 5, 6, 7 e 8 semanas. Quando os testes de selamento das amostras eram parcialmente submergidos e incubados por 3 a 11 semanas, nenhuma das superfícies internas das amostras teste manifestaram contaminação. O uso do verniz de clorexidina se mostrou eficaz nesse estudo *in vitro*.

GROSS et al. (1999) avaliaram a infiltração da junção pilar-implante de cinco sistemas de implantes: Spline (Sulzer Calcitek, Carlsbad, CA), ITI (Straumann, Waldenburg, Switzerland), CeraOne (Nobel Biocare), Steri-Oss (Steri-Oss, Yorba Linda, CA), and 3i (Implant Innovations, West Palm Beach, FL), sendo testadas três amostras para cada grupo. Os implantes e seus respectivos pilares foram apertados com auxílio de torquímetro manual e torques de 10, 20 Ncm e recomendados pelos fabricantes que por sua vez variavam de 20 a 35 Ncm. Os espécimes então eram levados em solução com corante (violeta genciana) sob pressão de 2 atm, onde eram analisados 5, 20 e 80 min após o início do experimento. Em seus resultados verificou-se que os valores de infiltrado diminuía significativamente com o aumento do torque 10, 20 e recomendado pelo fabricante. Quando os sistemas foram avaliados entre si com torque recomendado pelo fabricante os implantes Straumann analisados aos 20 min apresentaram um infiltrado estatisticamente significativo e maior que os outros sistemas, Entretanto quando foram avaliados novamente aos 80 min os sistemas não apresentaram diferenças entre si.

HERMANN et al. (2000) analisou as alterações ósseas na crista marginal de implantes submergidos e não submergidos em maxila de cães. 59 implantes foram instalados e aleatoriamente divididos em 6 diferentes grupos, variando a altura da interface P/I em relação a crista óssea marginal, a superfície de tratamento da área cervical dos implantes em relação a crista, tempo de colocação dos pilares e a técnica cirúrgica, submergindo ou não os implantes. Em seus resultados observou que os implantes de peça única não demonstraram reabsorção da crista óssea marginal, enquanto todos os implantes de duas partes apresentaram perda óssea de aproximadamente 1,5 a 2,5 mm, não havendo diferenças entre o tempo de instalação dos pilares e a técnica cirúrgica.

BINON, em 2000, publicou a evolução dos implantes e seus componentes nos Estados Unidos. Ele utilizou questionários, catálogos das empresas, telefonemas, e-mail e fax aos fabricantes para revisar os dados antes da publicação. Mais de 90 implantes podiam ser selecionados em uma variedade de diâmetros (100), comprimentos (126), superfícies (53), plataformas (72), junções (46) e desenhos do corpo do implante (52). Havia 20 geometrias diferentes da interface implante / pilar, o que influencia diretamente na força e estabilidade da junção, e conseqüentemente da prótese. A junção do tipo hexagonal externa tem sido a mais relatada na literatura devido ao seu extenso uso clínico. Em aplicações parciais e unitárias, a interface e o parafuso ficam expostos a forças laterais, levando ao desaperto do parafuso, relatado na literatura entre 6% e 48% dos casos. Alterações no desenho do parafuso melhoraram significativamente mas não eliminaram o problema da junção. Para superar as limitações inerentes à conexão hexagonal externa, uma variedade de conexões tem sido desenvolvida.

HERMANN et al. (2001) avaliaram através de estudo histomorfométrico em cães a influência da microfenda na reabsorção óssea da crista marginal de implantes espiçados e não espiçados. 60 implantes foram instalados em mandíbulas caninas,

todos com 1 mm acima da crista óssea e diferentes microfendas, formando 6 diferentes subgrupos. Implante A, B e C com microfendas de aproximadamente 10, 50 e 100 μm , respectivamente. Que possuíam suas estruturas coronárias esplitadas por solda a laser. E, implantes D, E, F com microfendas de aproximadamente 10, 50 e 100 μm , respectivamente e estruturas coronárias não esplitadas. Em seus resultados verificou que os implantes A, B e C não apresentaram perda da crista óssea marginal independentemente do tamanho da microfenda. Enquanto os implantes D, E, F apresentaram perda da crista óssea marginal de aproximadamente 0,70 mm independentemente da microfenda. Concluindo que mesmo a precisão do assentamento dos pilares de 10 μm não conseguiu prevenir a perda da crista óssea marginal quando os implantes não estavam esplitados.

ORSINI et al. (2001) analisou histologicamente as reações teciduais periimplantares e a colonização por fluídos e bactérias nas partes internas de implantes com conexões retidas por parafusos, a partir da autópsia de um paciente. Em seus resultados foi encontrada a presença de microfendas na interface pilar/implante de 1 a 5 μm , bactérias nas superfícies mais internas dos parafusos dos cicatrizadores e da plataforma do implante. Nos tecidos adjacentes a interface P/I, um infiltrado inflamatório composto principalmente de linfócitos e neutrófilos estava presente. Os achados deste relato demonstram respostas inflamatórias a penetração de fluídos e bactérias nas partes internas de implantes com duas partes. Correlacionando microfenda e contaminação das partes internas dos implantes.

KING e colaboradores (2001) publicaram uma segunda parte do trabalho publicado por Hermann em 2001, avaliando radiograficamente o efeito da microfenda na perda óssea marginal. Demonstrando mais uma vez que o tamanho da microfenda na interface P/I não teve influência na reabsorção da crista óssea em implantes 1 mm acima do nível da crista óssea. Entretanto os implantes não esplitados mostraram

perda significativa da crista óssea quando comparado com aos implantes espiantados após 1 e 2 meses sugerindo que a estabilidade da interface pilar-implante pode ter um importante papel em determinados níveis de crista óssea. Em três meses essa influência seguiu uma tendência similar, mas não foi observada para ser estatisticamente significativa. Essas descobertas sugerem que as configurações das reabilitações dos implantes estão associadas com as mudanças biológicas independentemente das microfendas e aos micromovimentos entre os componentes influenciando no processo de reparação em volta do implante.

PIATELLI et al. (2001) avaliou a interface P/I de conexões com pilares parafuso-retidos (SRA) e cimento-retidos (CRA) em três análises: microscopia eletrônica de varredura, penetração de fluídos utilizando corantes e penetração de fluídos utilizando bactérias, ambos do sentido externo para o interno. A microscopia eletrônica mostrou a presença de uma microfenda no grupo SRA de 2 a 7 μm e de 7 μm para o grupo CRA, entretanto esse espaço era totalmente preenchido por cimento. Na análise de penetração de fluídos tanto por corantes quanto por suspensão bacteriana os implantes retidos por parafusos apresentaram em todas as amostras indícios de infiltração enquanto que os retidos por cimento não apresentaram nenhuma amostra com resultado positivo para infiltração. Levando os autores a conclusão que os pilares retidos por cimento quando não sofrem dissolução nos meios orais apresentam resultados sensivelmente melhores à penetração de fluídos e bactérias quando comparados a aos implantes com conexões retidas por parafusos.

RIMONDINI et al. (2001) avaliaram *in vivo* a contaminação bacteriana da parte interna de componentes de implantes duas peças, com e sem dispositivo de silicone de o-rings. 17 implantes foram inseridos em sete pacientes, sendo oito implantes selados com dispositivo de silicone e nove sem o dispositivo. Todos os implantes receberam um pilar estéril conectado por meio de parafuso, e apertado com torque de

20 Ncm. Após dois meses os componentes foram analisados através de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia. No grupo controle sem selamento, sete das nove amostras apresentaram contaminação, e o grupo com dispositivo de silicone para selamento, apenas duas das oito amostras apresentaram-se contaminadas. Sendo a maior incidência de bactérias na parte mais coronal do parafuso quando comparado a porção apical no grupo não selado e apenas na região apical do parafuso no grupo selado.

KHRAISAT et al. (2002), avaliaram o efeito do tipo de junção na resistência à fadiga e no modo de falha dos sistemas de implantes Brånemark e ITI, no qual foram utilizados a junção hexagonal externa e a cônica interna de 8°, respectivamente. Segundo os autores, as empresas de implantes buscam evitar falhas mecânicas aumentando o diâmetro do implante, modificando o tipo de junção, e/ou mudando o material. Estas soluções diminuíram mas não eliminaram a incidência de falhas mecânicas. Foi realizado ensaio de ciclagem mecânica com o objetivo de se investigar a resistência à fadiga dos implantes durante seis anos de função simulada (1.800.000 ciclos). Para o grupo Brånemark, o parafuso do pilar de liga de ouro fraturou em todas as amostras entre 1.178.023 e 1.733.526 ciclos. Para o grupo ITI, todas as amostras resistiram até 1.800.000 ciclos. Os autores reportaram que na conexão cônica, o travamento friccional do pilar ao implante com menos de 10 µm de microfenda da interface eliminou a vibração e o micromovimento do parafuso do pilar. Levando os mesmos a conclusão que o efeito do tipo de junção na resistência à fadiga e no modo de falha do sistema de implante unitário da ITI foi significativamente melhor do que o implante unitário do sistema Brånemark testado.

TODESCAN et al. (2002) analisaram as relações e dimensões dos tecidos periimplantares de implantes de duas partes em diferentes profundidades ósseas. Para isto, utilizaram 24 implantes do sistema Brånemark (3.75 x 7 mm; Nobel Biocare, Gotemburgo, Suécia), instalados em quatro mandíbulas caninas, e divididos em três

grupos. No grupo I, não foi utilizada a broca countersink, e os implantes foram instalados 1 mm acima do nível ósseo. No grupo II, foram instalados no nível da crista óssea, e no grupo III, foram instalados 1 mm abaixo do nível da crista óssea. Cada animal recebeu três implantes de cada lado da mandíbula, de forma aleatória. E depois de três meses, intermediários protéticos do tipo Standard de 3 mm foram instalados, esperando-se um período de remodelação óssea de três meses. Durante este período, os dentes e implantes foram escovados diariamente com clorexedina a 0,12% (Periogard, Colgate, São Paulo, Brasil) com escova macia. Durante estes três meses, foram acompanhados pela equipe veterinária e tinham livre acesso a água e dieta macia, evitando carregamento. Os cães foram então sacrificados, e as mandíbulas foram seccionadas e analisadas. Vinte implantes estavam disponíveis para avaliação, pois três foram perdidos e um foi descartado por mobilidade. Resultando no grupo I, n = 7; grupo II, n = 5; grupo III, n = 8. Foram avaliados nível ósseo, contato osso/metal e dimensões do epitélio juncional. Observações histológicas mostraram uma barreira mucosa composta de epitélio queratinizado com um fino epitélio juncional sob a superfície do pilar. A diferença entre a espessura do epitélio juncional não foi estatisticamente significativa em nenhum dos grupos. Com relação à perda da crista óssea marginal quando a microfenda foi levado mais profundamente no osso, não houve perda óssea adicional significativa, em relação aos outros grupos e todos os implantes tiveram uma perda óssea até aproximadamente a primeira rosca do implante. Sendo a distância P/I ao topo da crista óssea para o grupo I = 2,5mm; II = 2,3mm e III = 1,6 mm. Portanto, proporcionalmente o grupo III, perdeu mais osso visto que estava colocado 1 mm infra-ósseo, seguido do grupo II colocado a nível ósseo e do grupo III 1 mm supra-ósseo.

BROGGINI et al. (2003) em seu estudo avaliaram a influência do tempo de instalação dos pilares ou a presença de interface na composição de células inflamatórias em áreas adjacentes ao implante. Os implantes foram instalados em

áreas edêntulas da mandíbula de cães e divididos em dois grupos, implantes não submersos onde os pilares foram instalados na primeira cirurgia e implantes submersos em diferentes profundidades em relação à crista óssea aos quais os pilares foram inseridos após três meses do ato cirúrgico. Após as cirurgias e instalação dos pilares, durante a 4^a, 8^a e 10^a semana os parafusos dos pilares foram desapertados e reapertados para simular uma situação clínica similar a de procedimentos restauradores. Seis meses após a colocação inicial, as amostras histológicas foram preparadas e analisadas. A distribuição de células inflamatórias nos implantes de duas peças submersos e não submersos foram analisadas e apresentaram resultados semelhantes. Em cada tipo de implante, o pico de densidade de células inflamatórias ocorreu 0,5 mm coronal à interface. A concentração de células inflamatórias na região coronal à junção é maior que a concentração encontrada abaixo da junção, porém não apresentam diferença significativa. Em relação ao número total de células os neutrófilos apresentaram-se em maior número, porém não houve diferença significativa na sua concentração quando variou-se a posição em relação a crista óssea dos implantes de duas peças. O número cumulativo e a densidade de células mononucleares não apresentaram diferenças significantes entre os desenhos de implantes de duas-peças. Entretanto, existiu diferença significativa no total de células inflamatórias entre tipos de implantes uma peça e duas peças. Não foi observado acúmulo de neutrófilo adjacente aos implantes de uma peça. E a perda óssea foi significativamente maior para o implante de duas peças do que para os implantes de uma peça. Em resumo, a ausência de interface na crista óssea foi associada com o reduzido acúmulo de células inflamatórias e mínima perda óssea.

SCARANO et al. (2005) avaliaram a presença de micro-espacos na interface pilar-implante de 272 implantes com pilares parafusados ou cimentados em implantes que foram perdidos por pacientes durante um período de 16 anos. Em implantes com pilares retidos por parafuso, uma microfenda média de 60 µm estava presente no nível

da conexão pilar-implante. Em algumas áreas, o titânio apresentava-se desgastado pelo cisalhamento entre a superfície do parafuso e as roscas internas do implante. O contato entre as roscas do implante e as do pilar era limitado a algumas áreas. Bactérias foram freqüentemente encontradas nas microfendas entre os implantes e pilares e na porção interna dos implantes. Em implantes com pilares retidos por cimento foi encontrada uma microfenda média de 40 µm no nível da conexão pilar-implante. Nenhum dano mecânico foi observado ao nível do implante ou do pilar. Todos os espaços vazios internos foram sempre completamente preenchidos por cimento. Nenhuma bactéria foi observada na porção interna dos implantes ou ao nível do micro-espaço. A diferença no tamanho do micro-espaço entre os dois grupos foi estatisticamente significativa ($p < 0.5$). Em síntese, em pilares retidos por parafuso, o micro-espaço pode ser um fator crítico para a colonização bacteriana, enquanto que pilares retidos por cimento tiveram todos os espaços internos preenchidos por cimento. Nestes implantes recuperados, o tamanho do micro-espaço foi bastante variável e muito maior do que o observado *in vitro*.

DIBART et al. (2005) avaliaram a microinfiltração bacteriana na interface P/I bidirecionalmente. Na primeira fase do seu experimento selecionou dez implantes de largo diâmetro (5mm x 11mm), junção tipo Morse (Bicon®), apertando os seus respectivos pilares com torque seguindo recomendações do fabricante e imergindo-os em caldo bacteriano contendo uma mistura de bactérias (*actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Streptococcus oralis*, *Fusobacterium nucleatum*). Estas amostras foram incubadas a uma temperatura de 37°C por 24h. E após esse período foram preparadas para avaliação bacteriológica a partir de microscopia eletrônica de varredura. Na segunda fase do mesmo experimento os autores tinham como objetivo avaliar a capacidade de selamento da junção pilar-implante no sentido interno-externo. Para isto o teste foi repetido três vezes com intuito de máxima reprodutibilidade. Então três implantes com as mesmas características da primeira

fase foram inoculados com uma concentração de 2 % do caldo produzido para a fase inicial, um implante foi utilizado para o controle positivo com a colocação da bactéria e outro sem nenhum microorganismos para controle negativo. Então as amostras foram incubadas por 72 h quando então 20 µL de solução foram removidos e cultivados em placa durante cinco dias em condições de anaerobiose para verificação de crescimento do microorganismo. Esse procedimento era repetido novamente 48 e 72 horas após a primeira avaliação. Na fase inicial do experimento, os corpos de prova foram avaliados em microscopia eletrônica de varredura e apresentaram-se com uma microfenda na interface pilar-implante em torno de 0,5 µm. Os implantes então foram abertos e foi realizada análise da presença bacteriana nas porções internas do implante. Nesta análise em nenhuma das amostras foi observada a presença de bactérias, mostrando-se essas aderidas apenas a área da plataforma do implante. Estas bactérias estavam aproximadamente 200 µm de distância da interface. Segundo os autores a angulação de 1,5 grau das paredes do corpo do pilar no processo de apertamento e a fricção gerada nas paredes internas do implante, permitiram contato metal com metal produzindo um fenômeno de solda fria capaz de criar um selamento impenetrável. Os microorganismos são divididos entre pequenos (*a.a* – 0,4 x 1 µm⁴), médios (*S. oralis* – 2µm de diâmetro) e médio a largos (*F.nucleatum* – 0,4 a 0,7 µm de diâmetro por 3 a 10 µm de comprimento). Na segunda fase de avaliação do ensaio, todos os nove implantes contendo 0,1 µL de suspensão bacteriana não apresentaram infiltração após três dias de acompanhamento. Os três controles positivos apresentaram turbidez da solução confirmando a viabilidade do microorganismo. E os três controles negativos não apresentaram qualquer sinal de contaminação após o período de observação.

STEINEBRUNNER et al. (2005) avaliaram a microinfiltração bacteriológica sobre carga cíclica em 5 diferentes sistemas: Branemark® (Nobel Biocare), Frialit-2 Hermetics® (Dentisply Friadent), Replace Select® (Nobel Biocare), Camlog® (Altatec,

Wumrberg, Germany) e Screw-Vent® (Zimmer, Dental, Carlsbad, CA), sendo divididos em oito amostras para cada grupo. Os pilares selecionados visavam uma futura prótese cimento-retida simulando um caso unitário e, portanto com sistema antirotacional. Os implantes foram montados em resina a fim de simular condições orais, onde o osso absorvia algumas das forças transmitidas a conexão implante-pilar. Então coroas metálicas foram construídas igualmente para todos os sistemas simulando a emergência de um molar e cimentada com cimento de cura dual (Panavia 21, Kuraray, Osaka, Japão) ao pilar deixando o acesso do parafuso livre para manipulação posterior do conjunto pilar-coroa. Uma cultura de *E.coli* foi crescida em caldo nutritivo a base de soja por 24 horas em 37°C, até a concentração de $1,5 \times 10^9$ UFC/mL a qual foi inoculada nos implantes em condições de esterilidade e após a inoculação o conjunto pilar-coroa foi apertado com torquímetro digital seguindo as especificações dos fabricantes. Os corpos de prova foram então instalados no dispositivo experimental e parcialmente recobertos por caldo nutritivo a base de soja para prevenir o extravasamento pelo parafuso do pilar. Então uma haste que aplicava carga de 120N a frequência de 1 Hz até 1.200.000 ciclos em duas direção, iniciou o processo de aplicação de carga simulando a função mastigatória. A solução de caldo era avaliada durante intervalos pré-determinados dos ciclos. Em seus resultados todos os espécimes apresentaram infiltração marginal. A média de ciclos até que a presença de *E. coli* foi observada foi respectivamente 172.800 para os implantes Branemark, 43.200 para o Frialit/Hermetics, 64,800 para o Replace Select, 345.000 para o Camlog e 23.400 para o Screw-vent.

DUARTE e colaboradores (2006) avaliaram a microinfiltração na junção pilar-implante de cinco diferentes sistemas, sendo quatro grupos de implantes com junção hexagonal externa e um com implantes de junção hexagonal interna com utilização de substâncias que poderiam impedir esta infiltração. 60 implantes foram selecionados e divididos em duas fases de experimento. Na primeira fase foi testado o grupo controle

que consistia de dez implantes sendo duas amostras de cada empresa. Os implantes foram levados a condições de esterilidade, e com auxílio de um fórceps e pipeta de vidro foi inoculado 2 µL de caldo de BHI. Micro pinçeis estéreis foram utilizados para aplicar uma camada de um verniz composto de 1% de clorexidina e timol ou um material a base de silicone na plataforma dos implantes. Os pilares foram instalados e apertados com 20 Ncm por um torquímetro manual. Então os implantes foram incubados em tubos de ensaio contendo 4 mL de solução estéril de caldo de BHI a 37°C por 72 horas com intuito de descartar a possibilidade de contaminação. Na segunda fase do experimento os implantes foram distribuídos em tubos de ensaio contendo 100 µL de uma suspensão pura da bactéria *Enterococcus faecalis* em concentração de 4×10^9 UFC/mL. A capacidade de selamento dos implantes foi avaliada em períodos de observação de 7, 14, 21, 35, 49, e 63 dias. Para esta análise os implantes foram removidos dos tubos a cada período e colocados em tubos contendo álcool a 70%, agitados em velocidade máxima por 60 segundos, sendo após esse processo reabertos e com auxílio de um cone absorvente de papel estéril coletados amostras que avaliariam a possível penetração de bactérias, estes por sua vez eram colocados em tubos contendo caldo nutritivo de BHI onde a turbidez do meio indicaria a possível presença de bactérias. Os resultados demonstraram que após 63 dias nenhum dos grupos testados apresentou capacidade de selamento e não houve diferenças estatisticamente significantes entre eles. Concluindo em seu estudo que os vernizes e dispositivos de silicone utilizados não foram eficientes no selamento da junção após 63 dias.

BROGGINI et al. (2006) em seu estudo avaliaram se a posição mais apical da interface P/I dos implantes em relação a crista óssea marginal, instalados em mandíbulas de cachorros promoveriam um aumento de células inflamatórias associados com prejuízos ósseos. Os implantes então foram colocados ao nível da crista óssea, abaixo e acima desta 1 mm respectivamente. O controle de placa foi

realizado três vezes por semana com escova e esponja macia e gel de clorexidina 0,2%. Após três meses os pilares foram conectados e na quarta, oitava e décima semana os pilares foram desapertados e apertados novamente simulando uma situação clínica. Os implantes foram acompanhados por seis meses e analisados histologicamente após corte e montagem das lâminas. Os tecidos foram analisados identificando a quantidade de células/mm² e a distância linear apico-coronal dos tecidos moles ao osso. Como a interface pilar-implante foi colocada mais apical, houve aumento do número total de células inflamatórias, além disso, a profundidade da interface gerou maior valor de inflamação periimplantar. A concentração maior de células estava localizada ao nível da interface ou coronariamente a esta, tendo sua concentração diminuída tanto em direção à gengiva quanto em direção ao osso. Esta posição indicou maior perda óssea, porém não há relação entre a perda de osso e o acúmulo de células inflamatórias quando a interface se localiza acima da crista óssea. Dentre todas as células encontradas os neutrófilos estavam presentes em maior número. Este acúmulo de células inflamatórias agudas sugere que existem estímulos quimiotáticos constantes neste local. Em resumo, este estudo documentou que uma concentração intensa de células inflamatórias associadas com a junção independe da colocação da junção acima ou abaixo da crista alveolar do osso. Além disso, os implantes ao nível da crista e abaixo da crista, considerando a inflamação tiveram maior perda óssea. Conseqüentemente há um relacionamento direto entre a configuração do implante e o estado dos tecidos moles.

LAZARRA e PORTER (2006) descreveram por meio de observações radiográficas durante período de 13 anos o comportamento da crista óssea marginal de implantes de largo diâmetro e pilares compatíveis com esses implantes de diâmetro regular, dando uma configuração denominada como “plataforma switching”. Os autores relataram que quando este sistema da 3i[®] (Implant Innovations) foi colocado no mercado não existia a possibilidade de se reabilitá-lo com componentes de largo

diâmetro e então esses implantes eram reabilitados com pilares de diâmetro regular (4.1mm). Esse intercambiamento gerava um desajuste horizontal de 0,45 mm quando comparado ao diâmetro de 5.0 mm e 0,95 mm quando comparado ao diâmetro de 6.0 mm. Durante período de 13 anos foi observado que não houve perda óssea marginal ou esta foi insignificante no período de reabertura ou quando o implante foi colocado em função. Segundo os autores este fato provavelmente ocorreu em primeiro lugar pelo aumento da área de superfície para os tecidos moles, aumentando sua quantidade e gerando uma proteção maior ao osso da crista. E em segundo e talvez mais importante por reposicionar a interface P/I e os efeitos causados por ela do osso. Segundo os autores três fatores são importantes para a ausência da perda óssea inicial, o mínimo de 3 mm de tecido mole, necessário para a formação de um selamento biológico da crista óssea marginal, o reposicionamento da interface P/I do osso e a topografia de superfície do implante. Concluindo que a configuração de plataforma switching mostrou trazer benefícios reais no que diz respeito a ausência da reabsorção óssea inicial.

COVANI et al. (2006) examinaram a distribuição de bactéria dentro da superfície interna e externa de implantes perdidos, através de uma análise histológica. Foram analisados dez implantes de titânio puro e cinco implantes implantes de titânio revestido com hidroxiapatita, removidos após vários anos depois de sua colocação. Os critérios para remoção de fixação foram radiolucidez e mobilidade clínica. Os implantes foram removidos mantendo os pilares com o objetivo de observar a infiltração bacteriana no nível da interface pilar/implante e na superfície do implante. O exame histológico das amostras experimentais mostrou flora bacteriana, células epiteliais e tecido fibroso em torno da superfície do implante. As células bacterianas foram compostas de cocos e filamentos, os quais estavam aderidos na superfície dos implantes com uma orientação perpendicular ao seu longo eixo. Numerosos microorganismos em uma distribuição não uniforme infiltraram nos tecidos moles.

Todas as amostras incluídas nestes estudos mostraram bactérias ao nível da interface P/I. Os cortes histológicos no plano da interface P/I revelaram um forte crescimento das bactérias. Nenhuma relação pode ser observada entre o tipo e tamanho do implante e a morfologia das bactérias encontradas no nível da interface. A presença das bactérias pode ser considerada como resultado de uma transmissão de microrganismos a partir do meio bucal subsequentes à instalação do pilar. A colonização de bactérias no interior dos sistemas de implantes, tal como seu fluxo ou de seus derivados através da microfenda na interface P/I poderiam criar um risco de inflamação para o tecido mole e perda de suporte ósseo. Estes achados podem legitimar a hipótese que a microfenda no nível ósseo pode apresentar um risco de reabsorção óssea causada por colonização bacteriana.

COELHO et al. (2007) realizaram um estudo para avaliar a fenda existente na interface pilar/implante do sistema hexágono externo. Para isto, utilizaram seis implantes tipo Branemark (Conexão Sistemas de Prótese Ltda, Sao Paulo, Brazil). Os pilares foram instalados e apertados com torque de 20 Nm, como recomendado pelo fabricante. Os implantes foram montados assegurando que o seu longo eixo estivesse perpendicular ao eixo vertical e então a microfenda da interface foi medida para cada implante. Medidas individuais foram obtidas para sua posição radial por meio de interferências trigonométricas. Micrografias ao longo das partes do implante mostraram aproximadamente 300 µm de comprimento da conexão pilar/implante. Todos os implantes apresentaram comunicação entre as regiões internas e externas pela microfenda e imprecisão no alinhamento pilar/implante. Linhas polinomiais mostraram que a microfenda varia de 0 a 10 µm por 250 µm de comprimento da conexão.

KANO et al. (2007) Avaliaram o microespaço na interface P/I no intuito de estabelecer um padrão, de classificação da microfenda na interface que até então

ainda não havia sido estabelecida. Os efeitos desta investigação foram primeiro propor um sistema de classificação baseado no microespaço horizontal e vertical da interface P/I e segundo comparar a interface P/I em quatro grupos de pilares. Quarenta e oito implantes hexágono externo Branemark e seus respectivos pilares (Conexão Master; Conexão Sistema de Prótese, São Paulo, Brasil) foram selecionados aleatoriamente, divididos em quatro grupos de doze espécimes, de acordo com o tipo de pilar: (1) pilares de titânio usinados, (2) pilares calcináveis com cinta pré-usinada de paládio fundidos com liga de paládio, (3) pilares calcináveis plásticos fundidos com liga de níquel cromo e (4) pilares calcináveis plásticos com cobalto cromo (Co-Cr). Antes da medição do desajuste, as amostras de cada grupo foram selecionadas aleatoriamente, e examinados sob uma microscopia eletrônica de varredura, microscopia óptica e fotografados. A partir do qual o desajuste horizontal e vertical foi medido para todas as amostras. O desajuste vertical (A) foi definido como a microfenda vertical, medido a partir do ponto zero em uma linha através do ponto mais externo do implante (não considerando o arredondamento do contorno externo do implante) e na mesma área do pilar. O desajuste horizontal (B) foi definido como a distância horizontal a partir do ponto zero para o contorno exterior do pilar. Não houve diferença significativa entre os grupos com relação ao desajuste vertical. Para desajuste horizontal, pilares de titânio usinados apresentaram desajuste horizontal significativamente maior em comparação com outros grupos ($P < .001$). No sistema de classificação proposto, 23% de todos os locais medidos na interface P/I tinham um relacionamento ideal, 34% tinham apenas uma discrepância horizontal, 4% tinham somente discrepância vertical e 39% tinham tanto vertical como horizontal. Como conclusão deste trabalho os autores relataram a importância de se estabelecer um método de avaliação dos trabalhos que analisam a microfenda da interface P/I, de modo a permitir possíveis comparações entre estudos e diferentes sistemas. Além disso, foi observado um maior desajuste horizontal que vertical, sendo percebidos desajustes em todos os grupos, incluindo o grupo de pilares

usados.

PAOLANTONIO et al. (2008) avaliaram em um estudo *in vivo* o efeito do gel de clorexidina a 1% na descontaminação interna de implantes dentais com pilares parafusados. Para isso dezesseis pacientes do sexo feminino foram submetidos a restaurações unitárias na região de incisivo, canino e pré-molar, iniciadas três meses após a instalação dos implantes. Em geral, coroas metalo-cerâmicas foram cimentados com cimento provisório. Antes do aperto do pilar, o interior de cada peça foi lavada com 10% do volume / H_2O_2 e suavemente secas com o ar. Três meses após o término do tratamento restaurador as coroas foram removidas e a mucosa peri-implantar seca, os parafusos de fixação do pilar foram desapertados, e todos pilares foram removidos. O índice de sangramento de sulco (MBI) e o índice de placa modificados (MPI) foram tomados em quatro locais em torno de cada implante, sendo coletadas amostragens microbiológica dos mesmos. Após a conclusão dos procedimentos clínicos e microbiológicos, os indivíduos foram divididos aleatoriamente em dois grupos iguais: os grupos controle e teste (GC e GT, respectivamente). No GC, após a colocação do pilar e aperto, coroas foram recimentadas sem qualquer outra intervenção. Em contrapartida, no GT, as partes internas do implante foram preenchidas completamente com gel de clorexidina na concentração 1% antes da colocação do pilar. Os procedimentos clínicos e microbiológicos foram repetidos em ambos os grupos. Durante o período de acompanhamento os parâmetros clínicos se mantiveram constantes durante todo o estudo, entretanto a avaliação microbiológica mostrou uma redução significativa de bactérias periodonto patogênicas no GT. Levando os autores a concluir que a utilização do gel de clorexidina a 1% mostrou-se ser um método fácil e eficaz ao longo de 6 meses para controle de bactérias periodonto patogênicas nas partes internas dos implantes.

DO NASCIMENTO et al. (2008), em estudo *in vitro* avaliou a microinfiltração bacteriológica utilizando cultura convecional de bactéria anaérobica. Para isso, foram selecionados vinte implantes Branemark compatíveis (SIN[®], São Paulo, Brasil) a serem divididos em dois grupos contendo dez pilares cada. O primeiro era composto de pilares com cinta pré-fabricadas de Co-Cr e luva plástica fundida em Ni-Cr e o segundo grupo por um pilar plástico fundido em liga Ni-Cr. Todos os pilares foram fundidos usando a mesma quantidade de liga e de acordo com as instruções do fabricante. Uma cultura pura de *F.nucleatum* (ATCC 25586), foi incubada em condições anaeróbicas, para avaliação microbiológica. Então uma suspensão bacteriana foi preparada pelo cultivo dos microorganismos em TSB_y (Tryptic Soy Broth yeast, Difco, USA), incubadas por 48 h em 35 °C e sendo diluído posteriormente em caldo nutritivo no padrão de 0,5 McFarland (1×10^8 unidades de colônia formadas por mL-UFC/mL). Sobre condições estéreis, foi inoculado 3,0 µl desta suspensão de *F.nucleatum* no interior do implante usando micropipeta. Os pilares foram conectados cuidadosamente no implante com parafuso de titânio o qual recebeu um torque de 32 Ncm, de acordo com as instruções do fabricante. Para inoculação dos microorganismos e conexão do pilar, os implantes foram prendidos com alicates estéreis para permitir uma ação firme do torque. A parte superior dos conjuntos pilar-implante foi selada com uma camada de guta-percha (meta Biomed Co., EUA) e adesivo a base de cianoacrilato (SuperBonder, Loctite, Brasil).O conjunto foi imerso por 30 segundos em 5.0 ml da solução estéril de caldo nutritivo a base de soja para avaliação da contaminação externa. Tubos com um caldo turvo (indicativo de colonização) foram excluídos da próxima observação após a avaliação do crescimento bacteriano nas placas. Os conjuntos restantes foram então completamente imersos em 5,0 mL da mesma solução de nutriente e incubados em 35°C sobre condições anaeróbicas por 14 dias para avaliação da infiltração na junção pilar-implante. Possíveis penetrações de bactéria na solução foram avaliadas diariamente analisando

a claridade da solução. Na análise dos resultados 2 das 18 amostras examinadas, sendo uma de cada grupo, foram excluídas pela ocorrência da contaminação externa durante a inoculação. Os pilares fundidos e pré-fabricados mostraram mínimos sinais de infiltração pela interface. Depois de 14 dias, somente em duas amostras, sendo uma amostra em cada grupo apresentaram sinais de contaminação. Somente uma em cada 9 experimentos (11,1%) em cada grupo contaminaram o meio, ambas após 3 dias da inoculação.

COELHO et al. (2008), avaliando a microinfiltração na interface pilar-implante por meio de espectrofotometria e corante azul de toluidina, testaram diferentes sistemas de junção interna, Replace select[®] conexão tipo macho-fêmea; Straumann[®] tipo cone Morse e o hexágono interno modificado intra-lock[®]. Inoculando solução de Azul de toluidina com volume de 0,7µL e submergindo os implantes dentro de uma solução de água destilada até apenas o recobrimento da junção para evitar a comunicação com a interface entre o parafuso de pilar e as partes internas do implante. Cada amostra foi analisada 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96 e 144 h de incubação. Após 144h de incubação 22% das amostras do grupo Intra-lock, 55% do grupo Strumann e 100% do grupo Replace liberaram corante azul de Toluidina.

HARDER e colaboradores (2009) avaliaram a microinfiltração de toxinas bacterianas na interface pilar-implante de sistemas de junção interna tipo Morse, verificaram ainda o tamanho da microfenda marginal através da análise de microscopias eletrônicas de varredura. Dezesseis implantes com conexão Morse, das marcas comerciais Astra tech[®] e Ankylos[®] foram selecionados e divididos em dois grupos Astra[®] e Ankylos[®], sendo compostos de oito amostras cada. Uma suspensão de Lipopolissacarídeos da *Salmonella enterica* foi cultivada. Em condições de esterilidade, e com auxílio de Fórceps e pipeta automática foi inoculado na parte interna dos implantes 0,5 µL de solução de endotoxina, e esses por sua vez foram

apertados seguindo a recomendação do fabricante com auxílio de um torquímetro manual previamente calibrado. As amostras foram acompanhadas após 5 min, 24h, 48h e 168h e a contaminação por endotoxina bacteriana era detectada pelo amebocyte-lysate test. No grupo Astra apenas três implantes não apresentaram sinais de contaminação após 5 minutos. Após 24 horas e 72 horas, dois implantes não mostraram sinais de contaminação e 168 horas apenas um implante não demonstrou sinais de contaminação. Enquanto no grupo de implantes Ankylos todos os implantes mostraram contaminação após 5 min. Quando a microfenda foi avaliada a partir de microscopia de varredura foram encontradas valores de 1-2µm para o sistema Astra e de 4 µm para o sistema Ankylos.

BARBOSA et al. (2009) em estudo *in vitro*, avaliaram a contaminação bacteriana em implantes dentais comparando o método de cultura bacteriana convencional a uma análise de DNA. Vinte amostras compostas por implantes de junção hexagonal externa e componente calcinável (fundido em liga de Ni-Cr) com cinta pré-fabricada em Cr-Co foram selecionados e divididos em dois grupos, sendo dez amostras para o grupo com análise por meio de checagem de DNA, e dez para análise em cultura bacteriana convencional. Uma suspensão da bactéria anaeróbia *Fusobacterium Nucleatum* em caldo nutritivo a base de soja (TSBy) foi cultivada durante 48 horas a 35°C, e posteriormente diluída no padrão 0,5 de McFarland (1 x 10⁸ UFC/mL). Para a primeira análise os conjuntos foram apertados com torque de 32 Ncm, seguindo recomendação do fabricante, tendo os orifícios de acesso ao parafuso de pilar obstruídos com gutta-percha e adesivo a base de cianoacrilato, sendo completamente imersos em suspensão bacteriana previamente preparada, onde foi realizada uma análise de contaminação após período de catorze dias do sentido externo para as partes internas do implante. Decorridos o período de acompanhamento os pilares foram cuidadosamente reabertos com uso de jato de ar. Microbrushes foram abrasionados na superfície das roscas dos parafusos e

internamente ao implante para preparação e análise por DNA. Na avaliação da microinfiltração pela cultura convencional, foram inoculados 3 µL da suspensão bacteriana preparada com auxílio de fórceps e pipeta automática. Os parafusos de pilares apertados com 32 Ncm e o orifício de acesso aos parafusos de pilar foram obstruídos do mesmo modo do primeiro grupo. E um possível extravasamento do caldo inoculado era avaliado com a imersão do implante em um caldo nutritivo por período de 30 segundos, previamente a sua incubação. Então as amostras foram incubadas com recobrimento completo dos conjuntos pilares/implante em solução nutritiva, onde uma possível turbidez do meio (indicativo de contaminação bacteriana) era avaliada diariamente durante um período de 14 dias. Duas amostras foram excluídas de cada grupo devido ao extravasamento da solução inoculada. Das 18 amostras remanescentes, seis sendo três de cada grupo, apresentaram microinfiltração na interface pilar-implante. A análise por DNA bacteriano apesar de detectar a presença bactérias na mesma quantidade de amostras que as encontras pela análise de cultura convencional, segundo os autores demonstrou-se um método mais sensível devido a possibilidade de mensuração quantitativa das bactérias. Por meio da análise de DNA, verificou-se que a quantidade de bactérias nas partes internas do implante foi maior nos primeiros dias decrescendo nos dias seguintes.

DO NASCIMENTO et al. (2009) avaliou a influência de sucessivos apertos na microinfiltração bacteriana da interface P/I. Para isso, utilizou implantes de junção hexagonal externa e pilares usinados em Cromo-cobalto, apertando-os com torque de 32 Ncm com auxílio de um torquímetro manual e obstruindo os orifícios de acesso ao parafuso de pilar com guta-percha e adesivo a base de cianoacrilato. Imergiu totalmente os implantes em suspensão bacteriana de *S.mutans* no padrão 0,5 McFarland acompanhando por catorze dias, parafusos de pilar submetidos a apenas um aperto e após dois apertos. Os implantes ao final dos catorze dias eram jateados com ar reabertos em meio estéril, onde era coletado a partir de um microbrush uma

possível presença de bactérias nas porções internas dos implantes. Esses microbrushs então eram armazenados em solução para análise de DNA e verificação de uma possível presença bacteriana. O método de detecção bacteriana a partir de DNA apresenta uma limitação na percepção da presença de bactérias, pois só consegue detectá-las a partir de concentração superior a 10^4 UFC/mL. Após decorridos catorze dias os resultados demonstraram a contaminação de três amostras para o grupo apertado uma única vez e a contaminação de sete amostras para o grupo apertado 2 vezes. Na análise quantitativa da presença bacteriana os implantes apertados mais de duas vezes apresentaram quantidades significativamente maiores que o grupo apertado uma única vez.

DO NASCIMENTO et al. (2009), avaliou a contaminação interna de implantes dentais utilizando o método de análise de DNA e comparando com infiltração bacteriana convencional em implantes hexágono externo com dois diferentes pilares calcináveis um totalmente plástico e outro com cinta pré-fabricada de Cr-Co e um grupo controle para cada grupo contendo apenas a bactéria dentro do implante sem a colocação do pilar, inoculou-se nos implantes uma suspensão bacteriana de 3 µL de *S.sobrinus* a uma concentração de $\sim 1 \times 10^5$ CFU/mL, com parafusos de pilares apertados com torque de 32 Ncm, e seus orifícios recobertos por guta-percha e adesivo a base de cianoacrilato, totalmente recobertos por caldo nutritivo a base de soja, armazenados a 35°C. Realizou-se acompanhamento analisando a claridade da solução a cada 24h durante 14 dias. E em seus resultados ambos pilares apresentaram mínimos sinais de microinfiltração da interface pilar-implante. Após 14 dias apenas duas amostras apresentaram contaminação, uma de cada grupo, tendo a do grupo I (pilares plásticos) apresentado indicativo de contaminação 72h após inoculação, e a do grupo II (pilares pré-fabricados) 48h após. Quantidades significativamente menores de bactéria foram encontradas na avaliação por DNA

bacteriano nas partes internas dos implantes com cinta pré-fabricada. A quantidade para os implantes com componente calcinável (grupo I) não teve diferença significativa ao grupo controle.

Proposição

6. Proposição

Este estudo teve como objetivo avaliar a microinfiltração bacteriológica *in vitro* da interface P/I em implantes hexágono externo com diferentes torques.

Materiais e Métodos

7. Materiais e Métodos

Para este experimento, foram utilizados nove implantes cilíndricos tipo Branemark com 11 mm de comprimento, conexão tipo hexagonal externa (HE) torque externo, parafuso de pilar e pilar cônico com altura da cinta metálica de 4 mm (NEODENT® implantes osseointegráveis, CURITIBA, BRASIL), selecionados aleatoriamente e divididos em três grupos de três implantes cada. Utilizados em duas fases do experimento e inoculados com uma suspensão bacteriana de *Escherichia coli* à densidade padrão de 0,5 McFarland acompanhados a cada 24 horas durante catorze dias. A primeira fase foi realizada com objetivo de verificação do volume ideal ou o mais próximo possível deste valor, para inoculação da suspensão bacteriana na segunda fase do experimento. Enquanto que na segunda fase foi realizada a inoculação do volume encontrado na primeira fase submetendo os pilares a diferentes torques de inserção. Com intuito de verificar-se a influência do torque na microinfiltração da interface P/I.



Figura 1 – Implante HE e Pilar cônico e respectivo parafuso

Para a primeira fase do experimento os implantes foram divididos aleatoriamente em três grupos com três amostras cada. Sendo o grupo V0,5: composto por implantes HE, pilares e parafusos de pilares inoculados com volume de 0,5 µL de suspensão bacteriana, grupo V1,0: composto pelos mesmos componentes e inoculados com volume de 1,0 µL e o grupo V1,5: semelhante aos grupos anteriores e inoculados com volume de 1,5 µL. Todos os grupos foram apertados com catraca torquimetro manual previamente calibrada e torque de 20 Ncm, como recomendado pelo fabricante.

Para a segunda fase deste estudo o experimento foi repetido três vezes para verificação de reprodutibilidade.¹⁴ Sendo os implantes divididos em três grupos de diferentes torques: Grupo 10 Ncm – T10: composto por implantes HE, pilar cônico e parafuso de pilar de titânio, com aplicação de torque de 10 Ncm; Grupo 20 Ncm – T20: composto por implantes, pilares e parafusos de pilar com aplicação de torque de 20 Ncm e Grupo 32Ncm – T32: composto pelos mesmos tipos de implante e componentes protéticos dos grupos anteriores, sendo apertado com torque de 32 Ncm.

Para o início do ensaio foi realizado previamente uma diluição de caldo nutritivo de BHI (Brain Heart Infusion, Biolife, Milano, Itália) (Fig.2) preparado em proporção seguindo recomendações do fabricante e distribuído em tubos de ensaio com volumes de 3 mL (Fig. 3). Proporcionado com auxílio de uma balança de precisão (BG 2000, Gehaka) 3,7g de BHI para 100mL de água destilada e misturados em balão volumétrico de fundo chato até a homogeneização da solução. Esses tubos contendo caldo de BHI foram então esterelizados em autoclave em temperatura de 121°C sob pressão de 1 atm durante 15 minutos.



Figura 2 – Brain Heart Infusion (BHI)

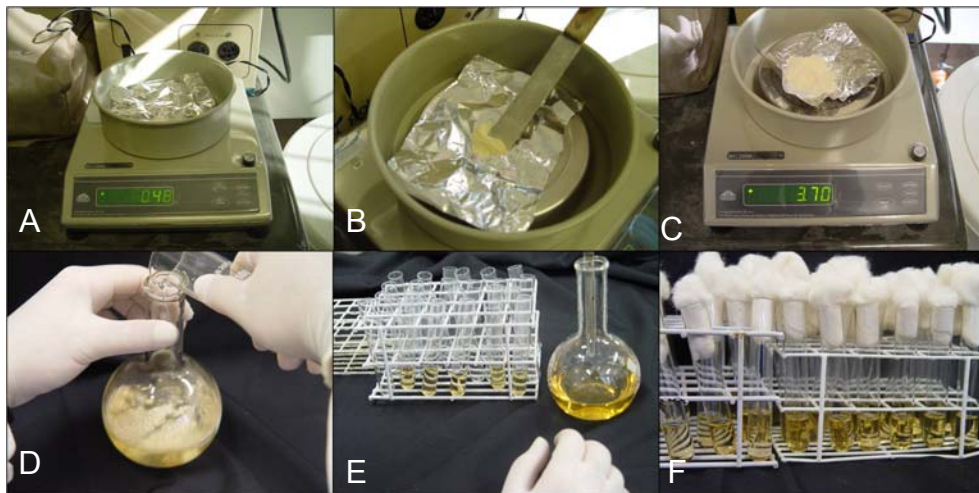


Figura 3. Procedimentos de diluição do caldo. A. Tara da balança; B e C. Pesagem do BHI; D. Diluição do nutriente em água destilada; E e F. Distribuição da suspensão nos tubos de ensaio.

Uma cultura pura de *Escherichia coli* (American Type Culture Collection - ATCC 35218) foi incubada em placa de petri com meio nutritivo de MacConkey Agar (HiMedia Laboratories, Mumbai, Índia) durante 24 horas a uma temperatura controlada de 37°C em estufa (BIOMATIC, Porto Alegre, Brasil) para avaliação microbiológica. Sendo após esta avaliação produzida uma suspensão de bactérias preparada cultivando o microorganismo em BHI (Brain Heart Infusion, Difco, USA) e incubando-o por 24h a 37°C em estufa (BIOMATIC, Porto Alegre, Brasil) (Figura 4, 5, 6, 7).

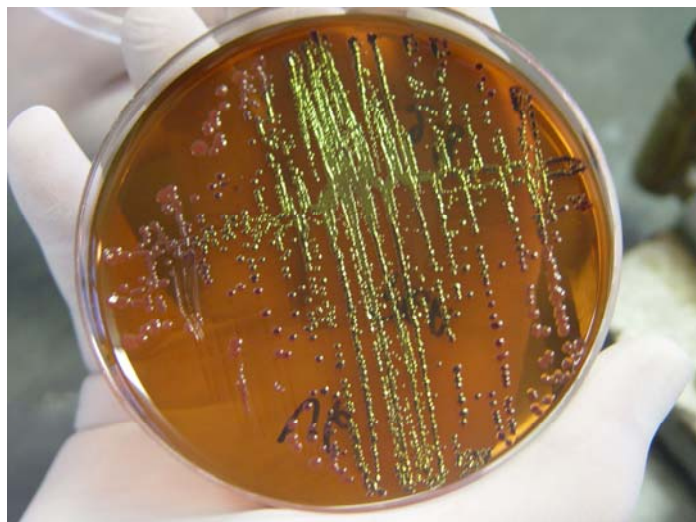


Figura 4 - Cultura de Escherichia Coli ATCC (35218)



Figura 5 – Remoção de uma colônia de bactérias para crescimento em caldo nutritivo



Figura 6 – Colocação de bactéria no caldo para crescimento

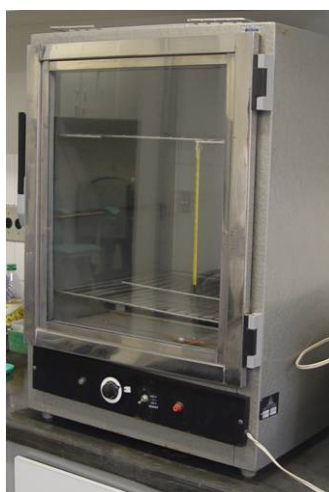


Figura 7 – Incubação da suspensão para crescimento em estufa a 37 °C

Os equipamentos utilizados no experimento: ponteiras para pipeta automática (AXYGEN, UNION CITY, EUA), morsa, pinças, torquímetros (NEODENT® Implantes Osseointegráveis), chaves (NEODENT® Implantes Osseointegráveis), tubos tipo eppendorfs (AXYGEN, UNION CITY, EUA), tubos de ensaio, caldos de BHI foram esterilizados em autoclave a uma temperatura de 121°C sob 1 atm de pressão durante período de 15 minutos, com exceção daqueles já previamente estéreis: Implantes, pilares e Luvas cirúrgicas (Guilin S.R.C. Látex Factory, Guilin, China). Previamente ao início do experimento, foi realizada a desinfecção do fluxo laminar (VECO, Campinas, Brazil) com álcool 70% em todas as suas paredes e ativação posterior de Luz

ultravioleta (UV) (PHILIPS 15w/g, Holanda) por tempo de 20 minutos. A partir dessas condições, todos os materiais necessários para o ensaio foram levados ao fluxo laminar, onde a Luz UV novamente foi ativada por 20 minutos para esterilização de superfície (Figura 8 e 10). Quando faltavam aproximadamente cinco minutos para o fim da utilização da Luz UV foi realizada diluição da suspensão bacteriana a uma densidade padrão de 0,5 McFarland (1×10^8 unidades formadoras de colônia/mL – CFU/mL) (Figura 9). Após este período, o operador do ensaio entrou no fluxo laminar com as mãos previamente lavadas com água e sabão neutro e tripla desinfecção com álcool 70%, calçou as luvas cirúrgicas para início do teste. Os materiais foram abertos e posicionados. Os tubos tipo eppendorf utilizados para armazenamento dos implantes foram preenchidos com auxílio de pipeta automática calibrada (20-200µL, DIGIPET) até aproximadamente 140µL de BHI e posicionados em estantes, onde aguardavam a sua utilização. Os implantes foram posicionados com auxílio de uma pinça no dispositivo e apertados próximos a seu ápice por um parafuso apertado com uma chave tipo Allen. Um swab foi fricionado na plataforma do implante, para avaliação de sua esterilidade através do armazenamento deste em solução estéril de BHI e acompanhamento microbiológico por 24 horas. A pipeta automática (0,1-20µL, LABMATE+, HT, Polônia) encarregada da inoculação bacteriana foi indexada em um dispositivo de inserção desenvolvido para este trabalho preso ao braço móvel de um delineador (BIOART, São Carlos, São Paulo) com intuito de diminuir falhas do operador a mão livre (Figura 11), onde sua ponteira foi instalada e carregada com volume de 0,5 (V0,5), 1,0 (V1,0) e 1,5 µL (V1,5) de suspensão de *E. coli* previamente diluída ao padrão 0,5 de McFarland (1×10^8 unidades formadoras de colônia/mL – UFC/mL) para cada respectivo grupo na primeira fase deste estudo e com 0,5 µL da mesma suspensão na segunda fase. (Figura 12 e 13)

Após esse procedimento, a parte interna do implante foi inoculada, os pilares conectados cuidadosamente ao implante com auxílio de uma pinça, apertados com

auxílio de uma chave cônica e catraca torquímetro manual previamente calibrada por três operadores (Tabela 1) na empresa fabricante (NEODENT implantes osseointegráveis, Curitiba, Brasil), e apertado com torques 10, 20 e 32 Ncm respectivamente de acordo com o grupo. Novamente, um *swab* foi esfregado na interface P/I para controle do extravasamento do caldo bacteriano após o aperto dos pilares, com o objetivo de verificar um possível extravasamento de solução ocasionado pela conexão dos componentes protéticos. As amostras foram imersas em solução de BHI estéril previamente distribuída nos tubos tipo eppendorf até o recobrimento da junção pela solução para análise da microinfiltração (Figura 14). Os tubos tipo eppendorf e os tubos de ensaio que armazenavam os *swabs*, respectivamente, foram levados a estufa (BIOMATIC, Porto Alegre, Brasil) onde foram incubados a uma temperatura de 37°C controlada por 14 dias para avaliação do infiltrado bacteriológico na interface P/I. A possível microinfiltração de bactérias foi avaliada a cada 24 horas pelo exame da claridade da solução. Os tubos com solução turva sugerem que houve o escapamento das bactérias da região interna da conexão pilar-implante. Foram excluídos aqueles frascos onde a solução de armazenamento do *swab* apresentou-se turva (indicativo de colonização). Após decorridos os catorze dias os implantes foram levados ao fluxo laminar em condições de esterilidade, onde tiveram a junção reaberta e seus componentes imersos em tubos tipo eppendorf com nova solução de BHI estéril para verificação da viabilidade da bactéria, ou seja, se após os 14 dias de ensaio elas continuariam vivas ou morreriam internamente durante o período de experimento, indicando dessa forma um resultado falso negativo. Então se fosse constatado este fato, as amostras que apresentassem essa característica também seriam excluídas.

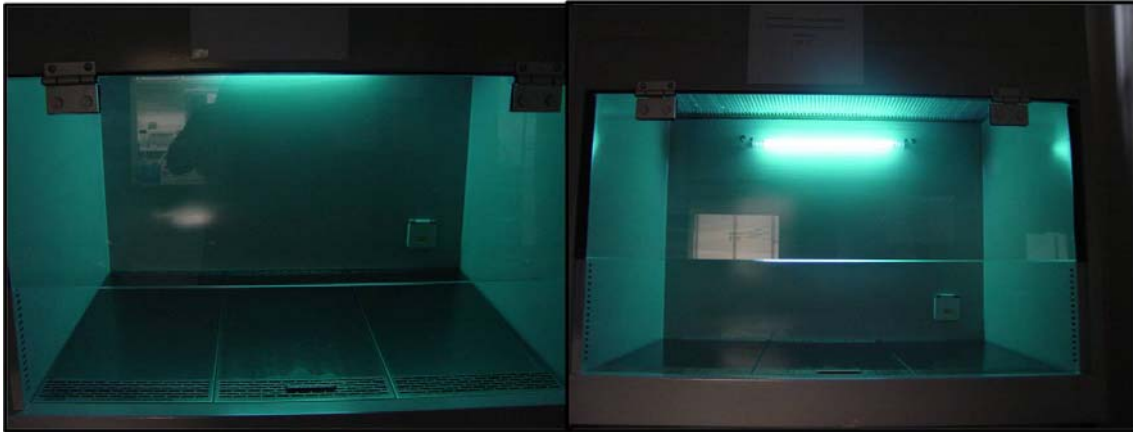


Figura 8 – Desinfecção do fluxo laminar e esterilização de superfície com lâmpada UV

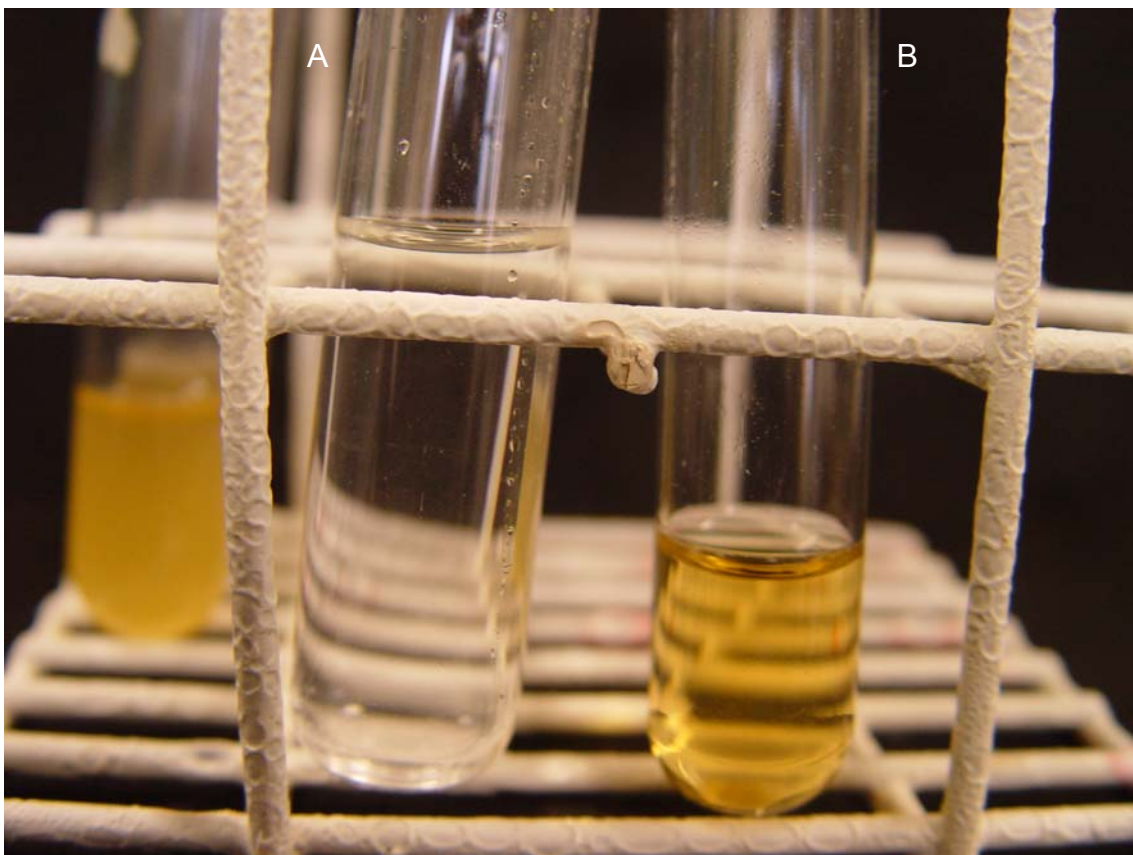


Figura 9 - Diluição da suspensão bacteriana a padrão 0,5 de McFarland. A. Escala Nefelométrica no padrão 0.5 McFarland; B. Diluição bacteriana na escala 0.5 McFarland.



Figura 10 – Esterilização de superfície do Material a ser utilizado

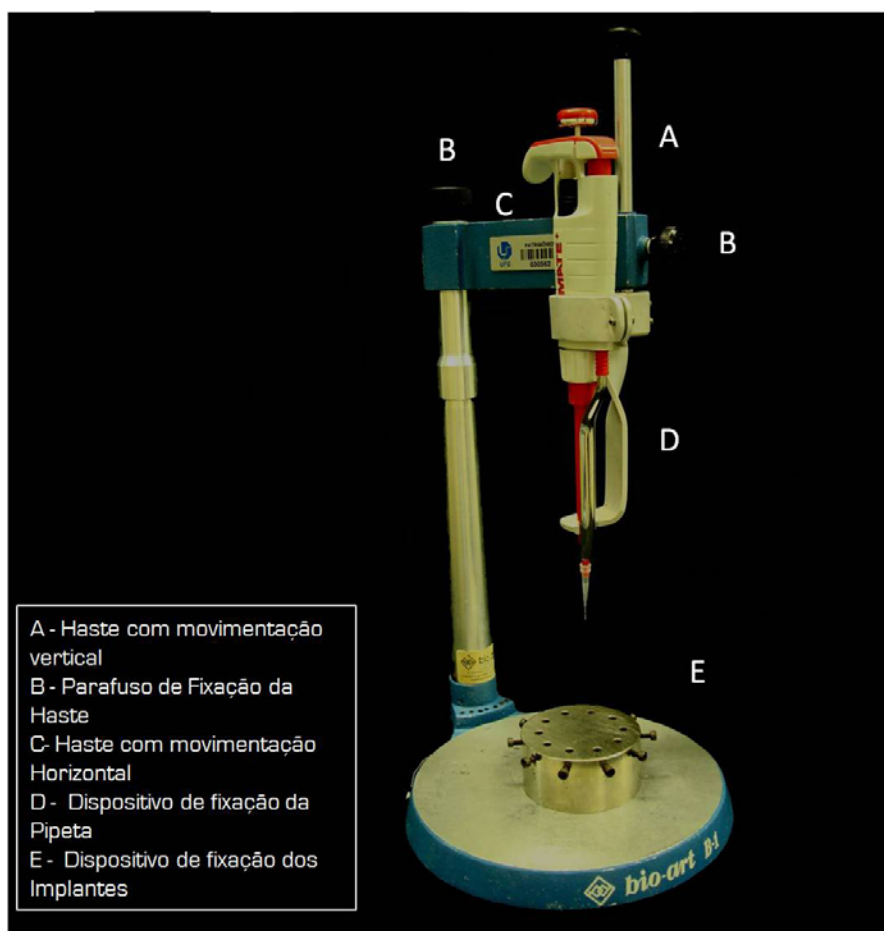


Figura 11 – Dispositico experimental

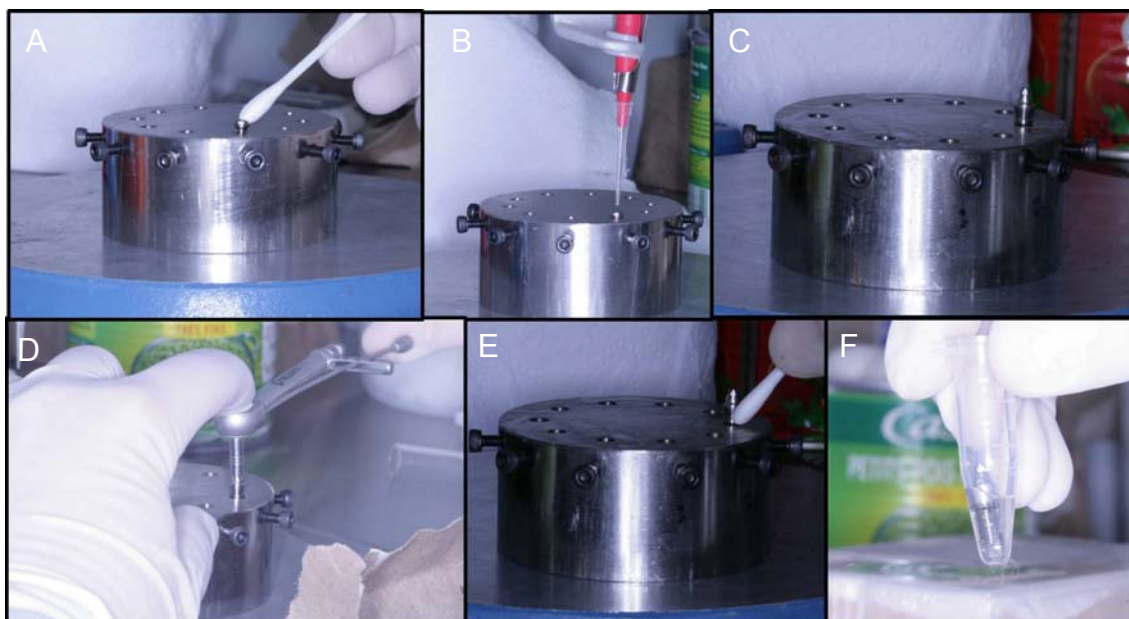


Figura 12 Passo a passo do experimento *in vitro*. A. Controle com *swab* antes inoculação; B. Inoculação da suspensão bacteriana; C. Instalação do pilar; D. Aplicação de torque no pilar; E. Controle de extravasamento pós-inoculação; F. Incubação dos Implantes



Figura 13 – Inoculação de suspensão bacteriana nos implantes

Torquímetro	Valor real encontrado quando a vareta indicava 10 Ncm			Valor real encontrado quando a vareta indicava 20 Ncm			Valor real encontrado quando a vareta indicava 32 Ncm		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	11.0	10.9	10.5	19.9	19.9	20.2	31.2	32.9	32.3
2	9.9	9.2	9.5	20.3	19.6	19.5	32.4	31.6	31.7
3	11.2	12.1	12.5	21.9	22.2	21.8	34.1	34.2	34.0
4	10.3	10.8	10.5	19.4	19.2	19.5	31.5	31.4	31.4
5	10.6	10.4	10.0	20.5	20.3	20.5	32.1	32.1	32.1
6	9.3	9.3	9.5	21.0	20.2	20.3	32.0	32.1	32.3

Tabela 1 – Calibração dos torquímetros realizada por 3 operadores.

Resultados

8. Resultados

Primeira Fase

Na primeira fase do experimento os *swabs* friccionados na interface P/I após a instalação do componente protético dos grupos V1,0 e V1,5 apresentaram-se após 24 horas com turbidez da suspensão de BHI contida nos tubos de ensaio. Indicativo de extravasamento da suspensão de bactérias inoculada nas partes internas do implante. Portanto indicando que para o desenho de implante utilizado neste estudo o volume de 0,5 µL (V0,5) mostrou ser mais satisfatório.

Segunda Fase

A segunda fase do experimento foi realizada três vezes para verificação da reprodutibilidade. Em cada etapa desta fase, os grupos continham três amostras cada, que ao serem somadas representam nas tabelas respectivamente: 1, 2 e 3 etapa I; 4, 5, 6 etapa II e 7, 8, 9 etapa III. (Tabelas 2, 3, 4)

Após análise dos *swabs* 24 horas após o experimento uma das amostras da etapa III do T20 apresentou-se contaminada após avaliação do controle de extravasamento e, portanto foi excluída do trabalho. Nas primeiras 24 horas de avaliação duas amostras do T10 da etapa III e uma amostra do T20 da etapa II, se apresentaram com turbidez do caldo, indicativo de microinfiltração bacteriológica (Tabela 2 e 3). Após acompanhamento de catorze dias nenhuma amostra apresentou mais sinais de microinfiltração bacteriológica. Transcorridos o período de acompanhamento os implantes foram levados novamente ao fluxo laminar em condições de esterilidade, reabertos e imersos completamente em caldo nutritivo de BHI para análise microbiológica. Após 24 horas da imersão das amostras reabertas todas apresentaram turbidez do meio, indicativo de crescimento bacteriano. E,

portanto, demonstraram a viabilidade bacteriológica após catorze dias nas partes internas do implante (Fig.18).

Tabela 2 Resultados do grupo apertado com torque de 10Ncm

Amostra	Dia													
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	7 ^o	8 ^o	9 ^o	10 ^o	11 ^o	12 ^o	13 ^o	14 ^o
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 3 Resultados do grupo apertado com torque de 20Ncm

Amostra	Dia													
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	7 ^o	8 ^o	9 ^o	10 ^o	11 ^o	12 ^o	13 ^o	14 ^o
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Amostra Excluída													
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 4 Resultado do grupo apertado com torque de 32 Ncm

Amostra	Dia													
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	7 ^o	8 ^o	9 ^o	10 ^o	11 ^o	12 ^o	13 ^o	14 ^o
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

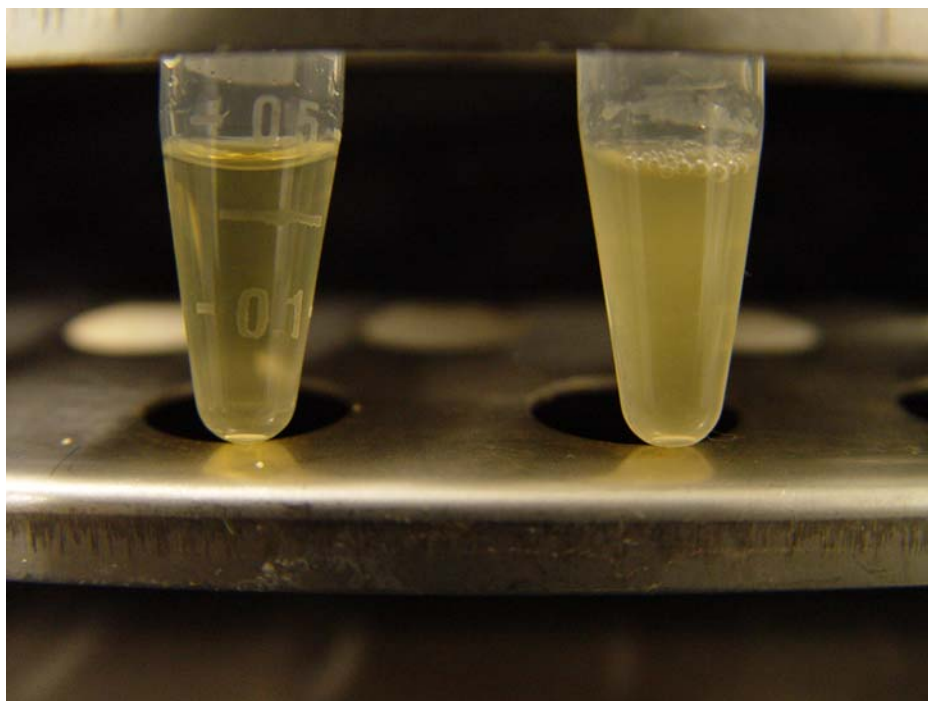


Figura 14 – Controle Negativo (esquerda) e Positivo (direita)

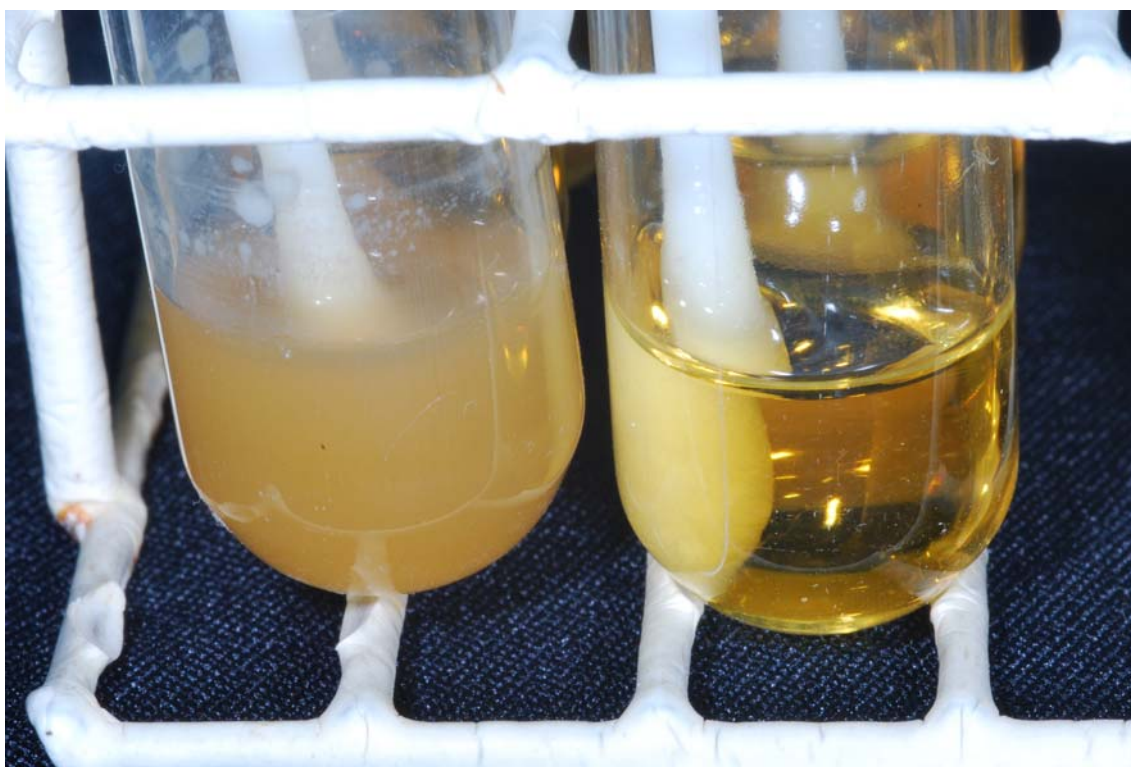


Figura 15 – Controle com *swab* dos grupos V1,0 e V1,5. Esquerda: *swab* pós inoculação; direita: *swab* antes da inoculação.

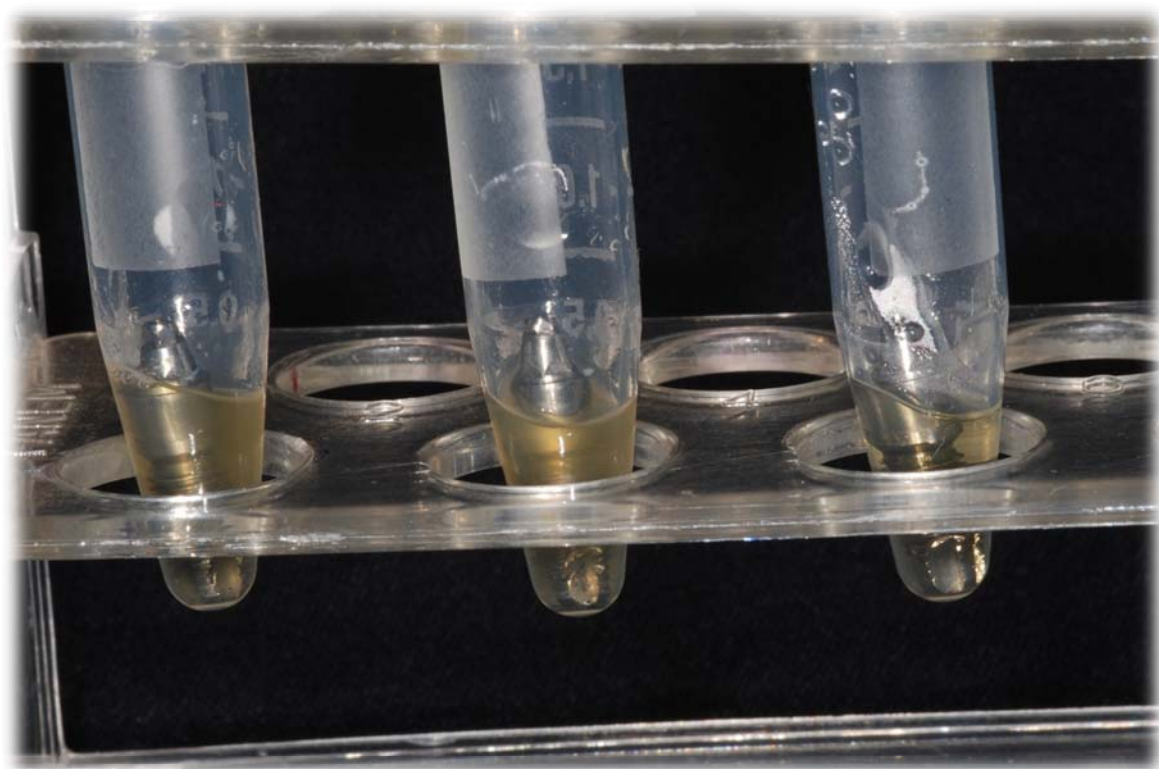


Figura 16 – Resultado positivo para microinfiltração T10. (duas amostras a esquerda)



Figura 17 – Resultado positivo para microinfiltração T20 (esquerda). Amostra com resultado negativo (direita)

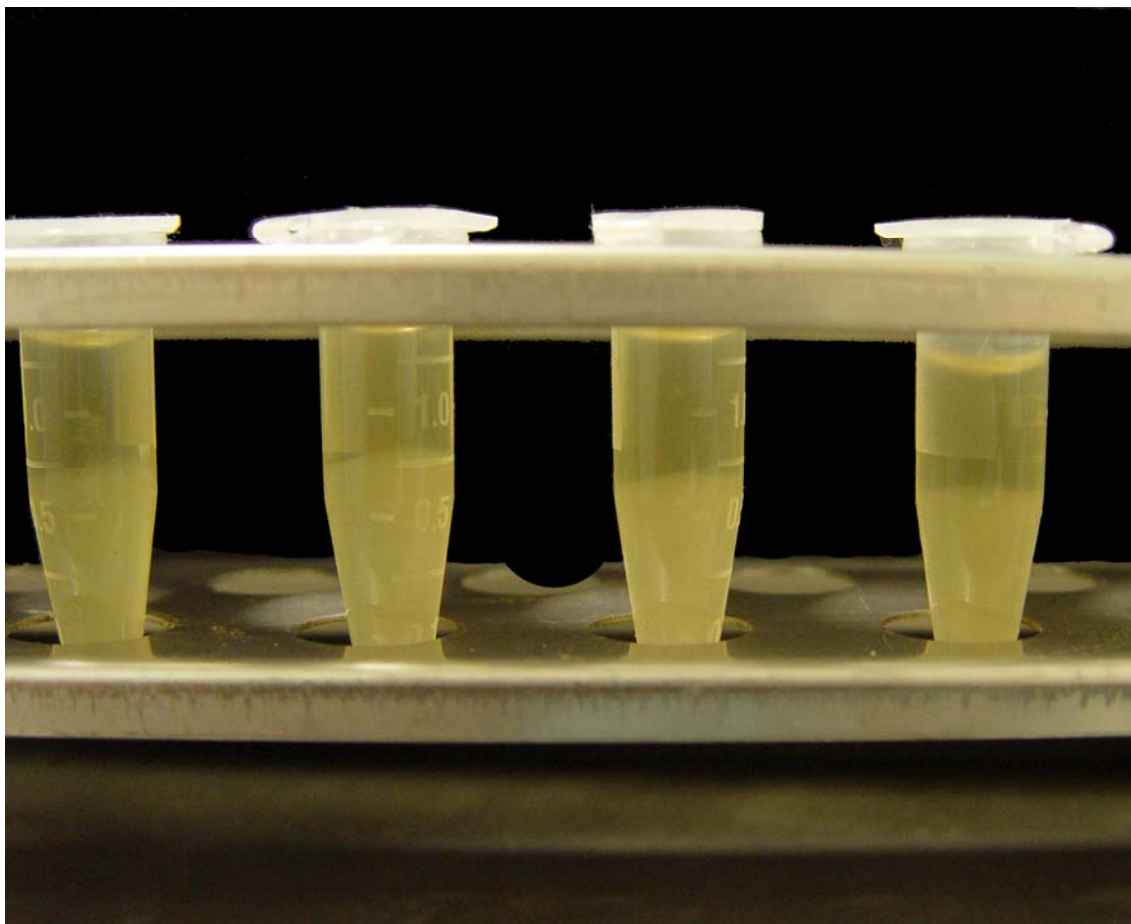


Figura 18 – Teste microbiológico de viabilidade das bactérias internas aos implantes após período de 14 dias. Foto mostrando a turbidez da suspensão de todas as amostras.

Discussão

9. Discussão

Na primeira fase deste estudo foi realizado um teste inicial com o objetivo de se determinar o volume ideal ou mais próximo possível para o ensaio *in vitro*, com o sistema de implante utilizado neste experimento. Após a avaliação dos resultados desta fase, foi observado que os grupos V1,0 e V1,5 apresentaram resultados positivos para o controle de extravasamento da suspensão bacteriana realizado com os *swabs* pós-inoculação, avaliados nas primeiras 24 horas. Indicando que o volume interno do implante foi excedido. Quando observamos a tabela 5, dos estudos que avaliaram a infiltração marginal em implantes, percebemos que naqueles em que se avaliou a saída de bactérias e fluídos do meio interno para o meio externo, vários volumes foram utilizados,^{12-15,18-20,23,24,26,27} fato natural devido à diversidade de sistemas. Entretanto o nível de inóculo dentro das partes internas do implante pode influenciar na sua saída das partes mais internas, fator crítico na utilização de um mesmo volume para diferentes sistemas de diferentes empresas.

Segundo Byrne e colaboradores¹⁰ a presença de desajuste da interface P/I pode influenciar no grau do fluxo de bactérias nesta região. O nível de ajuste ou assentamento dos componentes protéticos está diretamente relacionando com o torque ao qual são submetidos.^{6,38} Portanto o presente estudo selecionou diferentes níveis de apertos para um mesmo sistema com o objetivo de avaliar a sua possível relação na microinfiltração bacteriana na interface P/I. Na avaliação dos resultados os implantes submetidos ao torque de 10 Ncm apresentaram maior índice de infiltração seguidos dos implantes com torque de 20 Ncm. Apesar de poucas amostras terem apresentado essa infiltração o nível de apertamento e assentamento dos componentes parece ter influenciado no grau de percolação bacteriana na conexão P/I. O que corrobora com achados anteriores.²⁶

A mensuração da microfenda formada pela conexão P/I é um aspecto muito questionado atualmente, tal como sua influência nos aspectos mecânicos e biológicos.^{15,18,21,29,30} Entretanto, estudos relatam que esta fenda é em torno de 1 a 49 µm dependendo do sistema,^{15,18,29,30} podendo ser aumentada sobre carregamento mecânico^{11,12} fator que poderia favorecer um maior fluxo de bactérias na interface.

Os estudos microbiológicos de forma geral são muito críticos, devido ao manuseamento de agentes biológicos susceptíveis a alterações do meio em que são utilizados e armazenados. Isto torna-se ainda mais evidente quando esse meio de trabalho tem proporções milimétricas e condições limitadas de alimentação e oxigenação para os microrganismos como é observado em testes microbiológicos *in vitro* utilizando implantes. Portanto são necessários procedimentos que diminuam ao máximo as adicionais possibilidades de falhas relacionadas ao operador do experimento. Além disso, é de fundamental importância o estabelecimento de uma metodologia que possa permitir aos pesquisadores resultados reproduzíveis, que possam levar a análise e comparação da microinfiltração bacteriana na interface P/I de diferentes sistemas, implantes e componentes. Pensando nesta questão, visto que apenas um trabalho atentou-se para este fato,¹⁴ o presente estudo foi realizado em três etapas buscando verificar reprodutibilidade da metodologia e de seus resultados.

Os implantes foram apenas submergidos até o recobrimento da junção P/I,^{12-15,18-20} para que não se tivesse uma interferência de resultados pelo fluxo de microorganismos na interface pilar e parafuso de pilar, como observado em estudo anterior⁹ e nem se utilizasse métodos de obliteração por materiais que poderiam não ser eficientes.^{12,13,20,21,23,24} Baseado nisso, os pilares selecionados possuíam cinta metálica de 4 mm para que houvesse o recobrimento da interface P/I sem possibilidade de contato do caldo nutritivo com o parafuso de retenção do pilar.

A bactéria utilizada para este experimento *in vitro* foi a *E. coli*, bactéria anaeróbia facultativa, em forma de bacilo, de 1,1 a 1,5 µm de diâmetro e 2 a 6 µm de comprimento, com grande capacidade de motilidade^{12,18} e sobrevivência em meios adversos, fato que lhe classifica como uma bactéria promíscua. Estas características levaram a escolha desta bactéria, já que as partes internas do implante representam um ambiente muito adverso para sua sobrevivência (Fig. 1), devido às condições de pouca oxigenação e alimentação durante o período de catorze dias em volume de 0,5 µL de caldo nutritivo. Estudos *in vitro* com bactérias corpusculares^{13,18,19,23,24} relatam que a maioria das infiltrações ocorrem nos primeiros dois dias de acompanhamento, dados estes que assemelham-se com os resultados encontrados no presente estudo. Isto deve ocorrer devido à provável diminuição de líquido e nutriente para as bactérias, fator este, que acarreta na diminuição significativa do seu número. O que poderia sugerir que após maiores períodos que as bactérias poderiam morrer. Após catorze dias de acompanhamento os implantes foram reabertos e constatou-se em todas as amostras o crescimento microbiológico após 24 horas, indicando que a bactéria inoculada internamente nos implantes estava viável, procedimento não realizado em estudos anteriores e que infelizmente abre espaço para questionamentos que indicam a não movimentação bacteriana na interface.¹⁴ A microinfiltração nos primeiros dias reforça a teoria de que após alguns dias as condições nas partes internas do implante ficam extremamente adversas a sobrevivência, reprodução e motilidade das bactérias para o meio externo.

Diversos trabalhos aplicam métodos utilizando bactérias,^{9,12-14,18-25} suas toxinas¹⁵ e até mesmo corantes^{21,26,27} para avaliar a microinfiltração da interface P/I de diferentes sistemas e tipos de conexões. Entretanto seus resultados demonstram grande variabilidade (Tabela 5), fato este, sugere que esta variabilidade pode estar relacionada as metodologia aplicadas.

Alguns estudos de avaliação da infiltração da interface P/I utilizam Fórceps para apreensão dos implantes para inoculação e adaptação dos intermediários.^{13-15,18-20,23,24} Esse procedimento na maioria desses testes ainda é agravado pela inoculação a mão livre.^{12-15,18-20,23,24,26,27} O orifício do implante tem cerca de 2 a 3 mm na maioria dos sistemas, espaço de trabalho reduzido que nas condições acima necessitaria altíssima precisão do operador, pois um possível toque nas bordas do implante poderia gerar resultados falso positivos, facilitando a passagem da bactéria ao meio externo. Além disso, uma apreensão com força exacerbada, em áreas próximas a plataforma poderia, gerar uma deformação no corpo do implante de titânio material de característica dúctil.³¹ Baseado neste motivo e na dificuldade encontrada para esta inoculação, os autores deste estudo desenvolveram dois dispositivos, sendo o primeiro de apreensão dos implantes no qual um parafuso prendeu-os mais apicalmente possível e o segundo um suporte para pipeta automática afixado a uma haste que permitia o seu travamento na posição mais precisa para inoculação da suspensão bacteriana nos implantes. (Fig. 11)

Os resultados deste trabalho, e estudos in vitro mais recentes avaliando a microinfiltração bacteriológica^{13,14,23-25} demonstram que em condições estáticas esta microinfiltração não é tão relevante como anteriormente se pensava,¹⁸⁻²¹ principalmente quando se falava de junção hexagonal externa. Apesar de haverem indícios de que com o carregamento cíclico a microfenda possa aumentar e favorecer uma maior infiltração de fluídos principalmente na junção externa devido sua menor estabilidade.^{11,12} Harder e colaboradores¹⁵ em 2009, relataram que mesmo junções estáveis, cônicas internas de microfenda em torno de 2 a 4µm permitem a infiltração de toxinas de tamanhos moleculares, presentes nas paredes celulares das bactérias e que são as principais responsáveis pelo processo de destruição da crista óssea.³² Este fato sugere que o processo de perda óssea marginal está mais diretamente ligado a distância da junção da crista óssea⁴ que propriamente devido ao fluxo de bactérias

nesta área.^{1,16,18} Os resultados deste estudo indicam que sobre condições estáticas os implantes apertados com torque de 32Ncm não permitem fluxo de bactérias na interface P/I. Apesar das condições estáticas não representarem as condições da conexão em função, o presente trabalho não realizou carregamento cíclico por entender que a metodologia não apresentava reprodutibilidade suficiente e ainda possibilidades de interferência do operador. Apenas após um momento inicial onde estas questões pudessem ser solucionadas o teste em condições dinâmicas poderia ser realizado com maior segurança. Um estudo reportou o comportamento de diversos sistemas sob carregamento cíclico, apresentando em seus resultados que todos esses sistemas demonstraram infiltração após 1.200.000 ciclos.¹² Entretanto, tal estudo não relata precisamente se utilizou a mesma quantidade de suspensão bacteriana para os diferentes sistemas, ou volumes próximos ao limites internos de cada um deles. Abrindo assim, uma possibilidade variação, embora tenha dado indícios de que sob carregamento mecânico as conexões sofrem micromovimentações que podem influenciar na infiltração da interface.

Avaliações da microinfiltração na interface P/I, do sentido externo para as partes internas são também muito encontrados na literatura,^{14,19-22,25} Entretanto esta metodologia apresenta dificuldades ainda maiores, devido a insegurança na descontaminação das amostras e possível possibilidade de resultados falsos positivos. Essas desinfecções são realizadas ora por jatos de ar,²⁵ ora por substâncias desinfetantes.^{14,19-22} Além disso, a avaliação dos seus resultados é realizada uma única vez, impossibilitando a análise do crescimento e capacidade da bactéria ao longo do tempo. Alguns trabalhos reportam que a análise no sentido externo-interno abre uma nova possibilidade de avaliação quantitativa do grau de microinfiltração através de análise de DNA bacteriano.²³⁻²⁵ Contudo esta análise é de certa forma controversa, já que o método é mais difícil de ser realizado e só consegue detectar as bactérias a partir de um certo número de colônias. É importante que uma metodologia

seja definida de forma possível de ser executada, e consequentemente tenha-se reprodutibilidade para que seja possível a comparação confiável entre estudos.

Portanto, mais estudos devem ser realizados, comparando a infiltração bacteriológica de bactérias corpusculares tanto quanto suas toxinas ou até mesmo utilizando corantes substâncias de tamanhos moleculares semelhantes às toxinas, em diferentes sistemas, e sobre carregamento para se avaliar de forma mais precisa a real importância desta microfenda no fluxo bacteriano. Entretanto, para isso é necessário que a metodologia seja bem executada diminuindo ao máximo as possibilidades de influência do operador.

Tabela 5 – Estudos in vitro avaliando microinfiltração bacteriológica

Autor/Trabalho/ Revista	Sistema e Diâmetro	Nº amostras	Vol./ toque	Acompan hamento	Conc. de Bactérias	Bactéria Utilizada	Resultados
Quirynen, 1994 Clin Oral Imp Res	Branemark	8	Recobri mento parcial e total 10Ncm	7 dias	-	<i>Bactérias da Flora Oral</i>	Todas as amostras
Jansen, 1997 JOMI	Ankylos®, Astra Tech®, ITI®, Brånemark®, Calcitek®, Frialit- 2®, Ha-Ti®, IMZ® e Semados®	Variável com relação ao grupo	0,5µL Fab.	14 dias	0,5 McFarland	<i>E. coli</i>	Todos extravasaram com menor incidência para com dispositivo de silicone
Guindy, 1998 J Oral Rehabil Fase 1	Ha-Ti – HI (4,5mm)	10	Meio Externo 3 mL*	5 dias	8 x 10 ⁸ UFC/mL (4 McFarland)	<i>S. aureus</i>	Todas amostras
Guindy, 1998 J Oral Rehabil Fase 2	Ha-Ti – HI (4,5mm)	10	2 µL	5 dias	8 x 10 ⁸ UFC/mL (4 McFarland)	<i>S. aureus</i>	Todas amostras
Besimo, 1999 JOMI	Ha-Ti – HI (4,5mm)	30	Meio Externo*	11 semanas	8 x 10 ⁸ UFC/mL (4	<i>S. aureus</i>	Uma amostra

Fase 1					McFarland)		
4 mL							
Besimo, 1999	Ha-Ti – HI	30	2 µL	1 semanas	8 x 10 ⁸	<i>S. aureus</i>	Nenhuma
JOMI	(4,5mm)				UFC/mL (4		Amostra
Fase 2					McFarland)		
Gross, 1999	Spline, ITI, Ceraone,	3	10,20N	5, 20 e	Corante	Violeta genciana	Todos os grupos
JOMI	Sterioss,3i		cm e	80min			apresentaram
	(3,75 a 4,0mm)		Fab.				algumas amostras
							extravasaram
Piatelli 2001	Bone System	6	Meio	3 dias	Corante	Azul de toluidina	Todas as
	3i		Externo		0,5	<i>S. aureus</i>	amostras do
			Totalm		McFarland		grupo retido por
			ente				parafusos.
			imersos				Nenhuma do
			e				grupo retida por
			5 mL				cimento
Dibart, 2005	CM - Bicon	9	0,1µL	72h +	2% do caldo	Mistura de Bactérias	Nenhuma
JOMI	(5mm)		Fab.	5dias	inicial		Amostra
Fase 1							
Dibart, 2005	CM –Bicon	10	Meio	24h	-	Mistura de Bactérias	Nenhuma
JOMI			Externo				Amostra
Fase 2							
			5 mL*				
Steinebrunner, 2005	Branemark,	8	Ñ Fala	1.200.000	1,5 x 10 ⁹	<i>E. Coli</i>	Todas as
JOMI	Frialit/Hermetics,		Fab.	ciclos	UFC/mL (6		amostras
	Replace, Camlog,				McFarland)		
	Screw-vent						
Duarte, 2006	Conexão (HE),	10	Meio	63 dias	4x43x10 ⁹	<i>S. faecalis</i>	Todas Amostras
J Period	Colosso (HI), Serson		Externo		UFC		
	(HE), Titanium Fix		20 Ncm				
	(HE), Neodent (HE)						
Coelho, 2008	Replace, CM, IL	5	0,1 a	7 dias	Corante	Azul de Toluidina	22% IL
J Oral Rehab	Nobel, Straumann,		0,7µL				55% ITI
	Intra-lock		Fab.				100% Repl
	(4.1 e 4.5mm)						
Do Nascimento, 2008	HE – Pilar Plástico e	10	3µL	14 dias		<i>F. nucleatum</i>	1 de cada grupo
J Oral Maxill Sug	Cr-Co						
Do Nascimento, 2009	HE -SIN®	20	Meio	14 dias	0,5	<i>S. mutans</i>	1 T – 3 amost
Clin Oral Impl Res	3,75mm – Pilar		externo		McFarland		2 T – 7 amost
	usinado		32Ncm				

Cr-Co							
Do Nascimento, 2009	HE – SIN	9	3µL	14 dias	0,5	<i>S. sobrinus</i>	1 amostra de cada
Clin Oral Impl Res	3,75mm		32Ncm		McFarland		
	Pilar Cr-Co e						
	Plástico						
Barbosa, 2009	HE -SIN®	20	3µL	14 dias	0.5	<i>F. nucleatum</i>	3 de cada grupo +
Journal of Prosth.	3,75mm – Pilar		32Ncm		McFarland		
	usinado						
	Cr-Co						
Harder, 2009	Cone Morse	8	0,5µL	7 dias	-	Lipopolissacarídeo	Todos amostras
Clin Oral Invest	Astra/Ankylos		Fab.			de	menos 1
						<i>Salmonela enterica</i>	

Meio Externo – Estudos que realizaream metodologia sentido Externo – Interno

Conclusão

10. Conclusão

Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que o torque influenciou na microinfiltração bacteriológica de implantes HE, com resultados favoráveis ao torque de 32 Ncm, e que a padronização da metodologia apresentou minimização de falhas relacionadas ao operador.

Referências Bibliográficas

11. Referências Bibliográficas

1. Broggini, N., McManus L.M., Hermann J.S.; Medina R.U., Oates T.W., Schenk R.K., Buser D., Mellonig J.T., Cochran D.L.. Persistent Acute Inflammation at the Implant-Abutment Interface. *J Dent Res* 2003; 82(3): 232-237.
2. 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;85(5):473-478.
3. 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.
4. Lazzara RJ, Porter SS. Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26(1):9-17.
5. McGlumphy EA, Mendel DA, Holloway JA. Implant screw mechanics. *Dent Clin North Am* 1998;42:71.
6. Khraisat A, Stegaroiu R, Nomura S, Miyakawa O. Fatigue resistance of two implant/abutment joint designs. *J Prosthet Dent*. 2002;88(6):604-610.
7. Bozkaya D, Muftu S. Mechanics of the tapered interference fit in dental implants. *J Biomech* 2003;36(11):1649-1658.
8. Goodacre CJ, Bernal G, Rungcharassaeng K, et al: Clinical complications with implants and implant prostheses. *J Prosthet Dent* 2003;90:121-132
9. 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;5(4):239-244.

10. Byrne D, Houston F, Cleary R, Claffey N. The fit of cast and premachined implant abutments. *J Prosthet Dent* 1998;80(2):184-192.
11. Scarano A, Assenza B, Piattelli M, Iezzi G, Leghissa GC, Quaranta A, Tortora P, Piattelli A. A 16-year study of the microgap between 272 human titanium implants and their abutments. *J Oral Implantol* 2005;31(6):269-275.
12. 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;20(6):875-881.
13. 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;37(2):177-80.
14. 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;20(5):732-7.
15. Harder S, Dimaczek B, Açıllı 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 Investig* 2009; Jul 23. [Epub ahead of print]
16. Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 2001;72(10):1372-1383.
17. Zipprich H, Weigl P, Lange B, Lauer HC. Erfassung, Ursachen und Folgen von Mikrobewegungen am Implantat Abutment-Interface. *Implantologie* 2007;15:31–46

18. Jansen, VK, Conrads, G, Richter, EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12(4):527-540.
19. 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;25(6):403-408.
20. Besimo CE, Guindy JS, Lewetag D, Meyer J. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(5):654-656.
21. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, et al: Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant–abutment connections. *J Periodontol* 2001;72:1146-1150
22. Duarte AR, Rossetti PH, Rossetti LM, Torres SA, Bonachela WC. In vitro sealing ability of two materials at five different implant-abutment surfaces. *J Periodontol* 2006;77(11):1828-1832.
23. Barbosa RE, do Nascimento C, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque RF Jr. Bacterial culture and DNA Checkerboard for the detection of internal contamination in dental implants. *J Prosthodont* 2009;18(5):376-381.
24. do Nascimento C, Pedrazzi V, Miani PK, Moreira LD, de Albuquerque Junior RF. Influence of repeated screw tightening on bacterial leakage along the implant-abutment interface. *Clin Oral Implants Res* 2009; Aug 26. [Epub ahead of print]
25. do Nascimento C, Barbosa RE, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque Junior RF. Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to evaluate the internal contamination of dental implants and comparison of bacterial leakage with cast or pre-machined abutments. *Clin Oral Implants Res* 2009;20(6):571-577.

26. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(1):94-100.
27. Coelho PG, Sudack P, Suzuki M, Kurtz KS, Romanos GE, Silva NR. In vitro evaluation of the implant abutment connection sealing capability of different implant systems. *J Oral Rehabil* 2008;35(12):917-924.
28. Paolantonio M, Perinetti G, D'Ercole S, Graziani F, Catamo G, Sammartino G, Piccolomini R. Internal decontamination of dental implants: an in vivo randomized microbiologic 6-month trial on the effects of a chlorhexidine gel. *J Periodontol* 2008;79(8):1419-1425.
29. Coelho AL, Suzuki M, Dibart S, DAS N, Coelho PG. Crosssectional analysis of the implant-abutment interface. *J Oral Rehabil* 2007;34(7):508-516.
30. Kano SC, Binon PP, Curtis DA. A classification system to measure the implant-abutment microgap. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007;22(6):879-885.
31. American Society for Testing and Materials (ASTM): Standard specification for unalloyed titanium for surgical implant applications. Designation: F 67–95. *In: Annual book of ASTM standards. Medical devices and services* 1997, 13.01:1-3.
32. Nair SP, Meghji S, Wilson M, Reddi K, White P, Henderson B. Bacterially induced bone destruction: mechanisms and misconceptions. *Infect Immun* 1996;64:2371-2380
33. Meffert R.M. The soft tissue interface in dental implantology. *J. dent. educ.* 1988 Dec; 52(12): 810-1.
34. Baumann GR, Mills M, Rapley JW et al. Plaque-induced inflammation around implants. *Int. j. oral maxillofac. implants* 1992; 7(3): 330-7.

35. Quirynen M, van Steenberghe D. Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants: an in vivo study. *Clin. oral implants res.* 1993 Sept; 4(3): 158-61.
36. 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 Mar;22(3):255-61.
37. Dharmar S, et al. Subgingival microbial flora associated with Brånemark implants. *Int. j. oral maxillofac. implants* 1994; 9(3): 314-318.
38. Goheen KL, Vermilyea SG, Vossoughi J et al. Torque generated by handheld screwdrivers and mechanical torquing devices for osseointegrated implants. *Int. j. oral maxillofac. implants.* 1994 Mar-Apr; 9(2): 149-155.
39. Persson LG, Lekholm U, Leonhardt A, Dahlén G, Lindhe J. Bacterial colonization on internal surfaces of Brånemark system implant components. *Clin Oral Implants Res.* 1996 Jun;7(2):90-5.
40. Quirynen M, Papaioannou W, van Steenberghe D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *J. periodontol.* 1996 Oct; 67(10):986-93.
41. 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.
42. 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.

43. Orsini G, Fanali S, Scarano A et al. Tissue reactions, fluids and bacterial infiltration in implants retrieved at autopsy: a case report. *Int. j. oral maxillofac. implants* 2000 Mar-Apr; 15(2): 283-6.
44. King GN, Hermann JS, Schoolfield JD et al. Influence of the size of the microgap on crestal bone levels in submerged dental implants: a radiographic study in the canine mandible. *J. periodontol*, 2002 Oct; 73(10): 1111-7.
45. Rimondini L, Marin C, Brunella F, Fini M. Internal contamination of a 2-component implant system after occlusal loading and provisionally luted reconstruction with or without a washer device. *J Periodontol*. 2001 Dec;72(12):1652-7.
46. Todescan FF, Pustiglioni FE, Imbronito AV, Albrektsson T, Gioso M. Influence of the microgap in the peri-implant hard and soft tissues: a histomorphometric study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002 Jul-Aug;17(4):467-72.
47. Covani U, Marconcini S, Crespi R, Barone A. Bacterial plaque colonization around dental implant surfaces. *Implant Dent*. 2006 Sep;15(3):298-304.