

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO : CLÍNICA INTEGRADA

MICHELE ELIAS CONTIN MANSUR

PRESENÇA DE *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* EM SULCO
PERIIMPLANTAR E SALIVA DE PACIENTES PORTADORES DE
PRÓTESE SOBRE IMPLANTES SAUDÁVEIS COM E SEM A PRESENÇA DE
DENTES NATURAIS

PONTA GROSSA
2008

MICHELE ELIAS CONTIN MANSUR

PRESENÇA DE *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* EM SULCO
PERIIMPLANTAR E SALIVA DE PACIENTES PORTADORES DE
PRÓTESE SOBRE IMPLANTES SAUDÁVEIS COM E SEM A PRESENÇA DE
DENTES NATURAIS

Dissertação apresentada para conclusão de
Mestrado na Universidade Estadual de Ponta
Grossa, no curso de Mestrado em Odontologia - Área
de Concentração em Clínica Integrada.

Orientadora Prof^{fa}. Dr^a Elizabete Brasil dos Santos.

PONTA GROSSA
2008

Ficha Catalográfica Elaborada pelo Setor de Processos Técnicos BICEN/UEPG

M289p **Mansur, Michele Elias Contin**
Presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em
sulco periimplantar e saliva de pacientes portadores de prótese sobre implantes saudáveis com e sem a
presença de dentes naturais./ Michele Elias Contin Mansur. Ponta Grossa, 2008.
69 f.

Dissertação (Mestrado em Odontologia - área de concentração em Clínica Integrada) -
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Elizabete Brasil dos Santos

**1. A. actinomycetemcomitans. 2. Implantes
osseointegrados. 3. Implantes de titânio. I. Santos, Elizabete
Brasil dos. II. T**

CDD: 617.6

MICHELE ELIAS CONTIN MANSUR

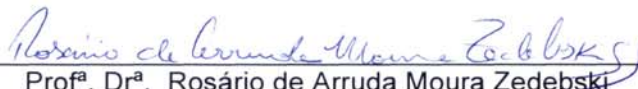
PRESENÇA DE *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* EM SULCO
PERIIMPLANTAR E SALIVA DE BUCAL DE PACIENTES PORTADORES DE
PROTESE SOBRE IMPLANTES SAUDÁVEIS COM E SEM A PRESENÇA DE
DENTES NATURAIS

Dissertação apresentada para conclusão de Mestrado na Universidade Estadual
de Ponta Grossa, no curso de Mestrado em Odontologia - Área de Concentração
em Clínica Integrada.

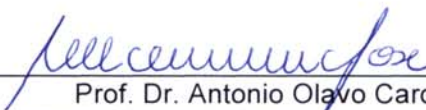
Ponta Grossa, 19 de fevereiro de 2008.



Profª. Drª. Elizabete Brasil dos Santos – Orientadora
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Profª. Drª. Rosário de Arruda Moura Zedebski
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP

Dedico este trabalho ao meu pai,
Antonio Elias Mansur,
por sempre estar ao meu lado, guiando os meus caminhos na vida e na Odontologia.

AGRADECIMENTOS

A minha Orientadora Professora Doutora Elizabete Brasil dos Santos pela sua dedicação e valorosa ajuda em todas as fases desta dissertação.

A minha mãe, irmãos, e marido pelo incentivo para concluir esta dissertação e paciência nos momentos difíceis.

Aos pacientes que colaboraram de espontânea vontade com esta pesquisa, sem os quais não existiria este trabalho.

Ao Professor Doutor Vitoldo Kozlowski Júnior pelas sugestões e colaboração na concretização deste trabalho.

A esta Universidade por nos dar a oportunidade de cursar um mestrado.

Aos meus colegas que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho. Especialmente, a minha colega e amiga Ana Paula Teittelbaum que tornou mais alegre os momentos deste mestrado.

Mansur MEC. Presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em sulco periimplantar e saliva de pacientes portadores de prótese sobre implantes saudáveis com e sem a presença de dentes naturais. [Dissertação – Mestrado Odontologia – Área de Concentração – Clínica Integrada]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2008.

RESUMO

Semelhante aos dentes, os implantes são susceptíveis à destruição de estruturas de suportes. Este processo de destruição é com frequência o resultado de infecções por bactérias oportunistas que colonizaram a restauração sobre o implante e a dentição adjacente. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* é frequentemente isolado de sítios periodontais e periimplantares, entretanto os fatores que modulam a colonização da mucosa bucal e o papel deste microrganismo na doença são controversos. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar a presença de *A. actinomycetemcomitans* em amostras de fluido gengival periimplantar e saliva de 14 pacientes parcialmente edêntulos e 8 totalmente edêntulos, com idade entre 42 e 78 anos, reabilitados com implantes osseointegrados de titânio. Amostras do fluido gengival foram obtidas com cones de papel que foram introduzidos nos sulcos periimplantares após remoção do biofilme supragengival com gaze esterilizada e deixados por um minuto. Os cones foram transferidos para solução de caldo tripticaseína de soja, homegeneizados e as amostras foram semeadas em duplicata em agar TSBV - ágar de soja tripticaseína acrescido de bacitracina e vancomicina, e incubadas a 37°C por cinco dias em anaerobiose (Anaerobac). Após incubação, determinou-se o número de ufc/mL do microrganismo pesquisado. *A. actinomycetemcomitans* também foi pesquisado na saliva, que foi coletada com auxílio de suabes esterilizados e processada microbiologicamente do mesmo modo que as amostras obtidas da região periimplantar. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística, demonstrada através do teste Mann-Whitney, no número de ufc/mL de *A. actinomycetemcomitans*, tanto na saliva quanto no fluido do sulco periimplantar, quando comparou-se os pacientes totalmente desdentados e parcialmente desdentados (sulco: $p=0.7280$; saliva $p=0.3503$). Os resultados obtidos sugerem que a colonização do sulco periimplantar e cavidade bucal e o número de *A. actinomycetemcomitans* nesses sítios não são modulados pela presença ou não de dentes naturais.

Palavras-chave: *A. actinomycetemcomitans*. Implantes osseointegrados. Implantes de titânio.

Mansur MEC. Presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in sulcus of osseointegrated dental implants and saliva of health edentulous and partially edentulous. [Dissertação – Mestrado Odontologia – Área de Concentração – Clínica Integrada]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2008.

ABSTRACT

Similar to natural teeth, implants are liable to destruction of support structures. This process of destruction is often the result of opportunistic infections by bacteria that colonizes restorations on the implants and adjacent teeth. *A. actinomycetemcomitans* is often isolated from periodontal and periimplantar sites but its role in disease is already to be determined. The aim of this study was to compare the presence of *A. actinomycetemcomitans* in samples of crevicular fluid and saliva from 14 patients partially and 8 totally edentulous, aging from 42 to 78 years old, rehabilitated with osseointegrated titanium implants. Samples of crevicular fluid were obtained with paper points introduced in periimplantar pockets after removal of supragingival plaque with sterile gauze and left inside for 1 minute. The points were transferred to tubes with tryptic soy solution, homogenized and plated, in duplicate, on TSBV agar and the plates incubated for 5 days in 37°C. After this period, the number of cfu/mL of the microorganism. The presence of *A. actinomycetemcomitans* was also verified in samples of saliva. The samples were collected with sterile swabs and processed the same way. The results demonstrated that *A. actinomycetemcomitans* is isolated from gingival fluid and saliva in a small number of patients and in small quantity, both in partially edentulous and totally ones and the differences were not significant between groups (Test Mann-Whitney-gingival fluid: $p=0.7280$; saliva: $p=0.3503$). the results of this study suggest that the colonization of periimplantar sulcus and oral cavity of and the number of cfu/mL of *A. actinomycetemcomitans* in these sites are not modulated by the presence or not natural teeth.

Keywords: *A. actinomycetemcomitans*. Osseointegrated implants. Titanium implants.

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> ; atual <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>A. viscosus</i>	<i>Actinomyces viscosus</i>
<i>B. forsythus</i>	<i>Bacteroides forsythus</i> ; atual <i>Tannerella forsythia</i>
<i>B. gingivalis</i>	<i>Bacteroides gingivalis</i> ; atual <i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>B. intermedius</i>	<i>Bacteroides intermedius</i>
<i>C. rectus</i>	<i>Campylobacter rectus</i>
<i>Candida spp</i>	<i>Candida species</i>
<i>Capnocytophaga spp.</i>	<i>Capnocytophaga species</i>
<i>E. corrodens</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Fusobacterium sp</i>	<i>Fusobacterium specie</i>
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. nigrescens</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>T. forsyntensis</i>	<i>Tannerella forsyntensis</i> ; atual <i>Tannerella forsythia</i>
<i>T. socrasnskii</i>	<i>Treponema socrasnskii</i>

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Coleta das amostras do fluido do sulco periimplantar de paciente parcialmente desdentado com cones de papel.....	41
Figura 2	- Amostras obtidas do sulco periimplantar (cone) e saliva (suabes) em caldo Tryptic soy.....	41
Figura 3	- Semeadura das amostras em ágar TSBV.....	42
Figura 4	- Agar TSBV após semeadura das amostras, em jarras de anaerobiose, contendo gerador de atmosfera para reduzir oxigênio (Anaerobac).....	42
Figura 5	- Incubação das jarras de anaerobiose a 37°C/cinco dias.....	43
Figura 6	- Colônias de <i>A. actinomycetemcomitans</i> em ágar TSBV.....	48
Figura 7	- Colônia de <i>A. actinomycetemcomitans</i> em ágar TSBV, microscopia de luz (aumento 40x).....	48
Figura 8	- Maior aumento da colônia de <i>A. actinomycetemcomitans</i> em microscopia óptica de luz comum (aumento 100x).....	49

LISTA DE SIGLAS

ABO	Associação Brasileira de Odontologia
CDT	Cytolethal Distending Toxin
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DP	Desvio Padrão
EAP	Escola de Aperfeiçoamento Profissional
EPM	Erro Padrão da Média
PDP	Pacientes Desdentados Parciais
PDT	Pacientes Desdentados Totais
PG	Ponta Grossa
PS	Profundidade de Sondagem periodontal
RNA	Ácido Ribonucléico
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
SS	Sangramento à sondagem
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TSBV	Triptic Soy Agar Bacitracina Vancomicina
Ufc	Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Número e porcentagem (%) de pacientes do gênero masculino e feminino distribuídos nos grupos de desdentados totais e parciais	44
Tabela 2	- Número e porcentagem (%) dos pacientes que eram portadores de outro tipo de próteses além das próteses sobre implantes distribuídos entre os grupos desdentados totais e parciais	45
Tabela 3	- Número e porcentagem (%) dos pacientes fumantes e não-fumantes distribuídos nos grupos desdentados totais e parciais reabilitados com implantes osseointegrados.....	45
Tabela 4	- Média, Desvio Padrão (DP) e Erro Padrão da Média (EPM) do número de ufc/mL de <i>A. actinomycetemcomitans</i> isolado do fluido do sulco periimplantar e saliva de pacientes desdentados totais e parciais reabilitados com implantes osseointegrados.....	46
Tabela 5	- Média e DP do número de ufc/mL de <i>A. actinomycetemcomitans</i> isolado do fluido do sulco periimplantar e saliva de pacientes desdentados totais e parciais, de acordo com o gênero	47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	OSSEOINTEGRAÇÃO.....	16
2.2	TECIDOS PERIIMPLANTARES.....	18
2.3	DOENÇAS PERIIMPLANTARES.....	20
2.3.1	Mucosite.....	20
2.3.2	Periimplante.....	21
2.4	PARÂMETROS DE DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS PERIIMPLANTARES.....	22
2.5	MICROBIOTA DA PERIIMPLANTITE.....	24
2.6	MICROBIOTA PERIIMPLANTAR DE PACIENTES DESDENTADOS TOTAIS E PARCIAIS ENVOLVIDAS NA FALHA DE IMPLANTES.....	25
2.7	MICROBIOTA PERIIMPLANTAR DE PACIENTES DESDENTADOS TOTAIS E PARCIAIS REABILITADOS COM IMPLANTES BEM SUCEDIDOS	29
2.8	<i>AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS</i>	35
3	PROPOSIÇÃO.....	38
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1	SELEÇÃO DOS PACIENTES.....	39
4.2	PESQUISA DE <i>AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMI-</i> <i>TANS</i>	40
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
5	RESULTADOS.....	44
5.1	CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES ESTUDADOS.....	44
5.2	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	45
6	DISCUSSÃO.....	50
7	CONCLUSÕES.....	54

REFERÊNCIAS.....	55
APÊNDICE A – FICHA DE ANAMNESE.....	62
ANEXO A – CARTA DA COEP.....	64
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO...	66
ANEXO C –.TABELA GERAL.....	68

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da utilização dos implantes na odontologia contemporânea, clínicos estão enfrentando problemas similares àqueles encontrados nos dentes naturais, entretanto, as características únicas dos implantes provocam problemas que, embora relacionados, são distintos daqueles da dentição natural. Implantes não são afetados por cáries, mas, de maneira análoga aos dentes, são susceptíveis à destruição de estruturas de suportes. Este processo de destruição é com frequência o resultado de infecções por bactérias oportunistas que colonizaram a prótese sobre o implante e a dentição adjacente (Listgarten, Lai¹, 1999).

Os dentes naturais são colonizados logo após emergir na cavidade bucal, por uma microbiota que aumenta sua complexidade nas primeiras décadas de vida. Ao mesmo tempo, a resposta tecidual do hospedeiro adapta-se à microbiota, resultando em um equilíbrio entre ambos, culminando com saúde periodontal. Uma boa higiene oral mantém a massa microbiológica em um mínimo, que influencia a estabilização das espécies periodontopatogênicas. A falha na manutenção adequada da higiene e outros fatores que favoreçam o desenvolvimento de um biofilme microbiano espesso no dente, tanto nos tecidos periodontais quanto nos tecidos periimplantares, quebram a estabilização da microbiota e facilitam o estabelecimento de bactérias periodontopatógenas.

A persistência do biofilme pode desencadear uma resposta inflamatória crônica no tecido gengival adjacente. Ao longo do tempo e na ausência de tratamento, esta lesão crônica pode levar à destruição do sistema de inserção, denominada periodontite que pode chegar à perda do dente afetado (Listgarten e Lai¹, 1999). Enquanto estiverem ausentes esses patógenos, também está ausente a doença; entretanto, sua presença não implica necessariamente no desenvolvimento de doença ativa (Leonhardt *et al.*², 1993).

A colonização precoce dos implantes origina-se da microbiota que reside na mucosa bucal na hora da conexão do pilar protético. De uma maneira análoga aos tecidos periodontais, os tecidos periimplantares podem desenvolver uma reação inflamatória em resposta ao biofilme acumulado nas restaurações protéticas dos implantes. Na ausência de uma higiene adequada a microbiota acumulada induz periimplantites, similares às periodontites dos dentes naturais. Se não tratada, a

periimplantite pode levar à destruição óssea e perda do implante (Listgarten, Lai¹, 1999).

Os microrganismos encontrados ao redor de dentes periodontalmente saudáveis e de implantes são similares e incluem *Streptococcus*, espécies de *Veillonella*, espécies de *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum*, espécies de *Actinomyces* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Um aumento na prevalência de patógenos periodontais foi observado em implantes localizados em indivíduos com dentes remanescentes e história de periodontites (Lee *et al.*³, 1999). Danser *et al.*⁴ (1997), enfatizaram a importância de eliminar patógenos periodontais putativos da cavidade bucal de pacientes parcialmente edêntulos antes da inserção de implantes. A presença de *A. actinomycetemcomitans* em saúde e doença periimplantar é variável. Nos pacientes edêntulos a microbiota está associada à freqüente ausência de espiroquetas, *A. actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*, pois não há habilidade dessas espécies em crescer em uma boca totalmente edêntula (Danser *et al.*⁴, em 1997; Lee *et al.*³, 1999). Apse *et al.*⁵ (1989) relataram alta prevalência de bacilos anaeróbicos Gram negativos em pacientes parcialmente edêntulos comparados com pacientes totalmente edêntulos. A importância de se estudar esses patógenos periodontais está no fato de que a presença de dentes naturais remanescentes pode, segundo alguns autores, favorecer a colonização de sítios periimplantares por patógenos periodontais oportunistas, entretanto para outros autores não há essa associação.

A mera presença de patógenos periodontais não é indicativa de doença e falência do implante, mas o aumento da prevalência dessas espécies em pacientes parcialmente edêntulos reabilitados com implantes pode aumentar o risco de periimplantites (Leonhardt *et al.*², 1993; Listgarten, Lai¹, 1999; Leonhardt *et al.*⁶, 2002). Assim, teoricamente, a inserção de implantes em pacientes edêntulos totais, que provavelmente abrigam menor número destes patógenos, pode ter um melhor prognóstico do que aqueles implantes instalados em pacientes parcialmente edêntulos (Listgarten, Lai¹, 1999).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 OSSEOINTEGRAÇÃO

O conceito de osseointegração está baseado em uma investigação que começou a se realizar em 1952, com Bränemark e colaboradores, na University of Göteborg, com estudos microscópios *in situ* da medula óssea em pernas de coelho. Com um microscópio desenvolvido especialmente para este estudo, pôde-se observar a circulação do sangue na medula através de uma fina camada óssea. Este estudo revelou uma íntima conexão entre os componentes do tecido medular e do osso. Para a observação da evolução do osso e da medula óssea por um longo período de tempo, realizou-se microscopia *in vivo* dos tecidos com uma câmera de titânio implantada no coelho. O titânio parecia ter melhores características mecânicas e de superfície para a implantação no meio biológico. Estes estudos começaram nos anos 60, e indicaram a possibilidade de estabelecer uma verdadeira osseointegração no tecido ósseo, pois as câmaras ópticas implantadas não puderam ser retiradas do osso após a cicatrização. A estrutura de titânio havia se incorporado completamente ao osso e o tecido mineralizado era totalmente congruente com as microirregularidades da superfície do titânio (Bränemark et al.⁷, 1987). Independentemente de Bränemark, no mesmo período, o pesquisador Schroeder et al.⁸ (1994), na Suíça, também desenvolvia implantes ancorados em osso.

Na osseointegração observa-se uma união forte *in vivo* entre um implante de titânio e o osso. Essa ancoragem anquilótica denomina-se de osseointegração e é aceita na atualidade como o método mais promissor para a estabilização de implantes endósteis (Schroeder et al.⁸, 1994). Inicialmente nas pesquisas de Bränemark, os implantes osseointegrados eram indicados para região mandibular e somente para casos de edentulismo total para suportar próteses totais usando de quatro a seis implantes. Com o desenvolvimento de novas pesquisas, os implantes passaram a ser indicados na substituição de um ou mais dentes ausentes. (Bränemark et al.⁷, 1987, Schroeder et al.⁸, 1994). Outro tipo de implante utilizado são os implantes convencionais que não têm ancoragem óssea direta, mas uma interface de tecido mole, necessitando um dente suporte para a estabilização do implante (Hobo et al.⁹, 1997).

A osseointegração requer uma nova formação óssea ao redor do implante: a remodelação interna do tecido ósseo. A remodelação consiste na reabsorção e aposição ósseas ajudando a manter o nível de cálcio no sangue e não alteram a massa quantitativa de osso. No osso esponjoso a remodelação ocorre nas superfícies das trabéculas ósseas por possuírem abundância de osteoblastos e osteoclastos; as forças oclusais neste osso atuam como um estímulo à área receptora, estimulando os osteoclastos a reabsorver tecido ósseo, enquanto o mesmo estímulo induz as células osteoprogenitoras a se diferenciarem em osteoblastos, responsáveis pela formação óssea. No osso compacto ocorre o mesmo fenômeno no lugar remodelado (Schroeder et al.⁸, 1994; Albrektsson¹⁰, 1997; Hobo et al.⁹, 1997).

Na perfuração cirúrgica de pacientes idosos e adultos, o estágio de inatividade dos osteoblastos muda para um estágio ativo, produzindo proteínas para a formação de colágeno, um passo para a formação óssea. O estímulo local apropriado ajuda a manter a remodelação óssea, também outros fatores sistêmicos do paciente como os níveis elevados de hormônios tireoideano, calcitonina e vitamina D, estão envolvidos na remodelação óssea. Uma força oclusal estimulante e boa saúde são importantes para uma ótima remodelação óssea na região dos implantes (Albrektsson¹⁰, 1997; Hobo et al.⁹, 1997).

Existem muitos fatores que influenciam diretamente no sucesso da osseointegração (Albrektsson¹¹, 1986). O primeiro fator é o material do implante que deve ser titânio, pois é capaz de formar uma camada de óxido quando entra em contato com oxigênio e que quando no tecido ósseo, é circundado por uma camada de glicoproteínas. O implante deve ser esterilizado e antes de sua colocação não deve entrar em contato com quaisquer substâncias, metálicas ou não (Schroeder et al.⁸, 1994).

O segundo fator importante é o desenho, pois os implantes devem ter roscas para aumentar a área de contato com o osso e a fixação, além de distribuir as forças. Também não deve existir folga na interface para proliferação do tecido mole. O terceiro fator é a prevenção de produção excessiva de calor durante a perfuração, para se manter a vitalidade do osso é ideal que a temperatura durante a perfuração não seja maior que 39°C; para isso a técnica preconiza a irrigação com solução fisiológica e controle da rotação em até no máximo 2000 rotações por minuto (Hobo et al.⁹, 1997). O quarto fator é manter o implante dentro do osso e imóvel, sem

forças ou cargas oclusais sobre ele. Sendo necessário repouso de seis meses na maxila e quatro meses na mandíbula para cicatrização óssea ao redor do implante (Bränemark *et al.*⁷, 1987).

Para a colocação dos implantes, os procedimentos cirúrgicos são divididos em dois estágios. O primeiro é de instalação do implante e o segundo de conexão dos transmucosos. A cicatrização óssea começa na primeira semana após a instalação do implante e se completa na terceira ou quarta semana, transformando-se em tecido ósseo em seis a oito semanas (Bränemark *et al.*⁷, 1987; Schroeder *et al.*⁸, 1994; Hobo *et al.*⁹, 1997).

2.2 TECIDOS PERIIMPLANTARES

O tecido mucoso ao redor dos dentes chama-se gengiva e é uma estrutura definida e especializada, chamada periodonto de proteção e conhecida como tecido gengival. Possui inúmeras fibras colágenas distribuídas em diferentes direções, onde a sua nomenclatura depende do seu local de inserção. O grupo de fibras dentogengivais está inserido de um lado na superfície dentária e de outro, no tecido conjuntivo gengival. O grupo dento-crestais, da superfície dentária à crista óssea. O grupo dento-periostais, da superfície dentária ao perióstio do processo alveolar. Circulares, circundam um ou mais elementos dentários e as trans-septais inserem-se em dois dentes contíguos, localizando-se coronariamente ao septo ósseo interdentário (Lascaia Junior¹², 2004).

Nos tecidos periimplantares algumas características são diferentes. Os grupos de fibras descritos no periodonto são inexistentes e as fibras colágenas nesta situação apresentam um direcionamento paralelo à superfície do implante. Devido a este fato não se pode denominar este tecido de gengiva e sim, de mucosa periimplantar. Entretanto os epitélios que recobrem as vertentes dentárias e implantares são semelhantes. As características microscópicas do epitélio juncional do dente e do implante são coincidentes (Lindhe¹³, 1997; Lascaia Junior¹², 2004).

Quando são aplicadas forças sobre o implante, essas não são transmitidas através das fibras, como acontece na dentição natural; não há fibras de Sharpey entre o osso e o implante e, portanto, torna-se difícil transmitir cargas (Schroeder *et al.*⁸, 1994). Comparando-se os tecidos conjuntivos periimplantares e dentários, a

mucosa periimplantar tem mais colágeno e menos fibroblastos. As porções supra-ósseas da mucosa periimplantar em contato com o titânio apresentam características de uma cicatriz, sendo rica em colágeno e com poucas células (Lindhe¹³, 1997).

A vascularização do tecido gengival provém de três fontes de feixes vasculares: do ligamento periodontal, do septo ósseo e do periósteo nas faces livres. No tecido mucoso periimplantar não existe o feixe do ligamento periodontal, já que este não existe. Pode-se concluir que o tecido gengival e a mucosa perimplantar mostram algumas características semelhantes, porém diferentes na composição do conjuntivo, na distribuição da vascularização e no direcionamento das fibras colágenas (Lindhe¹³, 1997).

O periodonto de sustentação do dente natural é composto por osso alveolar, ligamento periodontal e cimento radicular. O implante mantém-se através do fenômeno descrito por Bränemark em 1969, denominado *osseointegração* que é descrita como “uma conexão estrutural direta e funcional entre o osso vivo, ordenado e a superfície de um implante submetido a carga funcional”. Também pode ser reconhecida como uma anquilose óssea (Branemark *et al.*⁷, 1987; Lascala Junior¹², 2004).

O osso é um órgão capaz de se modificar como resultado da exodontia e é influenciado também por uma série de fatores sistêmicos como hormônios, vitaminas, e ainda, influências mecânicas. Além da arquitetura externa do osso se modificar, a estrutura interna também passa por um processo de mudança (Misch¹⁴, 2000).

A sondagem clínica é um dos exames mais comuns para se analisar o estado de saúde dos tecidos ao redor do dente natural. A união entre a superfície do implante e a mucosa é mais frágil que a união entre o dente e o tecido gengival (Lindhe¹³, 1997).

As diferenças na estrutura do periimplante e do periodonto juntamente com uma história de higiene oral pobre e edentulismo fazem com que os implantes sejam mais susceptíveis a inflamação e perda óssea que os dentes naturais quando expostos ao acúmulo de placa ou à invasão microbiana. Por essa razão a prevenção do selamento biológico ao redor dos implantes é um dos objetivos para manutenção do estado de saúde. Chung *et al.*¹⁵ (2006) realizaram um estudo para avaliar a necessidade de mucosa queratinizada ou imóvel na manutenção de implantes

endósseos. A análise dos resultados mostrou que a ausência de uma quantidade adequada de mucosa queratinizada ou imóvel está associada ao aumento do acúmulo de placa e inflamação da mucosa periimplantar, mas não com perda óssea.

2.3. DOENÇAS PERIIMPLANTARES

2.3.1 Mucosite

A mucosa periimplantar é uma área crítica em termos de sucesso do implante e é o local onde o pilar protético do implante penetra nos tecidos que revestem o osso. Clinicamente a situação é similar nos dentes naturais. Em condições livres de inflamação a mucosa periimplantar fica firmemente aderida ao implante. No sulco periimplantar pode-se inserir apenas um pequeno comprimento de sonda periodontal. A união funcional adequada do tecido mole parece estar presente. A partir de investigações periodontológicas sabe-se que o estado de saúde das estruturas subjacentes é responsável pela união epitelial. O tecido conjuntivo supra-alveolar que envolve firmemente o implante é pré-condição para isso (Schroeder et al.⁸, 1994).

A mucosite periimplantar é a resposta do tecido gengival e da mucosa periimplantar a períodos curtos ou longos de formação do biofilme. A colonização bacteriana da placa e sua composição seguem os mesmos padrões nos dentes e nos implantes de titânio. Tanto a gengiva quanto a mucosa periimplantar respondem a esta colonização microbiana com a formação de lesões, isto é, infiltrados de células inflamatórias no tecido conjuntivo, a reação inflamatória (Albrektsson¹⁰, 1997). A mucosite periimplantar foi definida como um processo inflamatório reversível nos tecidos moles ao redor de um implante em função (Salvi, ang¹⁶, 2004). A microbiota do sulco dos implantes dentais que apresentam mucosite é constituída por bastonetes facultativos Gram negativos e estreptococos anaeróbios (Aldana, Santos¹⁷, 2003). Existe uma similaridade entre a microbiota ao redor de falhas de implantes e os microrganismos classicamente associados com doença periodontal (Silverstein et al.¹⁸, 1994).

Uma quantidade inadequada de mucosa queratinizada e uma higiene bucal deficiente têm sido relatadas como responsáveis pelo insucesso de implantes em longo prazo (Ono et al.¹⁹, 2003). Também é importante salientar que o periodonto

deve estar em seu estado de saúde antes da instalação de implantes e deve ser monitorado enquanto o implante está em função para que se detecte precocemente um potencial problema periodontal. O implante dental assim como o dente natural é suscetível ao biofilme microbiano, podendo induzir mucosite a qual pode progredir para periimplantite (Silverstein *et al.*¹⁸, 1994).

2.3.2 Periimplantite

O termo “periimplantite” é utilizado para descrever um processo inflamatório caracterizado por perda óssea ao redor de um implante em função; esta perda pode ter sido produzida por sobrecarga, infecções por bactérias ou ambas (Misch¹⁴, 2000). Quando elas ocorrem no primeiro ano após a conexão do pilar, são chamadas de infecções verdadeiras primárias e a sua composição microbiológica se parece com a relatada nas periodontites (Listgarten¹, 1999). A perda óssea por tensão ocorre sem que a bactéria seja um agente causal primário, porém quando já existe perda óssea aprofundando-se no sulco, o oxigênio diminui e as bactérias anaeróbicas podem ser a principal causa da perda óssea contínua (Misch¹⁴, 2000).

Para Listgarten e Lai¹ (1999) as falhas de implantes por excesso de força oclusal ou fadiga do metal exibem uma proliferação bacteriológica que se assemelha à dos dentes periodontalmente saudáveis ou aos implantes clinicamente saudáveis. A falha de implantes pode ser produzida tanto por trauma oclusal ou infecções periimplantares predominantemente anaeróbicas, como também, pela técnica cirúrgica incorreta e condições ósseas (Rosenberg *et al.*²⁰, 1991; Piovano²¹, 1999). Para Mombelli²² (1993) os tipos distintos de falhas podem ser diferenciados baseando-se na presença ou ausência de uma microbiota típica de periimplantite e, em alguns pacientes, uma infecção específica pode ser a razão da falha do implante.

Em pacientes edêntulos com implantes bem sucedidos, a microbiota que se desenvolve logo após a instalação do implante é muito similar à da mucosa do rebordo alveolar adjacente; mais de 85% dos microrganismos foram identificados em microscopia como cocos, sendo mais de 80% da cultura bacteriana constituída de cocos Gram positivos facultativos.

2.4 PARÂMETROS DE DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS PERIIMPLANTARES

Para avaliar a placa bacteriana foram feitos estudos experimentais em humanos mostrando que o biofilme representa um fator etiológico importante na patogênese da doença periimplantar. As diversas características microbiológicas do biofilme subgengival ao redor de implantes têm sido correlacionadas com a presença de placa clinicamente detectável (Salvi, Lang¹⁶, 2004). Também foi documentado que patógenos periodontais de bolsas residuais de dentes remanescentes em pacientes tratados de doença periodontal colonizam implantes orais. Mombelli *et al.*²³ (1987) modificaram o Índice de Placa original de Silnss e Loe para avaliar a formação de biofilme na área marginal ao redor de implantes, criando o Índice de Placa Modificado (IPm), utilizando escore zero quando não existisse placa detectável; escore um quando houvesse placa reconhecida ao se deslizar uma sonda sobre o dente; escore dois para placa visível a olho nu e escore três para abundância de matéria mole.

Quanto às condições da mucosa periimplantar, além de vermelhidão e aumento de volume dos tecidos marginais, tem sido relatado que o sangramento à soldagem (SS), formação de bolsa e supuração resultam de infecções periimplantares. O Índice Gengival modificado e adaptado (IGm) é usado para avaliar as condições da mucosa utilizando escore zero para nenhum sangramento quando a sonda periodontal é passada ao longo da mucosa marginal; escore um para pontos de sangramento isolados; escore dois quando o sangue forma uma linha contínua sobre a margem da mucosa e; escore três no caso de sangramento intenso e profuso (Mombelli *et al.*²³, 1987; Salvi, Lang¹⁶, 2004).

Outro método utilizado para avaliação da saúde periimplantar é a presença ou ausência de sangramento à soldagem (SS). Quando ocorre o sangramento após inserção de uma sonda dentro do sulco, com uma compressão de 0,25N, (SS+) detecta-se a presença de lesão inflamatória. A ausência de sangramento (SS-) representa saúde periodontal. Lekholm e colaboradores não encontraram correlação entre SS e alterações histológicas, microbiológicas ou radiográficas ao redor de implantes (Salvi, Lang¹⁶, 2004).

Profundidade de sondagem periodontal (PS) e perda de inserção clínica são patognomônicos de doenças periodontais, porém a profundidade de sondagem

periimplantar não é comumente utilizada. Nos estudos de Ericsson e Lindhe (1993 apud Lindhe¹³, 1997) usando um modelo de cães beagle para comparar a extensão de penetração da sonda ao redor de dentes e implantes sob condições de tecido mole saudável, ficou demonstrado que a sonda penetra mais profundamente ao redor dos implantes submersos de dois estágios terminando mais próximo à crista óssea. A sonda desloca o tecido conjuntivo e o epitélio juncional, estabilizando-se muito próximo da crista óssea. Uma explicação que pode ser considerada é o fato da maioria das fibras colágenas na porção de tecido conjuntivo supracrestal ser paralela à direção do eixo do implante (Lindhe¹³, 1997). Os autores concluíram que medições de PS periimplantares são mais sensíveis a variações de força que as medições ao redor de dentes (Lindhe¹³, 1997, Salvi, Lang¹⁶, 2004). O aumento da profundidade de sondagem, juntamente com evidências microbiológicas da presença de bactérias periodontopatogênicas podem ser consideradas importantes fatores secundários que contribuem para a falha do implante (Becker *et al.*²⁴, 1990).

Dentre os parâmetros de diagnóstico das doenças periimplantares, a radiografia convencional representa uma técnica aceita para a avaliação do estado do implante em longo prazo e presença de alterações ósseas marginais em sítios interproximais de implantes. A técnica recomendada é a do paralelismo do cone longo apoiada por dispositivos de posicionamento. Porém, métodos radiográficos são confirmatórios e não exploratórios e devem ser considerados em conjunto com a avaliação de parâmetros clínicos, como por exemplo, PS, SS+ e supuração (Salvi, Lang¹⁶, 2004).

A mobilidade do implante, junto com evidências de radiolucidez na região da interface osso-implante é um bom indicativo de falta de osseointegração e conseqüentemente da falha do implante (Becker *et al.*²⁴, 1990). O registro de mobilidade é um parâmetro de diagnóstico muito específico, mas não sensível, para detectar perda de osseointegração. Este parâmetro detecta o estágio final de osseointegração e portanto o fracasso total do implante (Salvi e Lang¹⁶, 2004).

Em 1986 Albrektsson *et al.*¹¹ propuseram os seguintes padrões para se indicar o índice de sucesso dos implantes: a) que o implante esteja individualmente imóvel quando testado clinicamente; b) que a radiografia não mostre radiolucidez no periimplante; c) que a perda óssea vertical anual seja menor que 0,2 mm; d) ausência de sinais e sintomas de dor persistente, infecções, neuropatias e

parestesias. No contexto acima, a taxa de sucesso é de 85% ao final de cinco anos de observação e de 80% ao final de dez anos de observação.

2.5 MICROBIOTA DA PERIIMPLANTITE

A mucosa bucal é caracterizada por abrigar uma microbiota indígena. A capacidade dos microrganismos de colonizarem diferentes superfícies bucais depende principalmente da capacidade de unirem-se uns aos outros e aos tecidos bucais (Piovano²¹, 1999). A microbiota de implantes com saúde clínica foi caracterizada pela presença de estreptococos facultativos e bastonetes facultativos Gram positivos (Aldana, Santos¹⁷, 2003).

Infecções bucais são predominantemente anaeróbias (Piovano²¹, 1999). A placa formada nas bolsas de dentes e implantes apresenta microbiota semelhante, predominando as bactérias Gram negativas como *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* juntamente com uma microbiota anaeróbica complexa, está associado às periimplantites (Van Winkelhoff *et al.*²⁵, 2000). Também, Aldana e Santos¹⁷ (2003), encontraram bastonetes anaeróbicos Gram negativo e bastonetes anaeróbicos Gram negativos pigmentados de preto e poucos estreptococos anaeróbicos nos sulcos de implantes.

A colonização por bactéria periodontopatogênica e sua transmissão de bolsas periodontais para o sulco de implantes osseointegrados foi estudada por Sumida *et al.*²⁶ em 2002, em amostras de placa coletadas de 105 sítios em 15 pacientes. As taxas de detecção por reação em cadeia de polimerase foram para *P. gingivalis* de 80,0%, para *P. intermedia* de 53,3%, para *A. actinomycetemcomitans* de 46,7%, para *T. forsythensis* de 60,0% e para *Treponema denticola* de 40,0%. A colonização por *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans* estava estatisticamente correlacionada com bolsas periodontais e bolsas periimplantares. Mostrando que a eliminação desses patógenos periodontais da cavidade oral de pacientes antes de se administrar tratamento com implante dental pode inibir a colonização por esses patógenos e reduzir o risco de periimplantite.

2.6 MICROBIOTA PERIIMPLANTAR DE PACIENTES DESDENTADOS TOTAIS E PARCIAIS ENVOLVIDAS NA FALHA DE IMPLANTES

As lesões periimplantares envolvem tecido ósseo e podem resultar no fracasso do implante (Albrektsson¹⁰, 1997; Piovano²¹, 1999; Van Winkelhoff *et al.*²⁵, 2000; Misch¹⁴, 2000). Existe uma similaridade entre a microbiota ao redor de falhas de implantes e os microrganismos classicamente associados com doença periodontal. Os mesmos microrganismos anaeróbicos Gram negativos são encontrados em periodontites e periimplantites (Silverstein *et al.*¹⁸, 1994). Em 1996, Ashimoto *et al.*²⁷, realizando estudos em indivíduos adultos sem implantes e com periodontite, encontraram 30% de *A. actinomycetemcomitans*, 86% de *B. forsythus* (*Tannerella forsythensis*), 74% de *C. rectus*, 80% de *E. corrodens*, 70% de *P. gingivalis*, 58% *P. intermedia*, 52% *P. nigrescens*, e 54% *T. denticola*, mostrando uma forte associação entre essas espécies e a periodontite.

A microbiota ao redor de implantes com lesões periimplantares em pacientes desdentados parciais foi avaliada por Botero *et al.*²⁸ (2005). Foram encontrados altos níveis de bacilos entéricos Gram negativos não usuais da cavidade bucal, seguido de bactérias periodontopatogênicas como *Fusobacterium spp* e *P. gingivalis* nas lesões periimplantares. Nesse estudo, porém, o *A. actinomycetemcomitans* não foi detectado nas amostras. A relação entre bacilos entéricos Gram negativos e aumento de doenças periimplantares ou periodontais não é explicada. Os pacientes desdentados parciais mostraram uma microbiota subgingival semelhantes ao dente natural. Uma relação significativa foi determinada nesse estudo, entre a microbiota do dente natural e do implante, especialmente por bacilos entéricos e *P. gingivalis*, sugerindo que dentes naturais podem agir como reservatório de bactérias periodontopatogênicas.

Como mencionado anteriormente, a falha de implantes após sua função pode ser produzida por trauma oclusal ou infecções periimplantares. Um dos fatores que contribui na complexidade da microbiota periimplantar é o tempo de carga do implante na cavidade bucal. Em seu estudo, Lee *et al.*³ (1999) relataram que a microbiota ao redor da coroa de implante e da coroa de dente é semelhante. A complexidade microbiana foi maior quanto mais tempo de carga tinha o implante, porém a patogenicidade foi mais alta em indivíduos com doença periodontal prévia. A situação de implantes após um ano de carga foi verificada por Leonhardt *et al.*²

(1993) em seu estudo incluindo 19 pacientes com dois ou mais implantes, dos quais apenas dois implantes em um mesmo paciente falharam na osseointegração e estavam associados à presença de *P. intermédia*. Mesmo após três anos, as únicas áreas com perda óssea $> 0,5$ mm estavam associadas à presença do mesmo microrganismo.

Estudo longitudinal com um ano de carga também foi realizado por Hultin *et al.*²⁹ (2002) com um total de 98 implantes em 17 pacientes parcialmente desdentados com periimplantites, dos quais 45 implantes mostravam perda óssea marginal de mais de três espirais de fixação após o primeiro ano de carga. Todos os patógenos periodontais específicos: *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *A. actinomycetemcomitans* e *T. denticola*, estavam presentes nas amostras do sulco gengival em todas as categorias de sítios estudadas. Apenas ao redor de implantes com periimplantite estavam presentes todas as cinco espécies recuperadas em quantidades maiores ou iguais a 10^6 das células bacterianas. Tais níveis de *A. actinomycetemcomitans* nunca foram recuperados em implantes estáveis e nem em dentes de pacientes com periimplantite, mas estavam presentes em 23,5% das amostras de sítios com periimplantite.

Após um acompanhamento de dez anos, em pacientes parcialmente desdentados com implantes, Jansson *et al.*³⁰ (2005) demonstraram que a taxa de falha de implante na população tratada previamente ou em manutenção de doença periodontal é similar àquelas dos sujeitos saudáveis.

Analisando por outro ângulo, a taxa de sobrevivência em longo prazo de implantes em pacientes parcialmente edêntulos com história de periodontite, após um acompanhamento de cinco anos é similar àquela de implantes instalados em pacientes sem doença. No entanto, a taxa de sobrevivência dos implantes de um estágio em dez anos foi um pouco abaixo, de 78%, do que tem sido observado em pacientes não doentes. Mesmo assim, a inserção de implantes permanece sendo um bom tratamento alternativo para pacientes comprometidos periodontalmente (Baelum, Ellegaard³¹, 2004).

A falha de implantes foi analisada comparando-se sítios com periodontite e sítios com periimplantite por Listgarten e Lai¹ (1999) que realizaram a análise microbiológica de implantes com falhas e dentes com diagnóstico de periodontite adulta e periodontite refratária e mostraram que existe similaridade na composição da microbiota associada a formas selecionadas de periodontite e periimplantite. Nos

três grupos de lesões estudadas o espectro da prevalência das espécies foi similar, porém a frequência de restabelecimento e as proporções das espécies de patógenos variavam dentro dos grupos, ou seja, foram observadas apenas diferenças quantitativas entre os grupos. A bactéria *A. actinomycetemcomitans* foi raras vezes restabelecida nos implantes com falhas e em níveis muito baixos.

Sítios de falhas de implantes mostraram níveis moderados de *A. actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* e *Bacteroides intermedius*, sendo estes em concentrações menores que um por cento da microbiota total, segundo Becker *et al.*²⁴ (1990). Para Mombelli²² (1993) os sítios com falhas de implantes abrigam elevado número de bacilos móveis e bactéria fusiformes, sendo 41% bacilos anaeróbicos Gram negativos. Abrigam também um número elevado de *P. intermedia* e *Fusobacterium* sp. Tipos distintos de falhas de implantes podem ser diferenciados baseando-se na presença ou ausência de uma microbiota típica de periimplantite e em alguns pacientes a infecção específica pode ser a razão de falha de implante.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans pode ser encontrado nas proporções de 0,1% da microbiota total em sítios de falhas de implantes e detectaram 27,8% de *A. actinomycetemcomitans* no total de 13 sítios testados de implantes com falhas. (Becker *et al.*²⁴, 1990).

A taxa de sobrevivência dos implantes também pode ser avaliada com o uso de modelos animais. Estudos experimentais induzindo inflamação gengival através da inserção de ligaduras para retenção de placa são utilizados com sucesso para analisar a microbiota das doenças periodontais e periimplantares. Eke *et al.*³² (1998) examinaram a microbiota associada à progressão da periimplantite e periodontite experimental induzida simultaneamente em macacos adultos parcialmente desdentados com implantes osseointegrados. As amostras de placa ao redor de dentes e implantes foram coletadas em zero, um, dois, três e seis meses após a ligadura inserida. Os patógenos periodontais putativos foram encontrados em maior prevalência na microbiota cultivada dos sítios de periimplantite experimental, porém as proporções de patógenos putativos periodontais da placa associada a periimplantite e periodontite experimental foram similares. *A. actinomycetemcomitans* foi detectado em elevados níveis, mas esses não foram significativamente diferentes nos sítios progressão de periimplantites e periodontites. Os níveis de espiroquetas foram maiores nos sítios de periimplantites após seis

meses e também estavam correlacionados com a profundidade de sondagem e perda óssea nos sítios periimplantares.

Também em estudo experimental com animais, Nociti Jr. *et al.*³³ (2001), induziram periodontite e periimplantite em cães e fizeram a análise microbiológica através de reação em cadeia de polimerase (PCR) no início e 30 dias após indução de periodontite ou periimplantite. *A. actinomycetemcomitans* não foi detectado em nenhuma das amostras de dente e implante, nem antes, nem após 30 dias. *P. gingivalis* estava presente em 95% dos implantes e 85% dos dentes; e *T. forsythensis*, 80% nos implantes e 85% nos dentes, depois de 30 dias.

Os microrganismos representam um papel decisivo na fase destrutiva das periimplantites, mas acredita-se que a iniciação do processo é multifatorial, envolvendo fatores técnicos, anatômicos e microbiológicos, que cooperam com os fatores relacionados ao hospedeiro. Os microrganismos específicos podem representar um pequeno papel decisivo na iniciação do processo, mas ainda podem ser de importância na manutenção de processos destrutivos em torno de implantes com falência (Leonhardt *et al.*², 1993).

Um risco significativo pode existir com a transmissão de microrganismos periodontopatogênicos putativos de sítios com periodontites para sítios de implantes em uma mesma boca. Desta forma, um protocolo clínico apropriado deve ser desenvolvido para diminuir ou eliminar os problemas desta transmissão (Gouvoussis *et al.*³⁴, 1997).

O diagnóstico de periimplantite é feito clinicamente e radiograficamente, no entanto estudos microbiológicos deveriam ser incluídos para examinar a microbiota relacionada (Piovano²¹, 1999). Quando se atinge um estado avançado e possivelmente irreversível da doença, alguns sinais clínicos como a mobilidade são característicos e indicativos do insucesso completo do implante (Salvi, Lang¹⁶, 2004). Sabendo-se que os tecidos periimplantares se comportam similarmente aos tecidos periodontais quando enfrentam mudanças microbiológicas, então, o controle severo da microbiota circunjacente a implantes é um determinante do sucesso em longo prazo.

Existe uma variedade de métodos diagnósticos microbiológicos para infecções orais e a terapia depende de um bom relacionamento entre o clínico e o microbiologista (Piovano²¹, 1999). Para Mombelli²² (1993) os testes microbiológicos podem ser uma ferramenta válida para o diagnóstico diferencial de problemas que

ocorrem nos implantes osseointegráveis. O diagnóstico precoce da periimplantite é essencial para a prevenção da perda óssea substancial e do insucesso do implante (Mombelli, Lang³⁵, 2005).

2.7 MICROBIOTA PERIIMPLANTAR DE PACIENTES DESDENTADOS TOTAIS E PARCIAIS REABILITADOS COM IMPLANTES BEM SUCEDIDOS

A erupção dos dentes decíduos ou a completa perda dos dentes permanentes constitui a principal mudança fisiológica nas condições do meio bucal para os microrganismos.

Em pacientes desdentados totais com implantes bem sucedidos, a microbiota que se desenvolve logo após a instalação do implante é muito similar àquela da mucosa do rebordo alveolar adjacente. Mombelli²² (1993) identificou mais de 85% dos microrganismos como Gram positivos facultativos. Durante os primeiros seis meses após a inserção do implante, nenhuma mudança significativa longitudinal nas proporções dos microrganismos foi notada. Espiroquetas não foram detectados, e Fusobactérias e anaeróbios Gram negativos pigmentados foram encontrados raramente (Mombelli²², 1993).

A presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* foi verificada por Ong *et al.*³⁶ (1992) em 19 pacientes edêntulos totais reabilitados com implantes e clinicamente saudáveis. As amostras foram coletadas da região subgingival com uma sonda ao redor dos implantes, de um total de 37 sítios. *A. actinomycetemcomitans* foi detectado somente em um sítio, sendo 0,3% das amostras e *P. intermedia* em sete dos 37 sítios, sendo 0,4% das amostras. *P. gingivalis* não foi detectado. Para esses autores a presença destes microrganismos pode contribuir para a perda das próteses, por isso é recomendado que a placa subgingival dos implantes seja monitorada regularmente quanto à presença dessas bactérias associadas a periodontites (Ong *et al.*³⁶, 1992).

Danser *et al.*³⁷ (1995) mostraram que *A. actinomycetemcomitans* não é detectado em pacientes edêntulos totais reabilitados apenas com próteses totais. Esta pesquisa envolveu 26 pacientes portadores de próteses totais com história de periodontites. *P. gingivalis* foi detectada em dois pacientes e *P. intermedia* em sete pacientes. As amostras foram tomadas da mucosa bucal, saliva e placa inserida sobre e abaixo das próteses totais. Os autores concluíram que a baixa prevalência

de *P. gingivalis* e a ausência de *A. actinomycetemcomitans* sugerem que a cavidade bucal de paciente edêntulos totais não seja habitat para essas bactérias.

Estudos semelhantes foram realizados em pacientes parcialmente edêntulos. Neste grupo de pacientes a presença de periodontopatógenos em sulco periimplantar e dentes foi estudada por Koka *et al.*³⁸ (1993), em quatro pacientes, com um total de dez implantes. Os autores avaliaram a colonização por *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *T. socrasnskii* e *T. denticola*, em amostras da placa supragengival e subgengival de implantes e placa dos dentes próximos aos implantes. A colonização bacteriana da placa marginal dos implantes ocorreu dentro de 14 dias do segundo estágio cirúrgico e a colonização bacteriana da placa subgengival dos implantes ocorreu dentro de 28 dias. Os autores declaram que os dados não necessariamente confirmam a hipótese de que os dentes naturais agem como um reservatório de bactérias³⁸.

Utilizando-se uma comparação clínica, microbiológica e radiográfica de dentes e implantes de paciente com saúde periodontal e doença periodontal, foi avaliada a taxa de sucesso dos implantes. A composição da microbiota foi muito similar em todos os grupos. Os pacientes tratados de periodontite agressiva generalizada (n= 15) e crônica generalizada (n=12) com implantes, não mostrando diferenças significativas na composição da microbiota. *A. actinomycetemcomitans* foi detectado em dois pacientes tratados de periodontite agressiva generalizada. Após três anos de acompanhamento, a taxa de sucesso dos implantes foi de 100% nos pacientes com saúde periodontal e nos pacientes tratados de periodontite agressiva generalizada foi de 95,7% na maxila e 100% na mandíbula. Os resultados demonstraram que os pacientes tratados de periodontite agressiva generalizada ou crônica podem ser reabilitados com implantes, contudo leve perda de inserção e perda óssea pode ser registrada nos implantes e dentes desses pacientes (Mengel, Flores-de-Jacoby³⁹, 2005).

A análise da microbiota durante um período de estudo de 36 meses foi realizada por Leonhardt *et al.*², 1993, observaram em 19 pacientes parcialmente edêntulos com implantes, e nas amostras subgengivais, depois de seis meses, o número de indivíduos positivos para bactérias, em dentes e implantes, atingiu níveis similares, exceto para *P. gingivalis* foi mais freqüente nos dentes que nos implantes durante os 24 primeiros meses. No *baseline* dos dentes os níveis foram 36,8% dos indivíduos positivos para *A. actinomycetemcomitans*, 94,7% para *P. intermedia*,

31,6% para *P. gingivalis*, 88,9% para *Capnocytophaga spp.*, 66,7% para *C. rectus*. No *baseline* dos implantes 18,8% dos registros foram positivos para *A. actinomycetemcomitans*, 25% para *P. gingivalis*, 68,8% para *P. intermedia*, 93,3% para *Candida spp.* e 60% para *C. rectus*. Segundo os autores, pacientes parcialmente edêntulos com implantes de titânio serão facilmente colonizados por patógenos periodontais putativos, mas isto não resulta necessariamente em futura falência de implantes. Mesmo ocorrendo a destruição do osso marginal, isto pode ser resultado de uma complexa interação entre microrganismos e fatores dos hospedeiros (Leonhardt ², 1993).

A detecção dos patógenos periodontais putativos também pode ser realizada através de análise genômica. Lee *et al.*³ (1999) monitoraram 23 espécies de uma lista das espécies mais estudadas em outras pesquisas e os pacientes incluídos eram todos parcialmente desdentados reabilitados com implantes. Os microrganismos encontrados ao redor de dentes periodontalmente saudáveis e implantes eram semelhantes e incluíam *Streptococcus*, *Veillonella*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium* e *Actinomyces*. Neste estudo também se verificou um aumento na prevalência de patógenos periodontais em implantes localizados em indivíduos com dentes remanescentes e história de periodontites, sugerindo que a colonização dos implantes é originada em parte da dentição natural remanescente. Sbordone *et al.*⁴⁰ (1999), estudando os mesmos microrganismos, observaram que os implantes estavam colonizados pela microbiota periodontal indígena e eram bem mantidos em pacientes com história de periodontite. A microbiota periodontal subgingival prevalente na primeira análise cultural de 25 sítios estudados foram *P. intermedia*, *Capnocytophaga spp.*, *P. gingivalis* e *F. nucleatum*. Um ano depois, *A. actinomycetemcomitans* estava consistentemente presente e *Capnocytophaga* não foi recuperado.

Em pacientes parcialmente edêntulos tratados de periodontite avançada que receberam implantes, Leonhardt *et al.*⁶ (2002) mostraram uma taxa de sobrevivência dos implantes de 94,7% de sucesso após dez anos de acompanhamento. Através desta pesquisa mostraram que a presença de patógenos periodontais putativos pode não estar associada com prejuízos no tratamento com implantes. Espécies como *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga spp.* e *C. rectus* fazem parte da microbiota residente normal em muitos indivíduos e podem ser encontrados casualmente em sítios estáveis ou com periimplantite.

A taxa de sucesso em longo prazo, $\geq$ cinco anos, de implantes colocados em pacientes parcialmente edêntulos com um histórico de periodontite, difere daquela encontrada em indivíduos sem histórico de periodontite (Van der Weijden *et al.*⁴¹, 2005). Por isso é importante salientar que o controle de infecção periodontal adequado e a eliminação dos patógenos periodontais devem ser realizados antes da instalação dos implantes em pacientes parcialmente edêntulos para prevenir complicações bacterianas precoces (Lee *et al.*³, 1999; Van Winkelhoff *et al.*²⁵, 2000).

A observação de patógenos periodontais putativos em sulcos periodontais e periimplantares de pacientes totalmente e parcialmente edêntulos com história de periodontite é variável. Danser *et al.*⁴ (1997) não constataram presença de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* na mucosa bucal e bolsas periimplantares dos 20 indivíduos totalmente edêntulos, com implantes em função com no mínimo um ano e histórico de periodontite. A metodologia utilizada foi cultura das bactérias em agar TSBV, incubadas 14 dias em jarras de anaerobiose com 5% de CO₂. Os autores sugerem que a eliminação do ambiente subgengival pela extração de todos os dentes naturais provavelmente inicia o desaparecimento dessas duas espécies e que os pacientes com doenças periodontais, que são programados para extração de todos os dentes para receber implantes, deveriam passar por um período de edentulismo de aproximadamente um mês.

O uso de testes microbiológicos em pacientes parcialmente edêntulos com história de periodontite pode ser uma medida para se prevenir periimplantites pelo emprego apropriado de terapia antimicrobiana antes da inserção dos implantes (Van Winkelhoff *et al.*²⁵, 2000).

A idéia de que dentes naturais e bolsas periodontais podem servir como um reservatório da microbiota periodontopatogênica, que posteriormente irá colonizar os implantes, foi defendida por vários autores. A colonização precoce nas bolsas periimplantares por patógenos periodontais putativos foi demonstrada por Van Winkelhoff *et al.*²⁵ (2000) em estudo envolvendo 20 pacientes parcialmente edêntulos em *baseline*, zero, seis e 12 meses após a implantação usando a técnica de cultura por anaerobiose. *A. actinomycetemcomitans* foi isolado nas bolsas periodontais de dois dos 20 pacientes no *baseline*, mas não recobriu os sítios de periimplante em nenhum dos tempos do experimento. No sexto mês, a prevalência de microrganismos alvos nas bolsas periodontais e periimplantares mostrou uma maior similaridade, indicando que após seis meses ocorre o equilíbrio na microbiota.

Dois dos 20 pacientes experimentaram infecção periimplantar associada com *P. gingivalis*, confirmando que a presença de bolsas periodontais serve como um reservatório para as bactérias periodontopatogênicas (Van Winkelhoff *et al.*²⁵, 2000).

O papel dos dentes naturais na colonização microbiana de implantes pode ser mais bem demonstrado em estudos nos quais é realizada a comparação da microbiota isolada de 15 pacientes desdentados parciais e seis pacientes desdentados totais. Apse *et al.*⁵ (1989), poucas diferenças entre implantes e dentes em pacientes parcialmente edêntulos, indicando que os sulcos em torno dos dentes podem agir como um reservatório de bactérias que pode colonizar os implantes. *A. actinomycetemcomitans* foi encontrado em apenas uma área de implante (4%) e quatro áreas de dentes (15,8%). Os autores ainda observaram uma alta prevalência de bacilos anaeróbicos pigmentados Gram negativos e bactérias do gênero *Capnocytophaga* no sulco periimplantar de pacientes parcialmente desdentados. O estado biológico dos dentes remanescentes influencia de fato os implantes instalados recentemente.

Os sítios infectados com *A. actinomycetemcomitans* e/ou *P. gingivalis*/*P. intermedia* têm aumento da inflamação, sugerindo que esses microrganismos podem representar um papel importante no estágio inicial das periimplantites. Um significativo aumento na ocorrência de *P. gingivalis*/*P. intermedia* nos pacientes parcialmente edêntulos em relação aos totalmente edêntulos também sugere que os dentes naturais remanescentes podem servir como fonte de infecção. A colonização por *A. actinomycetemcomitans* não foi significativamente diferente entre os grupos (Kalykakis *et al.*⁴², 1994). Também segundo Kalykakis *et al.*⁴², (1994), implantes presentes na cavidade bucal por três a quatro anos apresentaram um significativo aumento na frequência dos microrganismos em relação aos implantes com um a dois anos.

Vários métodos podem ser usados para se verificar a microbiota periimplantar. Por meio de diferentes tipos de microscopia de contraste Quirynen, Listgarten⁴³ (1990) examinaram amostras de placa subgengival de 19 pacientes totalmente edêntulos e 24 pacientes parcialmente edêntulos. Dentes e implantes apresentaram uma microbiota compatível com saúde periodontal. Nos pacientes parcialmente edêntulos não houve diferença significativa na distribuição dos morfotipos bacterianos encontrados em implantes e dentes. As porcentagens para os implantes foram de 65,8% de cocos; 2,3% bacilos móveis; 2,1% de espiroquetas

e 29,8% de outras bactérias. Para dentes foram de 55,6% de cocos; 4,9% de bacilos móveis; 3,6% de espiroquetas e 34,9% de outras bactérias. Quando a composição da placa em implantes de pacientes totalmente edêntulos, foi comparada com a dos dentes e implantes em pacientes parcialmente edêntulos apareceram diferenças significativas. Nos pacientes totalmente edêntulos mais cocos (71,3%), poucos bacilos móveis (0,4%) e nenhuma espiroqueta foram encontrados ao redor de implantes. O resultado destes autores mostrou que a presença de dentes naturais no meio influencia a composição da placa ao redor de implantes, e também sugere que dentes podem servir como um reservatório para a colonização bacteriana de implantes de titânio em algumas bocas (Quirynen, Listgarten⁴³, 1990).

Através do teste de aglutinação de látex, Kalykakis *et al.*⁴⁴ (1998) também compararam pacientes parcialmente desdentados com totalmente desdentados reabilitados com implantes, sendo nove homens e 15 mulheres. Os autores identificaram a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia*. Os pacientes parcialmente desdentados acumularam mais placa e tiveram significativamente maior taxa de fluxo de fluido crevicular. Os microrganismos mais freqüentemente detectados foram *P. gingivalis* e *P. intermedia*. *A. actinomycetemcomitans* estava igualmente distribuído entre os desdentados totais (12,3%) e parciais (17%). *A. actinomycetemcomitans* foi encontrado com maior freqüência em homens que mulheres. Esses resultados indicam que a presença de dentes naturais altera parâmetros clínicos e microbiológicos, contaminando os implantes e diminuindo a taxa de sucesso destes em longo prazo. Os autores salientam ainda que a saúde periodontal de dentes remanescentes, assim como cuidados com higiene oral e revisão periódica a cada três meses, são importantes para o sucesso longitudinal dos implantes⁴⁵.

Utilizando a análise de reação de cadeia de polimerase (PCR), Leitão *et al.*⁴⁵, (2005) estudaram a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* em 19 pacientes, sendo todos parcialmente edêntulos. Em sete destes pacientes foi observada a presença das três espécies de bactérias. Após a análise dos resultados os autores sugerem que mesmo na ausência de sinais inflamatórios significantes, essa detecção qualitativa pode demonstrar risco de periimplantite, tornando necessária manutenção pós-operatória rigorosa.

2.8 AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS

Aggregatibacter actinomycetemcomitans é um bastonete Gram negativo, pequeno, não formador de esporo, imóvel, anaeróbico facultativo que se desenvolve melhor em condições de anaerobiose, principalmente na temperatura de 37°C (Slots⁴⁶, 1981), sendo que no seu primeiro isolamento, as colônias apresentam-se translúcidas, brilhantes e com uma estrutura interna em forma de estrela (Slots, Genco⁴⁷, 1984). Em isolamento primário, todas as colônias apresentam-se convexas, ligeiramente irregulares e com diâmetro de um mm, característico da espécie (Gasparetto *et al.*⁴⁸, 2000). O gênero *Actinobacillus* é constituído de onze espécies conhecidas atualmente e é membro da família Pasteurellaceae (Zambon⁴⁹, 1985).

Este microrganismo apresenta três sorotipos *a*, *b* e *c*, que se baseiam na análise dos antígenos da superfície celular, descritos por Slots⁴⁶ (1981). Mais tarde foram reconhecidos os sorotipos *d* e *e*, sendo que na cavidade bucal predominam os tipos *a* e *b*, e o sorotipo *c* tem mais relação com infecções sistêmicas (Zambon⁴⁹, 1985).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans depende de inúmeros fatores para se estabelecer nos tecidos bucais tais como: mecanismos que permitam sua adesão, interação com a microbiota residente e alguns fatores do hospedeiro. A cavidade bucal possui uma anatomia que gera ambientes distintos supra e subgengivais com diferentes pH, potencial de oxi-redução e disponibilidade de nutrientes. Além disso a mastigação, os hábitos alimentares e os componentes salivares atuam de forma diferente quando se considera um e outro ambiente, selecionando o crescimento bacteriano (Fives-Taylor *et al.*⁵⁰, 1999).

A virulência de um microrganismo trata-se da habilidade deste em causar uma infecção. A virulência microbiana inclui vários itens como penetração no hospedeiro, encontro de um nicho ecológico único, escape das defesas do hospedeiro, reprodução e mecanismos patogênicos próprios (Slots, Genco⁴⁷, 1984).

As bactérias Gram-negativas apresentam apêndices filamentosos chamados pili ou fímbrias, relacionados à capacidade de adesão nos tecidos. Estas estruturas parecem ser responsáveis pela adesão do *A. actinomycetemcomitans* à hidroxiapatita do esmalte. Segundo Gasparetto *et al.*⁴⁸, (2000), todas as espécies de *A. actinomycetemcomitans* isoladas aderiram às células epiteliais bucais e os

microrganismos que apresentaram altos índices de aderência também produziram quantidades elevadas de componentes extracelulares, tais como fímbrias, vesículas e/ou material amorfo extracelular. Essas bactérias aderem-se fortemente à superfície do ágar, pois possuem fímbrias na superfície celular, o que possibilita sua colonização no meio bucal (Zambon⁴⁹, 1985). Outras estruturas responsáveis pela adesão deste microrganismo são as adesinas, que interagem com receptores específicos da saliva, estrutura dentária e células epiteliais promovendo a união (Fives-Taylor *et al.*⁵⁰, 1999). Esta adesão é resistente aos movimentos da fala, ao fluxo salivar e à ingestão de alimentos.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans é capaz de inibir mecanismos de defesa do hospedeiro através de imunossupressores, que inibem a síntese de DNA e RNA pelas células T ativadas bem como a síntese de imunoglobulina G e M pelos linfócitos humanos. Acredita-se que a alteração da produção de imunoglobulina se dê através da ativação dos linfócitos B os quais reduzem não só sua própria habilidade, como também a habilidade do linfócito T de responder a mitógenos. Outro processo que pode ser inibido pelo *A. actinomycetemcomitans* é a quimiotaxia, responsável em promover a chegada dos neutrófilos ao local da infecção (Fives-Taylor *et al.*⁵⁰, 1999).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans produz leucotoxinas, toxinas capazes de atuar nos neutrófilos e macrófagos, induzindo a formação de poros nas membranas celulares levando à morte da célula alvo (Slots⁴⁶, 1981). Os fibroblastos do ligamento periodontal humano são resistentes aos efeitos da citotoxina (CDT – cytolethal distending toxin) do *A. actinomycetemcomitans*. Este mecanismo de resistência ainda não foi determinado, mas pode ser observado na falta de capacidade da toxina em danificar o DNA (Kanno *et al.*⁵¹, 2005). A collagenase produzida pelo *A. actinomycetemcomitans* degrada a molécula do colágeno constituinte das células dos tecidos periodontais. As citotoxinas produzidas por estas bactérias também promovem alterações na viabilidade dos fibroblastos (Fives-Taylor *et al.*⁵⁰, 1999).

A presença de periodontopatógenos ao redor dos dentes não conduz necessariamente ao rompimento do tecido periodontal. Entretanto a presença de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *T. forsythia* pode conferir um aumento do risco microbiológico de indução ao rompimento do periodonto (Leonardt *et al.*⁵², 1999). *A. actinomycetemcomitans* não foi encontrado na mucosa bucal e saliva dos

51 pacientes totalmente edêntulos portadores de próteses totais que participaram da pesquisa de Könönen *et al.*⁵³ (1991), dando peso à hipótese de que o nicho primário do *A. actinomycetemcomitans* é o sulco gengival e a perda completa dos dentes elimina algumas bactérias patogênicas por falta de um habitat susceptível à colonização.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans tem a capacidade de penetrar o epitélio gengival podendo ser encontrado em determinados locais como tecido epitelial, superfície epitelial da membrana basal, tecido conjuntivo e osso alveolar. O processo de penetração nas células epiteliais é extremamente dinâmico e complexo. Sabe-se que a membrana externa do *A. actinomycetemcomitans* apresenta inúmeras estruturas vesiculares contendo leucotoxina, endotoxina e/ou bactericina capazes de induzir a reabsorção óssea (Fives-Taylor *et al.*⁵⁰, 1999).

Sabe-se atualmente que 5% das amostras isoladas clinicamente de *A. actinomycetemcomitans* possuem plasmídios, que são elementos genéticos capazes de modificar propriedades fisiológicas de microrganismos, contribuir para virulência bacteriana, alterar posição taxonômica bem como propagar propriedades biológicas entre diferentes cepas, espécies e gêneros (Slots, Genco⁴⁷, 1984).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi comparar a presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* no fluido periimplantar e saliva nos grupos de pacientes desdentados totais e parciais reabilitados com implantes osseointegrados estáveis.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

A pesquisa foi realizada em 22 pacientes, de ambos os gêneros, entre 42 e 78 anos, que foram atendidos no Curso de Implantodontia da EAP/ABO–PG, sendo oito pacientes desdentados totais (PDT) e 14 pacientes desdentados parciais (PDP), com presença de seis a 24 dentes naturais. Em ambos os grupos os pacientes foram reabilitados com implantes de titânio com superfície tratada das marcas Titanium Fix, Conexão, Serson, Sin, IMZ e Emfils. Todos os pacientes encontravam-se em estado de saúde periodontal com implantes estáveis, perda óssea menor que um milímetro ao ano. Os pacientes desdentados parciais apresentavam-se livres de cáries, sem doença periodontal ativa, baseados na avaliação clínica e radiográfica. A profundidade de sondagem dos dentes naturais não excedeu três milímetros e nenhuma mobilidade foi detectada. A profundidade de sondagem periimplantar não excedeu cinco milímetros. Os pacientes não haviam tomado antibióticos por no mínimo 6 meses antes da coleta das amostras, não faziam uso de nenhum tipo de anti-séptico bucal, e as próteses sob implantes haviam sido concluídas no mínimo seis meses antes da coleta das amostras. Pacientes com periodontite ou periimplantite instalada, com história de febre reumática, condição cardíaca congênita, diabetes, desordem na tireóide, discrasias sanguíneas, doenças crônicas no rim ou fígado, quimioterapia ou radioterapia e imunossuprimidos não foram aceitos no estudo. A confirmação da ausência de doença periimplantar foi realizada através de exames radiográficos nos quais não foi observada perda óssea superior a duas roscas do implante.

O estudo foi desenvolvido após avaliação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, que forneceu parecer favorável à sua realização, parecer nº30/2007, protocolo 05887/06 (Anexo A).

Os pacientes foram informados dos propósitos da pesquisa e o material foi coletado apenas daqueles que consentiram em participar do estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, TCLE (Anexo B).

4.2 PESQUISA DE *AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS*

As amostras utilizadas para a pesquisa de *A. actinomycetemcomitans* foram coletadas a partir de sulcos periimplantares localizados na região dos dentes pré-molares inferiores ou primeiros molares inferiores. Quando havia impossibilidade da obtenção de amostras desses sítios, as mesmas foram obtidas de dentes anteriores ou os seus correspondentes na arcada superior (Anexo C). Para coleta das amostras foi realizada a remoção da placa supragengival com gaze esterilizada e a seguir foram introduzidos três cones de papel absorvente esterilizados (nº 30, Tanari) na porção mais apical do sulco periimplantar, com auxílio de pinças clínicas individuais esterilizadas. Após 60 segundos de permanência nos sulcos, os cones foram transferidos para tubos contendo dois mililitros de caldo tripticaseína de soja (Slots⁴⁶, 1981 – com modificação) e a seguir foram encaminhados para o Laboratório de Microbiologia da UEPG, respeitando o período máximo de três horas após a coleta. As amostras foram homogeneizadas vigorosamente em aparelho Vortex por um minuto e alíquotas de 0.1 mL foram semeadas, em duplicata, em placas contendo ágar de soja tripticaseína, acrescido de bacitracina (Inlab), na concentração final de 75 µg/mL e vancomicina (Inlab) na concentração final de 5 µg/mL (TSBV). Foi, ainda, adicionado ao meio soro de cavalo (Laborclin), na concentração final de 10% (Slots⁴⁶, 1981). As placas foram incubadas em jarras de anaerobiose (Permution/Krieger e Cia) com um gerador de atmosfera para reduzir o oxigênio (Anaerobac/Probac) a 37°C por cinco dias. Após incubação, determinou-se o número de ufc/mL do microrganismo pesquisado (*A. actinomycetemcomitans*). As colônias crescidas no TSBV foram analisadas em microscópio óptico de luz comum (Nikon Eclipse E200) para confirmação morfológica e também foram realizadas provas bioquímicas de fermentação de açúcares e catalase (Slots⁴⁶, 1981).

A. actinomycetemcomitans também foi pesquisado na saliva dos mesmos pacientes. Amostras foram coletadas com auxílio de um suabes esterilizado (Deskarplas) que foi passado por toda a mucosa do fundo de vestibulo e também da região sublingual por um minuto e processadas para análise microbiológica do mesmo modo que as amostras obtidas da região periimplantar. Todas as amostras foram obtidas no período da manhã.



Figura 1 – Coleta das amostras do fluido do sulco periimplantar de paciente parcialmente desdentado com cones de papel



Figura 2 - Amostras obtidas do sulco periimplantar (cone de papel) e da saliva (suabes), em meio Tryptic soy



Figura 3 - Semeadura das amostras em ágar TSBV



Figura 4 - Ágar TSBV após semeadura das amostras, em jarras de anaerobiose, contendo gerador de atmosfera para reduzir oxigênio (Anaerobac)



Figura 5 - Incubação das jarras de anaerobiose a 37°C/cinco dias

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados utilizando-se tabelas de contingência, porcentagens e teste Exato de Fisher. A normalidade foi testada utilizando-se Kolmogorov-Smirnov e teste t paramétrico de Student, teste de Kruskal-Wallis, comparação múltipla de Dunn e Man-Whitney aplicados ao nível de significância de 5% . Foi usado o software GaphPad Prism ® version 2.0.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES ESTUDADOS

A pesquisa de *A. actinomycetemcomitans* foi realizada em 22 pacientes, sendo oito do gênero masculino (36,36%) e 14 do gênero feminino (66,66%). Dos 22 pacientes, oito eram totalmente desdentados (37,50% de homens e 62,50% de mulheres) e 14 eram parcialmente desdentados (35,71% de homens e 64,28% de mulheres) todos reabilitados com implantes osseointegrados (Tabela 1). O tempo de função das reabilitações protéticas sobre implantes, até a coleta das amostras, variou de seis meses a seis anos. Dos 22 pacientes estudados, 17 submeteram-se ao tratamento com implantes devido à perda dos dentes naturais por doença periodontal, nos demais pacientes a razão da perda dos dentes naturais não foi determinada.

Tabela 1 – Número e porcentagem (%) de pacientes do gênero masculino e feminino distribuídos nos grupos de desdentados totais e parciais

Pacientes	Desdentados Totais (n=8)	%	Desdentados Parciais (n=14)	%
Masculino	3	37,50	5	35,71
Feminino	5	62,50	9	64,28

p>0,05 (Teste Exato de Fisher); ODDS Ratio= 1.08; IC 0,5%= 0,18 – 6,54

As características encontradas nos pacientes selecionados, tais como a presença de outras próteses que não as próteses sobre implante, vícios à saúde como o fumo estão demonstradas nas Tabelas 2 e 3. Apenas um paciente pertencente ao grupo de desdentados totais relatou uso abusivo de álcool. Todos os tratamentos com implantes e as próteses sobre implante foram concluídas entre os anos de 2000 e 2006.

Tabela 2 - Número e porcentagem (%) dos pacientes que eram portadores de outro tipo de próteses além das próteses sobre implantes, distribuídos entre os grupos desdentados totais e parciais de acordo com o gênero

CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES			DESDENTADOS TOTAIS (n=8)			%	DESDENTADOS PARCIAIS (n=14)			%
			Masc	Fem	Total		Masc	Fem	Total	
Próteses Totais			1	2	37,50		0	0	0	
Próteses	Totais	tipo	0	0	0		1	0	7,14	
Próteses Removíveis			0	0	0		1	3	28,57	

Tabela 3 - Número e porcentagem (%) dos pacientes fumantes e não-fumantes distribuídos nos grupos desdentados totais e parciais reabilitados com implantes osseointegrados

CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES	DESDENTADOS TOTAIS (n=8)		DESDENTADOS PARCIAIS (n=14)	
	%		%	
	Masc	Fem	Masc	Fem
Fumantes	1 (12,5%)	2 (25,0%)	0	4 (28,6%)
Até 10 cigarros/dia	1 (12,5%)	1 (12,5%)	0	3 (21,4%)
Mais de 10 cigarros/dia	0	1 (12,5%)	0	1 (7,1%)
Não Fumantes	2 (25,0%)	3 (37,5%)	5 (35,7%)	5 (35,7%)

5.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Os resultados da pesquisa de *A. actinomycetemcomitans* no sulco periimplantar e saliva de pacientes desdentados totais e parciais reabilitados com implantes osseointegrados estão demonstrados nas Tabelas 4 e 5, anexo C e nas figuras de 6 a 8. As amostras foram coletadas do fluido do sulco periimplantar nas regiões dos dentes pré-molares inferiores. A análise Estatística através do teste

Kolmogorov-Smirnov mostrou normalidade das amostras. Não existiu diferença significativa no número de ufc/mL de *A. actinomycetemcomitans*, tanto no fluido periimplantar quanto na saliva entre desdentados totais e parciais (Tabela 4; teste Mann-Whitney, sulco: $p=0.7280$; saliva $p=0.3503$).

Dos oito pacientes do grupo de desdentados totais, quatro (50%) apresentaram *A. actinomycetemcomitans* no sulco e dois (25%) na saliva. Dos 14 desdentados parciais, cinco (35,7%) apresentaram o microrganismo no sulco e oito (57,1%) na saliva.

Tabela 4. – Média, Desvio Padrão (DP) e Erro Padrão da Média (EPM) do número de ufc/mL de *A. actinomycetemcomitans* isolado do fluido do sulco periimplantar e saliva de pacientes desdentados totais e parciais reabilitados com implantes osseointegrados

Pacientes	DESDENTADOS TOTAIS (n=8)		DESDENTADOS PARCIAIS (n=14)	
	Sulco ufc/mL	Saliva ufc/mL	Sulco ufc/mL	Saliva ufc/mL
1	5	0	235	6930
2	290	3865	665	10
3	25	0	0	25
4	0	0	0	810
5	0	0	30	55
6	0	0	3040	25
7	0	0	0	35
8	340	40	0	5
9	-	-	0	0
10	-	-	5	0
11	-	-	0	0
12	-	-	0	0
13	-	-	0	0
14	-	-	0	0
Média	82,50	488,12	283,92	563,93
DP	144,37	1364,53	813,90	1844,63
EPM	51,04	482,44	217,52	493,00

Teste Mann-Whitney: Desdentados Totais x Desdentados Parciais - sulco: $p=0.7074$, saliva $p=0.3393$; Desdentados Totais – sulco x saliva $p=0.5286$; Desdentados Parciais – sulco x saliva $p=0.4213$.

Na Tabela 5 estão os resultados obtidos no sulco e saliva de pacientes desdentados totais e parciais, de acordo com o gênero. Não ocorreu diferença significativa entre sulco e saliva de pacientes masculinos e femininos, dentro do mesmo grupo. Diferença significativa ocorreu apenas entre o número de ufc/mL

recuperado da saliva de pacientes do gênero feminino desdentados totais em relação aos parciais ($p=0,0455$).

Tabela 5 - Média e DP do número de ufc/mL de *A. actinomycetemcomitans* isolado do fluido do sulco periimplantar e saliva de pacientes desdentados totais e parciais, de acordo com o gênero.

Pacientes	DESDENTADOS TOTAIS (n=8)				DESDENTADOS PARCIAIS (n=14)			
	Sulco ufc/MI		Saliva ufc/mL		Sulco ufc/mL		Saliva ufc/mL	
	Masc	Fem	Masc	Fem*	Masc	Fem	Masc	Fem*
1	5	-	0	-	-	235	-	6930
2	290	-	3865	-	-	665	-	10
3	-	25	-	0	-	0	-	25
4	-	0	-	0	-	0	-	810
5	-	0	-	0	30	-	55	-
6	-	0	-	0	-	3040	-	25
7	-	0	-	0	0	-	35	-
8	340	-	40	-	-	0	-	5
9					0	-	0	-
10					-	5	-	0
11					0	-	0	-
12					-	0	-	0
13					-	0	-	0
14					0	-	0	-
Média	211,67	5,00	1301,67	0	6,00	438,33	18,00	867,22
DP	180,72	11,18	2220,00	0	13,42	1000,61	25,64	2288,93
EPM	104,34	2,23	1281,72	0	2,24	333,54	11,47	792,98

* Diferença estatisticamente significante através do Teste Mann-Whitney $p = 0,0455$.



Figura 6 – Aspecto macroscópico das colônias de *A. actinomycetemcomitans* em ágar TSBV



Figura 7 - Colônia de *A. actinomycetemcomitans* em ágar TSBV, microscopia óptica de luz comum (aumento 40x)



Figura 8 - Maior aumento da colônia de *A. actinomycetemcomitans* em microscopia óptica de luz comum (aumento 100x)

6 DISCUSSÃO

Este estudo comparou a presença de *A. actinomycetemcomitans* no sulco periimplantar e mucosa bucal de indivíduos desdentados totais e parciais, com saúde periimplantar. Vários autores têm destacado a participação de patógenos periodontais oportunistas nas periimplantites e conseqüente falha dos implantes (Leonhardt *et al.*², 1993; Ashimoto *et al.*²⁷, 1996; Becker *et al.*²⁴, 1990; Hultin *et al.*²⁹, 2002; Botero *et al.*²⁸, 2005); por isso a importância de se conhecer os mecanismos de colonização dos sítios periimplantares de indivíduos portadores de implantes estáveis por patógenos como *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans*. Decidiu-se estudar microrganismos da espécie *A. actinomycetemcomitans* devido à controvérsia existente na literatura sobre a participação desta espécie no desenvolvimento de doenças periodontais e periimplantares.

Autores como Kalykakis *et al.*⁴²(1994), Mengel e Flores-de-Jacoby³⁹(2005), Eke *et al.*³² (1998), Becker *et al.*²⁴(1990), Hultin *et al.*²⁹(2002), Silverstein *et al.*¹⁸(1994) isolaram *A. actinomycetemcomitans* de sítios com doenças periimplantares e periodontais e relataram que a participação desses microrganismos é importante para o desenvolvimento de periimplantites e conseqüente perda do implante. Outros estudos não puderam correlacionar a presença de patógenos periodontais oportunistas à perda dos implantes (Leonhardt *et al.*², 1993; Nociti Junior *et al.*³³, 2001) e ainda, autores como Botero *et al.*²⁸ (2005) não encontraram *A. actinomycetemcomitans* nas amostras de lesões periimplantares.

Listgarten e Lai¹ (1990) compararam sítios com periodontite e sítios com periimplantite, demonstrando que existe similaridade na composição da microbiota, a prevalência das espécies foi similar apenas com diferenças quantitativas. Porém, *A. actinomycetemcomitans* foi raras vezes restabelecido nos implantes com falhas e em níveis muito baixos. Para Leonhardt *et al.*⁶ (2002) espécies como *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga spp.* e *C. rectus* fazem parte da microbiota residente normal em muitos indivíduos e podem ser encontrados casualmente em sítios estáveis ou com periimplantite. No nosso estudo não foram encontradas diferenças significativas no número de microrganismos

presentes, entretanto *A. actinomycetemcomitans* também não estava presente em todos os pacientes estudados.

Outro fator que torna importante o estudo da colonização de sítios periimplantares por *A. actinomycetemcomitans* são seus mecanismos de virulência (Slots⁴⁶, 1981).

A falha de implantes antes de entrar em função pode ser produzida pela técnica cirúrgica incorreta e condição do osso (Rosenberg et al.²⁰, 1991; Piovano²¹, 1999). E a falha do implante após sua função pode ser produzida por trauma oclusal ou infecções periimplantares predominantemente anaeróbias. O estudo da microbiota periimplantar tornou-se relevante ao se relacionar alterações teciduais à presença de microbiota periimplantar específica.

Nesta pesquisa optou-se pelo estudo de sítios periimplantares saudáveis, uma vez que a microbiota relacionada à periimplantite tem sido amplamente estudada. No estudo realizado por Lee et al.³ (1999), os microrganismos encontrados ao redor de dentes periodontalmente saudáveis e implantes são similares e incluem *Streptococcus*, espécies de *Veillonella*, espécies de *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum*, e espécies de *Actinomyces*. A microbiota presente em implantes clinicamente saudáveis também foi verificada por Ong et al.³⁶ (1992) em pacientes desdentados totais que isolou *A. actinomycetemcomitans* de apenas 0,3% das amostras.

Comparando a microbiota periimplantar em pacientes com saúde e doença periimplantar, Leonhardt et al.⁶ (2002) relataram que a presença de periodontopatógenos pode não estar associada com prejuízos no tratamento com implantes.

A colonização dos implantes é originada, em parte, da dentição natural remanescente (Lee et al.³, 1999). Danser et al.⁴, em 1997, enfatizaram a importância de eliminar patógenos periodontais putativos da cavidade bucal de pacientes parcialmente edêntulos antes da inserção de implantes. Entretanto, neste estudo, *A. actinomycetemcomitans* não foi isolado de 100% dos pacientes, mas sim em 50% das amostras obtidas do sulco perimplantar e em 25% das amostras de saliva de desdentados totais e em 35% e 57% respectivamente de amostras do sulco e saliva de desdentados parciais, mostrando que a presença ou não de dentes naturais não influenciou no estado de portador de *A. actinomycetemcomitans* no sulco periimplantar e cavidade bucal dos pacientes. Nossos resultados diferem dos

encontrados por Danser *et al.*⁴ (1997) e Lee *et al.*³, (1999), que relatam que em pacientes desdentados totais, a microbiota está associada à freqüente ausência de espiroquetas, *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*. Segundo os autores essas espécies bacterianas não têm habilidade para crescer em uma boca totalmente edêntula. No presente estudo *A. actinomycetemcomitans* estava presente em 50% das amostras do sulco periimplantar dos pacientes edêntulos totais, no estudo realizado por Ong *et al.*³⁶ (1992) apenas 0,3% das amostras apresentavam *A. actinomycetemcomitans*.

Nosso estudo demonstrou que embora o microrganismo estudado faça parte da microbiota subgengival, ele pode ser isolado em porcentagens semelhantes em amostras de sulco periimplantar e saliva. Não foram encontrados estudos na literatura relatando a presença de *A. actinomycetemcomitans* na saliva, mas sim em amostras de placa subgengival, de mucosa bucal e de placa supragengival (Quirynen, Listgarten⁴³, 1990; Leonhardt *et al.*², 1993; Danser *et al.*⁴, 1997; Koka *et al.*³⁸, 1993). A presença na saliva pode ser responsável pela transferência desses microrganismos de um sítio para outro na cavidade bucal.

A. actinomycetemcomitans estava igualmente distribuído entre os desdentados totais (12,3%) e parciais (17%) no estudo de Kalykakis *et al.*⁴⁴ (1998); valores inferiores aos encontrados neste estudo no qual *A. actinomycetemcomitans* estava presente em 50% dos pacientes desdentados totais e 35,7% dos desdentados parciais. Comparando os mesmos grupos, e diferindo do nosso estudo, Danser *et al.*⁴, 1997, não detectou presença de *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* na mucosa bucal e nem no sulco periimplantar dos indivíduos totalmente edêntulos. Já no estudo envolvendo 19 pacientes parcialmente desdentados realizado por Leonhardt *et al.*² (1993), 18,8% das amostras periimplantares foram positivas à presença de *A. actinomycetemcomitans*.

Ao se comparar o número de ufc/mL isolado do sulco periimplantar e saliva em um mesmo paciente, verificou-se que o microrganismo não era necessariamente isolado de ambos os sítios e que as diferenças encontradas não foram estatisticamente significantes. Essa diferença entre o número de ufc/mL de *A. actinomycetemcomitans* só ocorreu quando se comparou os resultados obtidos na saliva de pacientes do gênero feminino do grupo de desdentados totais com os pacientes do gênero feminino do grupo desdentados parciais, sendo o número maior

no grupo desdentado parciais. Estudos posteriores envolvendo apenas esse grupo de pacientes devem ser realizados.

Tem sido demonstrado que qualquer alteração que ocorra no equilíbrio ecológico da cavidade bucal interfere na colonização bacteriana dos diferentes sítios. Vícios como tabagismo podem alterar a mucosa bucal, entretanto, neste estudo não foi mostrada nenhuma relação entre o tabagismo e a presença de *A. actinomycetemcomitans* nos diferentes sítios.

A metodologia empregada neste estudo é de simples realização e os resultados obtidos são confiáveis, uma vez que sua padronização já foi realizada e é bastante difundida na literatura (Slots⁴⁶, 1981; Slots, Genco⁴⁷, 1984; Apse *et al.*⁵ 1989; Van Winkelhoff *et al.*²⁵, 2000). Este estudo contribui para melhor compreensão da variabilidade que existe na colonização de sítios periimplantares por microrganismos como *A. actinomycetemcomitans*; assim, pela grande variação encontrada tanto entre os grupos de desdentados totais e parciais quanto em diferentes sítios em um mesmo indivíduo, um maior número de estudos é necessário para se determinar o real papel dos diferentes membros da microbiota periimplantar na falha e no sucesso dos implantes.

7 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada, considerando suas limitações, concluímos que:

- 1 - A presença de dentes naturais não interferiu na colonização do sulco periimplantar e saliva por *A. actinomycetemcomitans*.
- 2 - A presença de *A. actinomycetemcomitans* no fluido do sulco periimplantar foi semelhante em ambos os gêneros e grupos.
- 3 - A colonização por *A. actinomycetemcomitans* é variável tanto em número de ufc/mL quanto ao número de pacientes positivos em ambos os grupos.

REFERÊNCIAS

1. Listgarten MA, Lai CH. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. *J Periodontol.* 1999; 70: 431-437.
2. Leonhardt Å, Adolfsson B, Lekholm U, Wikström M, Dahlén G. A longitudinal microbiological study on osseointegrated titanium in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res.* 1993; 4:113-120.
3. Lee KH, Maiden MFJ, Tanner ACR, Weber HP. Microbiota of successful osseointegrated dental implants. *J Periodontol.* 1999; 70(2): 131-138.
4. Danser MM, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. Periodontal bacteria colonizing oral mucous membranes in edentulous patients wearing dental implants. *J Periodontol.* 1997; 68: 209-216.
5. Apse P, Ellen RP, Overall CM, Zarb GA. Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: A comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *J Periodont Res.* 1989; 24: 96-105.
6. Leonhardt A, Grondahl K, Bergstrom C, Lekholm U. Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13(2):127.
7. Branemark, P-I; Zarb GA, Albrektsson T. *Protesis tejido-integradas.* Berlin: Ed. Quintessence; 1987.
8. Schroeder A, Sutter F, Krekeler G. *Implantodontia dental.* São Paulo: Panamericana; 1994.

9. Hobo S, Ichida E, Garcia LT. Osseointegração e Reabilitação Oclusal. São Paulo: Quintessence Books; 1997.
10. Albrektsson T. Osseointegração. In Lindhe J. Tratado de periodontia clínica e implantodontia oral. São Paulo: Guanabara, 1997.
11. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria. Int J Oral Maxillofac Implants. 1986; 11: 11-25.
12. Lascale Junior NT. Semelhança e diferenças entre dentes e implantes dentários osseointegrados. 22º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo – APCD, 2004. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.273-299.
13. Lindhe, J. Tratado de periodontia clínica e implantodontia oral. 3rd ed. São Paulo: Guanabara; 1997.
14. Misch CL. Implantes Dentários Contemporâneos. 2nd ed. São Paulo: Ed. Santos; 2000.
15. Chung DM, Oh T-J, Shotwell JL, Misch CE, Wang H-L. Significance of keratinized mucosa in maintenance of dental implants with different surfaces. J Periodontol. 2006; 77(8): 1410-1420.
16. Salvi GE, Lang NP. Parâmetros de diagnóstico para monitoramento de condições periimplantares. Int J Oral Maxillofac Implants. 2004; 19 (SuplI): 116-127.
17. Aldana RO, Santos AAC. Análise da microbiota dos sulcos dos implantes de pacientes tratados com implantes dentais. RBP. 2003; 10(39): 233-239.
18. Silverstein LH, Kurtzman D, Garnick JJ, Schuster GS, Steflik DE, Moskowitz ME. The microbiota of the peri-implant region in health and disease. Implant

Dent. 1994; 3(3): 170-174.

19. Ono Y, Nevins M, Cappetta EG. A importância do tecido queratinizado para os implantes. In Nevins M, Mellonig JT. Implanto terapia: Abordagens clínicas e evidencia de sucesso. São Paulo: Quintessence; 2003. p.227-238.
20. Rosenberg ES, Torosian JP, Slots J. Microbial differences in 2 clinically distinct types of failure of osseointegrated implants. Clin Oral Impl Res. 1991; 2: 135-134.
21. Piovano S. Bacteriology of most frequent oral anaerobic infections. Anaerobe. 1999; 5: 221-227.
22. Mombelli A. Microbiology of the dental implant. Adv Dent Res. 1993; 7(2): 202-206.
23. Mombelli A, Van Oosten MAC, Schürch E, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implantes. Oral Microbiol Immunol. 1987; 2: 145-151.
24. Becker W, Becker BE, Newman MG, Nyman S. Clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure. Int J Oral Maxillofac Surg. 1990; 5: 31-38.
25. Van Winkelhoff AJ, Goené RJ, Benschop C, Folmer T. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. Clin Oral Impl Res. 2000; 11: 511-520.
26. Sumida S, Ishihara K, Kishi M, Okuda K. Transmission of periodontal disease – associated bactéria from teeth to osseointegrated implant regions. Int J Oral Maxillofac Implants. 2002; 17: 696-702.
27. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction of 8

periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*. 1996; 11: 266-273.

28. Botero JE, González AM, Mercado RA, Olave G, Contreras A. Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adyacente teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol*. 2005; 76(9): 1490-1495.
29. Hultin M, Gustafsson A, Hallström H, Johansson L-A, Ekfeldt A, Klinge B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implant Res* 2002 aug; 13(4): 349-358.
30. Jansson H, Hamberg K, De Bruyn H, Bratthall G. Clinical consequences of IL-1 genotype on early implant failures in patients under periodontal maintenance. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005; 7(1): 51-59.
31. Baelum V, Ellegaard B. Implant survival in periodontally compromised patients. *J Periodontol*. 2004; 75(10): 1404-1412.
32. Eke PI, Braswell LD, Fritz ME. Microbiota associated with experimental peri-implantitis and periodontitis in adult *Macaca mulatto* monkeys. *J Periodontol*. 1998; 69(2): 190-194.
33. Nociti Junior FH, Toledo RC, Machado MAN, Stefani CM, Line SRP, Gonçalves RB. Clinical and microbiological evaluation of ligature-induced peri-implantitis and periodontitis in dogs. *Clin Oral Impl Res*. 2001; 12: 295-300.
35. Gouvoussis J, Sindhusake D, Yeung S. Cross-infection from periodontitis sites to failing implant sites in the same mouth. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997; 12(5): 666 – 673.
35. Mombelli A, Lang NP. Diagnóstico e tratamento de periimplantite. In: Slots J. editor. *Implantes Oraís. Periodontologia* 2000. São Paulo: Ed. Santos, 2005. p.63-76.

36. Ong ESM, Newman HN, Wilson M, Bulman JS. The occurrence of periodontitis-related microorganisms in relation to titanium implants. *J Periodontol.* 1992; 63: 200-205.
37. Danser MM, Van Winkelhoff AJ, De Graaff J, Van Der Velden U. Putative periodontal pathogens colonising oral mucous. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 854-859.
38. Koka S, Razzoog ME, Bloem TJ, Syed S. Microbial colonization of dental implants in partially edentulous subjects. *J Prosthet Dent.* 1993; 70:141-144.
39. Mengel R, Flores-de-Jacoby L. Implants in patients treated for generalized aggressive e chronic periodontitis: a 3 year prospective longitudinal study. *J Periodontol.* 2005; 76(4): 534-543.
40. Sbordone L, Barone A, Ciaglia RN, Ramaglia L, Iacono VJ. Longitudinal study of dental implants in a periodontally compromised population. *J Periodontol.* 1999; 70: 1322-1329.
41. Van der Weijden GA, Van Bommel KM, Renvert S. Implant therapy in partially edentulous, periodontally com promised patients: a review. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 506-511.
42. Kalykakis G, Zafiropoulos G-G K, Murat Y, Hubertus S, Nisengard RJ. Clinical and Microbiological status of osseointegrated implants. *J Periodontol.* 1994; 65(8): 766-770.
43. Quirynen M, Listgarten MA. The distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Bränemark. *Clin Oral Implant Res.* 1990; 1:8-12.
44. Kalykakis GK, Mojon P, Nisengard R, Spiekermann H, Zafiropoulos G-G.

- Clinical and microbial findings on osseo-integrated implants; comparisons between partially dentate and edentulous subjects. *Eur J Prosthodont Rest Dent.* 1998; 6(4): 155-159.
45. Leitão JAO, De Lorenzo JL, Avila-Campos MJ, Sendyk WR. Analysis of the presence of pathogens which predict the risk of disease at peri-implant sites through polymerase chain reaction (PCR). *Braz Oral Res.* 2005; 19(1): 52-57.
 46. Slots J. Selective Medium for Isolation of *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol.* 1981; 15: 606-609.
 47. Slots J, Genco RJ. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: Virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. *J Dent Res.* 1984; 63(3): 412-421.
 48. Gasparetto A, Arana-Chavez VE, Avila-Campos MJ. Aderência de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* às células epiteliais bucais: estabilidade e aspectos ultra-estruturais. *Pesqui Odontol Brás.* 2000; 14(4): 311-318.
 49. Zambon J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1985; 12(1): 1-20.
 50. Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C. Virulence factors of *Actinocacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol.* 2000; 20: 136-167.
 51. Kanno F, Korostoff J, Volgina A, DiRienzo J. Resistance of human periodontal ligament fibroblasts to the cytolethal distending toxin of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontol.* 2005; 76(7): 1189-1201.
 52. Leonhardt Ä, Renvert S, Dahlén G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implants Res.* Oct 1999;10 (5): 339-45.

53. Könönen E, Asikainen S, Alaluusua S, Könönen M, Summanen P, Kanerva A, Jousimies-Somer H. Are certain oral pathogens part of normal oral flora in denture-wearing edentulous subjects? *Oral Microbiology and Immunology*. 1991; 6:119-122.

APÊNDICE A - FICHA ANAMNESE

Pesquisa intitulada: "Presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em sulco gengival e cavidade bucal de pacientes portadores de prótese sobre implante com e sem a presença de dentes naturais."

FICHA DE ANAMNESE

Paciente nº _____ Data: ____/____/____

Nome: _____

Data de nasc.: ____/____/____ Idade: ____ Sexo: (F) (M) Cor: branca(), preta(), parda().

Endereço: _____

Cidade: _____ Cep.: _____ Telefone: _____

É fumante? _____ Cigarros por dia: _____ Há quanto tempo? _____

Esta sob tratamento médico? _____ Qual médico? _____

Qual tratamento? _____ Há quanto tempo? _____

Está tomando medicação? _____ Qual? _____

Há quanto tempo? _____

Fez uso de antibiótico nos últimos 6 meses? _____ Qual? _____

Por quê? _____

Possui algum problema de saúde como:

Diabetes ()	Alteração PA ()	Problemas sanguíneo ()
Anemia ()	Neutropenia ()	Problemas cardíacos ()
Epilepsia ()	Problema Hormonal()	Doenças infecciosas ()
Hepatite ()	Problemas SNC ()	Doenças contagiosa ()
SIDA ()	Problemas Rim ()	Doenças auto-imune ()

OBS: _____

Está grávida? _____ Quantos meses? _____

É usuário de drogas? _____

Já foi submetido a tratamento periodontal? _____ Há quanto tempo? _____

Implantes na região dos elementos:

18	17	16	15	14	13	12	11		21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41		31	32	33	34	35	36	37	38

Marcas dos implantes: _____

Datas das Cirurgias: _____

Data da conclusão da prótese: _____

Elementos dentários presentes:

18	17	16	15	14	13	12	11		21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41		31	32	33	34	35	36	37	38

Outro tipo de próteses presentes: _____

ANEXO A – CARTA DO COEP

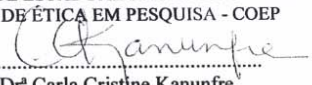


PARECER Nº 30/2006
Protocolo: 05887/06

Em reunião ordinária realizada nesta data, a Comissão de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa intitulado "**Presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em sulco gengival e cavidade bucal de pacientes portadores de prótese sobre implante com e sem a presença de dentes naturais**" de responsabilidade do Pesquisador (a) Elizabete Brasil dos Santos.

Ponta Grossa, 26 de outubro de 2006.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP


.....
Prof.ª Drª Carla Cristine Kanunfre
Coordenadora

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, portador do RG nº _____, autorizo de livre e espontânea vontade, a minha participação na pesquisa intitulada "PRESENÇA DE *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* EM SULCO GENGIVAL E CAVIDADE BUCAL DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESE SOBRE IMPLANTE COM E SEM A PRESENÇA DE DENTES NATURAIS", sob a responsabilidade do cirurgião-dentista MICHELE ELIAS CONTIN MANSUR (CRO 13362) mestranda em Odontologia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e tendo como orientadora a Dra. ELIZABETE BRASIL DOS SANTOS, professora do Departamento de Odontologia desta instituição. O trabalho será constituído de exame clínico, coleta do fluido do sulco gengival dos dentes e implantes, e coleta de saliva; estes procedimentos não causam nenhum desconforto e não trazem nenhum risco para os pacientes. Eu estou ciente que o exame não apresentará custo algum e não haverá tratamento odontológico aos participantes. A participação do paciente será muito importante para a realização desta pesquisa. O objetivo da pesquisa é informar a comunidade receptora de implantes osseointegráveis e profissionais que exercem as áreas relacionadas com a implantodontia sobre as diferentes microbiotas encontradas em pacientes reabilitados com implantes, e a importância em se manter os dentes naturais saudáveis, já que eles podem agir como um reservatório de microrganismos periodontopatogênicos. Esta pesquisa pretende verificar a prevalência de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* na cavidade bucal. Todas as informações do trabalho como dados e fotografias, somente poderão ser divulgados no meio científico se o anonimato (o paciente não será identificado) for preservado e sob responsabilidade ética do pesquisador. Sei que se de alguma forma eu precisar de informações adicionais, posso entrar em contato com o pesquisador responsável. Este termo foi entendido por mim, o qual assino abaixo.

Desde já agradecido por sua atenção,

Ponta Grossa, _____ de _____ 200_.

Assinatura do responsável: _____

Pesquisador: _____

Michele Elias Contin Mansur /Telefone: (42) 3224 5347

COEP :Avenida Carlos Cavalcanti, 4748,Uvaranas, Ponta Grossa CEP.: 84030-900/Fone: (42)32203108

ANEXO C – TABELA GERAL

nº	Paciente	Sexo	Idade	Nº de Dentes naturais	Nº Implantes Superiores e Inferiores	Data da Conclusão da Prótese	Outras próteses	Fumo	Doenças	Região Coleta (elemento dentário)	Aa (ufc/mL) sulco	Aa (ufc/mL) saliva	História de Perio-dontite
1	CMS	M	54	0	15(9s,6i)	Jul-06	-	S	Hepat.	PMID	5	0	S
2	MLC	F	66	6	7	Jul-03	Rem./s	S	-	PMID	235	6930	S
3	RFB	F	52	15	7 (4s,3i)	Jun-06	-	S	-	MIE	665	10	S
4	SG	F	53	7	12 (7s,5i)	Mar-06	-	S	-	PMSD	0	25	S
5	MMC	F	48	24	2	Dez-04	-	N	-	MID	0	810	S
6	CB	M	57	15	5s	Dez 05	-	N	PA alta	PMSD	30	55	S
7	MMG	F	75	6	14(8s,6i)	Dez 02	-	N	-	PMSD	3040	25	N
8	AD	M	78	6	17(9s,8i)	Dez 03	-	N	PA alta	PMSD	0	35	S
9	IS	F	42	6	16(10s,6i)	Nov03	-	N	-	PMSD	0	5	S
10	WDN	M	66	8	15	Out 05	Rem./s	N	PA alta	PMSD	0	0	S
11	LT	F	46	10	7i	Mai 04	Rem./s	S	-	PMID	5	0	N
12	ICP	M	64	13	7s	Mar06	-	N	-	PMSD	0	0	S
13	MSM	F	45	23	5 (3s,2i)	Jun04	-	N	PA alta	MID	0	0	S
14	ER	M	56	0	14 (8s,6i)	Ago 06	-	N	-	PMID	290	3865	S
15	ALM	F	75	0	16(8s,8i)	Fev 02	-	N	-	PMID	25	0	S
16	MLBS	F	63	0	18(12s,6i)	Dez00	-	N	Câncer	PMID	0	0	S
17	JZG	F	50	0	5i	Jun04	PTs	N	-	PMID	0	0	N
18	TPN	F	53	0	11(6s,5i)	Mar06	-	S	-	PMID	0	0	N
19	DRD	F	52	0	6i	Ago01	PTs	S	-	PMID	0	0	S
20	ESS	F	61	7	10s	Mar02	Rem.i	N	-	PMID	0	0	N
21	RRM	M	63	8	3i	Jun01	Over.Re	N	PA alta	CID	0	0	S
22	RR	M	67	0	6i	Ago02	PTs	N	PA alta	PMID	340	40	S