

MARCO ANTÔNIO DECONTO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA *IN VITRO* DO SELAMENTO BACTERIANO NA
CONEXÃO PILAR/IMPLANTE EM IMPLANTES TIPO CONE MORSE: ESTUDO
COMPARATIVO DE DOIS PILARES**

CAMPINAS
2008

MARCO ANTÔNIO DECONTO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA *IN VITRO* DO SELAMENTO BACTERIANO NA
CONEXÃO PILAR/IMPLANTE EM IMPLANTES TIPO CONE MORSE: UM
ESTUDO COMPARATIVO DE DOIS PILARES**

Dissertação apresentada ao Centro de Pós-Graduação / CPO São Leopoldo Mandic, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Implantodontia.

Orientador: Alexander D'Alvia Salvoni.

CAMPINAS

2008

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca "São Leopoldo Mandic"

D296a Deconto, Marco Antônio.
Análise microbiológica *in vitro* do selamento bacteriano na conexão pilar/implante em implantes tipo cone morse: um estudo comparativo de dois pilares / Marco Antônio Deconto. – Campinas: [s.n.], 2008.
53f.: il.

Orientador: Alexander D'Alvia Salvoni.
Dissertação (Mestrado em Implantodontia) – C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro de Pós-Graduação.

1. Análise microbiológica. 2. Estudo comparativo. 3. Implantes dentários. I. Salvoni, Alexander D'Alvia. II. C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro de Pós-Graduação. III. Título.

C.P.O. - CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS
SÃO LEOPOLDO MANDIC

Folha de Aprovação

A dissertação intitulada: “ANÁLISE MICROBIOLÓGICA *IN VITRO* DO SELAMENTO BACTERIANO NA CONEXÃO PILAR/IMPLANTE EM IMPLANTES TIPO CONE MORSE: ESTUDO COMPARATIVO DE DOIS PILARES” apresentada ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: _____ em ___/___/____, à comissão examinadora abaixo denominada, foi aprovada após liberação pelo orientador.

Prof. (a) Dr (a)
Orientador

Prof. (a) Dr (a)
1º Membro

Prof. (a) Dr (a)
2º Membro

DEDICATÓRIA

À minha esposa Zeine, pelo carinho e cumplicidade

Às minhas filhas Cecília e Elisa, pelo carinho e compreensão

A todos...

...presentes e ausentes, que auxiliaram em nosso trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Thomaz Wassall, coordenador do Mestrado em Implantodontia do Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic, pela orientação e tempo dedicado à nossa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Alexander D'Alvia Salvoni, meu orientador, pela dedicação e solicitude com que conduziu nosso trabalho.

Aos Professores Ayrton Arcazas Júnior, Gabriel José Schiavinato, Dr. José Gustavo Sproesser, Helio José Schiavinato, Luis Gonzaga Ferreira Júnior, Rafael Bertinotti Neves, Sandra de Carvalho Fabiano Alves e Teresinha Maria de Andrade, pela dedicação e amizade fraterna.

À Prof^a. Dr^a. Patrícia Ramos Cury, pela condução técnica na área de Microbiologia envolvida na nossa pesquisa.

À Karla Regulin, pelo imenso auxílio e dedicação com que conduziu toda a técnica laboratorial microbiológica do nosso trabalho.

À Ângela Martins, responsável pela análise estatística desta pesquisa.

À Antônia Schwinden, responsável pela análise gramatical e ortográfica desta dissertação.

À Márcia A. Leite Ribeiro, responsável pela editoração desta dissertação.

À NEODENT, na pessoa da Prof^a. Dr^a. Ivete A. de Mattias Sartori, pela disponibilização de todos os implantes e componentes utilizados na pesquisa.

“O senhor, cujo oráculo está em Delfos, não fala nem oculta: ele indica.”

Heráclito, 500 a.C

RESUMO

A utilização de implantes de duas peças implica na formação de um gap na união implante/pilar com acúmulo bacteriano e conseqüentemente possibilidade de perda óssea. A finalidade deste estudo foi avaliar comparativamente por meio de análise microbiológica *in vitro* a capacidade de selamento bacteriano de dois modelos de pilar em implantes cone morse. Foram utilizados 22 implantes de conexão cônica, Titamax® CM 3,75X13mm, 11 munhões universais CM 4,5X4X2,5mm e 11 munhões universais CM 4,5X4X2,5mm Parafuso Passante. O conjunto implante/munhões sólidos recebeu a designação de grupo S e o conjunto implante/munhões parafuso passante recebeu a designação de grupo P. A análise microbiológica foi realizada utilizando uma suspensão de *Escherichia coli* (ATCC) 25922 em uma concentração de 10⁸UFC/ml. Foram inoculados 0,3µl da suspensão na base da rosca interna de 10 conjuntos de cada modelo de munhão. Os munhões sólidos foram fechados com torque de 20N/cm e os parafusos passante com torque de 10N/cm. Os implantes foram imersos em 5ml de meio BHI (brain-heart infusion) e incubados a 37°C durante sete dias com verificação diária de presença de contaminação. O meio dos conjuntos que apresentaram crescimento foi diluído a 10⁻⁸ e plaqueado para que se procedesse à contagem de colônias. Os dados foram analisados através dos testes não-paramétricos “Mann-Whitney” e “Exato de Fisher”. O nível de significância (probabilidade de significância) adotado foi menor que 5% (p<0,05). Na comparação entre os grupos P e S em relação às unidades formadoras de colônias, de modo geral, não foi observada diferença significativa. Ao comparar apenas os casos em que houve crescimento, também não foi observada diferença significativa entre os grupos P e S. Concluiu-se que não existe diferença estatisticamente significativa entre os resultados da análise do selamento bacteriano *in vitro* dos dois modelos de pilar.

Palavras-chave: Análise microbiológica. Implantes dentários. Estudo comparativo.

ABSTRACT

The aim of this study was the comparative evaluation between two models of morse taper abutments, regarding their performance in an in vitro bacterial seal analysis. Twenty-two morse taper implants, Titamax® CM 3, 75 x 13mm, 11 CM Universal Post 4,5x2x2,5mm and 11 CM Universal Post Passing Bolt 4,5x4x2,5mm were used. The solid posts were designed as S group and the passing bolt ones as P group. The microbiological analysis was carried out using a 10⁸ concentrated Escherichia coli suspension (ATCC 25922). The implants were inoculated with 0,3µl of the suspension in its internal screw. The solid posts were closed with 20N/cm closure torque and the passing bolt posts with 10N/cm. The assembled specimens were aerobically incubated in 5ml of BHI (Brain-Heart Infusion) broth at 37°C for 7 days, with daily control for cloudiness. The broth where assembled units showed contamination was diluted at 10⁻⁸ and plated. After incubation the colonies were counted. The data obtained were evaluated by non parametric tests "Mann-Whitney" and "Fisher's Exact". Statistically significant differences were set at p < 0,05. The results showed no statistically significant difference between groups P and S with respect to number of colonies. When the total number of positive assembled units in each group was compared no significant difference was found either. We thus concluded that there was no statistically significant difference between the two models of abutment in an in vitro bacterial seal analysis.

Keywords: Microbiological analysis. Dental implants. Comparative study.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Implante com munhões e coping	28
Figura 2 - Munhão sólido	29
Figura 3 - Munhão parafuso passante	29
Figura 4 - Diagrama de munhão com parafuso passante	30
Figura 5 - Controle positivo do cimento resinoso	31
Figura 6 - Inserção perpendicular à base da rosca interna do implante	33
Figura 7 - Instalação do pilar.	33
Figura 8 - Fechamento com torquimetro manual (Neodent).	34
Figura 9 - <i>Swab</i> com cone de papel	35
Figura 10 - Coping cimentado ao conjunto implante/pilar	35
Figura 11 - Conjuntos imersos em meio BHI.	36
Figura 12 - Controle positivo (direita) e negativo (esquerda)	36
Tabela 1 - Crescimento bacteriano nos grupos em estudo	39
Gráfico 1 - Crescimento bacteriano nos grupos	39
Tabela 2 - Avaliação do crescimento bacteriano	40
Tabela 3 - Avaliação do crescimento bacteriano - geral	40

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

μl	- microlitro
μm	- micrômetro
ATCC	- <i>American Type Culture Collection</i>
BH I	- Brain-Heart Infusion (caldo cérebro-coração)
BHA	- Brain-Heart Agar (agar cérebro-coração)
N/cm	- Newton por centímetro
P	- Nível de significância
UFC	- Unidade Formadora de Colônia
UFC/ml	- Unidade Formadora de Colônia por mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Espaço biológico	13
2.2 Interface implante/pilar	16
3 PROPOSIÇÃO	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 Materiais	28
4.2 Análise microbiológica	32
4.3 Análise estatística	37
4.3.1 <i>Metodologia estatística</i>	37
5 RESULTADOS	38
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXO A - Controle de crescimento bacteriano e plaqueamento.	51
ANEXO B - Folha de aprovação do Comitê de Ética.	53

1 INTRODUÇÃO

A influência do biofilme bacteriano na perda óssea periodontal está amplamente comprovada desde trabalhos clássicos de Kronfeld (1935) e Waerhaug (1977).

Vacek et al. (1994) fizeram um estudo dimensional em cadáveres quantificando as medidas médias do espaço biológico periodontal, sendo 1,14mm no epitélio juncional e 0,77mm na inserção conjuntiva. Estas leituras confirmaram medidas feitas por Gargiulo et al. (1961), sendo que a medida média da base do sulco à crista óssea foi de 2,04mm, a medida média do epitélio juncional foi 0,97mm e a inserção conjuntiva, 1,07mm.

Na implantodontia encontram-se situações equivalentes às identificadas no modelo original das pesquisas envolvendo dente e periodonto (Berglundh et al., 1991), sendo a fisiologia e principalmente a patologia e terapêutica bastante semelhantes entre si.

Hermann et al. (2001) concluíram em um estudo em cães, avaliando as dimensões do espaço biológico em implantes, que os achados histológicos que mais se assemelhavam aos encontrados em dentes naturais foram os que utilizaram implantes não-submersos de peça única, em comparação a implantes não-submersos e submersos, ambos em duas peças.

A criação de um *microgap* em nível ósseo propicia uma permeabilidade microbiana com presença bacteriana persistente na região periimplantar. O estímulo

quimiotático originado do *microgap* promove um acúmulo constante de neutrófilos. Paralelamente, células mononucleares acumulam-se na superfície do implante. A ativação combinada e sustentada de células inflamatórias promove a formação osteoclástica que resulta em perda óssea alveolar, sendo a severidade da perda proporcional à proximidade do gap com a crista óssea. Esses resultados poderiam encorajar o clínico a colocar a plataforma do implante acima da crista óssea alveolar, com sérios riscos de comprometimento estético e diminuição de distância interoclusal ou a utilizar implantes de uma peça única para minimizar o potencial de inflamação e a possível perda óssea (Hermann et al., 2001; Brogini et al., 2003; Piatelli et al., 2003).

Nos implantes com conexão pilar/implante tipo cone morse, o acúmulo bacteriano pode ser reduzido ou mesmo inexistente, possibilitando resultados estéticos previsíveis mesmo quando do posicionamento infra-ósseo da plataforma do implante. Além disso, a conexão cone morse é idealizada para ser totalmente estável, com ausência de micromovimentos entre as partes durante a função, movimentos estes que, segundo Hermann et al. (2001b), também podem ser responsáveis pela perda óssea, quando utilizados implantes de dois estágios.

A importância do selamento bacteriano na conexão implante pilar propiciou o desenvolvimento de vários modelos de pesquisa. Os modelos de estudo baseados em testes microbiológicos *in vitro* utilizam referências da morfologia bacteriana na avaliação de tolerâncias mecânicas da união pilar/implante (Dibart et al., 2005). No presente estudo, buscou-se avaliar comparativamente a capacidade de selamento bacteriano *in vitro* de dois modelos de pilar com diferentes valores de torque de fechamento, em implantes com conexão tipo cone morse.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Espaço biológico

Kronfeld (1935 apud Oppermann et al., 2001) descreveu histopatologia da progressão da perda de inserção periodontal, afirmando haver a presença de uma faixa de tecido conjuntivo subjacente ao biofilme e um tecido ósseo apresentando um “baixo grau” de osteíte, sem, contudo, apresentar necrose óssea.

Gargiulo et al. (1961) relataram as medidas do que chamaram de “união dentogengival fisiológica”, tendo como valores médios para a união conjuntiva 1,07mm e 0,97mm para o epitélio juncional. Foram medidos a união conjuntiva, o epitélio juncional e a profundidade de sulco gengival. Apesar da grande variação destas medidas de dente para dente a dimensão média é um parâmetro utilizado como guia no restabelecimento de dimensões ideais de inserção.

Waerhaug (1977) avaliou a correlação entre progressão do crescimento do biofilme e perda de inserção concluindo que a velocidade da perda depende do efeito combinado da capacidade de invasão tecidual de certos microorganismos e deficiências dos mecanismos de defesa do hospedeiro frente aos mesmos microorganismos.

Em um estudo em pacientes parcialmente edêntulos, reabilitados por próteses fixas suportadas por uma combinação de dentes e implantes, Lekholm et al. (1986) encontraram semelhanças na distribuição morfológica das bactérias tanto de dentes como de implantes. A análise histológica dos tecidos periodontais e

perimplantares apresentava muito pouco infiltrado inflamatório.

Em uma comparação entre tecidos periodontais e perimplantares utilizando implantes usinados em cães como modelo de estudo, Berglundh et al. (1991) concluíram que como na gengiva a mucosa perimplantar estabelece uma barreira em forma de punho aderida à superfície do Titânio. Além disso, tanto a gengiva quanto a mucosa perimplantar possuíam um epitélio queratinizado oral contínuo ao epitélio juncional. Na mucosa perimplantar as fibras colágenas têm origem no osso alveolar com uma orientação paralela à superfície do implante.

Vacek et al. (1994) reforçaram em um estudo utilizando cadáveres, a consistência do estudo de Gargiulo (1961), tendo como medidas da inserção conjuntiva uma média de 0,77mm e no epitélio juncional uma média de 1,14mm.

Orsini et al. (2000) avaliaram as respostas teciduais causadas por penetração bacteriana na parte interna de dois implantes com pilar parafusado obtidos em autópsia. Foi observado um gap de 1 a 1,5 μm entre o implante e o cicatrizador. Tanto o gap como a parte interna do implante apresentavam bactérias. A análise histológica revelou a presença de infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo periimplantar.

Tarnow et al. (2000) avaliaram em um estudo radiográfico utilizando 36 indivíduos e somente implantes usinados, a perda óssea em áreas de dois implantes adjacentes. Ficou demonstrada a ocorrência de uma perda óssea lateral uma vez formado o espaço biológico. A importância clínica desse fato resulta da evidência de que o aumento da perda óssea leva a um aumento da distância entre o ponto de contacto das coroas adjacentes até a crista óssea. Isso determinaria a presença ou ausência de papila entre implantes adjacentes. Esse achado poderia indicar que a

utilização de implantes de menor diâmetro seria benéfica quando vários implantes fossem instalados em região estética.

Em um estudo utilizando cães, Hermann et al. (2001a) examinaram histologicamente as dimensões dos tecidos periimplantares em implantes de corpo único e implantes de duas peças colocados tanto pela técnica submersa como não-submersa. Os resultados sugerem que a margem gengival está em uma posição mais coronal e as dimensões do espaço biológico estão mais semelhantes a dentes naturais ao redor de implantes de uma peça não-submersos comparados a implantes de duas peças, tanto submersos como não-submersos.

Uma revisão de literatura feita por Quirynen et al. (2002), tratando dos riscos de infecção em implantes orais, apontaram como fatores principais de perda óssea a sobrecarga oclusal e a presença bacteriana. Concluíram que o risco de perda de osseointegração depende dos mecanismos de defesa do hospedeiro, da duração da infecção e da forma e características de superfície dos implantes. Afirmaram que implantes em pacientes parcialmente edêntulos estão mais suscetíveis à colonização por patógenos causadores de doença periodontal, quando comparados a implantes em pacientes totalmente edêntulos. Como medidas para prevenir esta troca bacteriana estão: a manutenção de saúde periodontal na dentição remanescente; evitar o aprofundamento de bolsas periimplantares e a utilização de superfícies lisas tanto no pilar como no implante.

Tarnow et al. (2003) avaliaram as alturas médias de tecido desde a crista óssea até a extremidade da papila entre dois implantes, utilizando medidas obtidas por sondagem periodontal sob anestesia em 136 papilas inter implantares de 33 indivíduos. Obteve-se uma medida de altura de mucosa de 3,4 mm com variação de

1 a 7 mm. A conclusão de interesse clínico dessa pesquisa foi que deve haver muita cautela no posicionamento de dois implantes em áreas estéticas. Outros desenhos de implante também podem estar indicados no auxílio da manutenção da crista óssea inter implantar.

2.2 Interface implante/pilar

Rangert et al. (1991) realizaram um estudo *in vitro* das variações mecânicas na união implante prótese em implantes Branemark. As simulações foram realizadas aplicando-se cargas de 25N/cm e 50N/cm em um braço de alavanca fixado sobre o pilar de um implante a distâncias de 8 e 16 mm do centro do implante. Por meio de cálculos, obtiveram-se resultados de deflexões de 25µm com cargas de 50N aplicadas no ponto de 16 mm da alavanca. Relataram ainda que na prática as cargas laterais causariam movimento de abertura da conexão.

Em um estudo para analisar a presença de microorganismos na rosca interna de implantes tipo Branemark, Quirynen & Steenberghe (1993) examinaram, por meio de microscopia, implantes após três meses de instalação em nove pacientes. Todos os implantes abrigavam uma quantidade significativa de microorganismos principalmente Cocos (86,2%), Bastonetes (12,3%). Organismos móveis (1,3%) e Espiroquetas (0,1%) tiveram registros esporádicos. Os autores concluíram que a origem mais provável dessa contaminação seja a permeabilidade bacteriana na interface implante/pilar.

Jensen et al. (1997) realizaram um estudo *in vitro* com 13 modelos de implantes (Ankylos®, Astra-Tech®, ITI®, Branemark®, Calcitek®, Frialit-2®, Ha-Ti®, IMZ® e Semados®). Cada um dos 13 modelos utilizou 10 conjuntos de implante/pilar.

Três dos 13 modelos eram de sistemas com conexão cônica (Ankylos®, Astra-Tech® e ITI®). A primeira parte do estudo consistiu na inoculação de 0,5µl de uma suspensão de *Escherichia coli* no ápice do parafuso do pilar com posterior montagem com torque especificado pelo fabricante e imersão por 14 dias no meio de cultura BHI (*brain-heart infusion*). O controle negativo de contaminação de superfície foi feito pela rolagem do conjunto sobre uma placa contendo o meio Agar - sangue 5%. Os conjuntos cujo controle apresentou crescimento foram excluídos do estudo. Todos os sistemas com exceção do Frialit-2 com anel de silicone apresentaram crescimento no primeiro dia de observação. Na maioria dos casos a contaminação foi observada nos dois primeiros dias. Na segunda parte do estudo foi feita a mensuração por meio de microscopia ótica de varredura do gap de um dos conjuntos de cada modelo, escolhido aleatoriamente. Em todos os conjuntos, o gap encontrado foi menor que 10µm.

Besimo et al. (1999) testaram a eficiência de um verniz com clorexidina a 1% no selamento da interface implante/pilar. Foram avaliados 30 conjuntos quanto à micro-infiltração tanto de dentro do implante para o meio externo como do meio externo para o interior do implante. Foi demonstrado que o verniz com clorexidina foi eficiente no selamento *in vitro* e sem carga funcional durante 11 semanas.

Além do tipo de conexão, o torque de fechamento é outro fator que pode influenciar no grau de selamento da interface implante/pilar. Em um estudo utilizando cinco sistemas de implantes: Spline (Sulzer Calcitek, Carlsbad, CA), ITI (Straumann, Waldenburg, Switzerland), Cera-One (Nobel Biocare), Steri Oss (Steri-Oss, Yorba Linda, CA) e 3i (Implant Innovations West Palm Beach, FL), foi avaliada a diferença de permeabilidade a um corante contido no interior do conjunto implante/pilar submetido a pressão constante de 2 ATM. Foram utilizados três conjuntos de cada

sistema para cada um dos torques de fechamento. Cada conjunto foi fechado com torques de 10N, 20N e torque preconizado pelo fabricante. Os conjuntos foram imersos em 4ml de água destilada e avaliados por meio de espectrofotometro em intervalos de 5, 20 e 50 minutos contados a partir da pressão inicial. Concluiu-se que existem diferenças significativas quanto à micropermeabilidade conforme a variação do torque de fechamento (Gross et al., 1999).

Além de equilíbrio oclusal e osseointegração estável, uma conexão segura e confiável é um importante fator para a obtenção de estabilidade em restaurações implanto-suportadas. Comparativamente as conexões de hexágono externo e cônicas utilizam princípios mecânicos funcionais diferentes. Em um estudo comparativo utilizando conexão de hexágono externo e cônica, ambos os modelos criados a partir de simulação em análise de elementos finitos, Merz et al. (2000) demonstraram a superioridade mecânica da conexão cônica quando submetida a cargas axiais e laterais de 15° e 30°. Esse resultado auxilia a explicação da melhor estabilidade das conexões cônicas em relação às de hexágono externo em aplicações clínicas.

Mangano & Bartolucci (2001) avaliaram durante dois anos o desempenho de 80 implantes tipo cone morse, instalados em 69 pacientes. A baixa incidência de complicações mecânicas e infecciosas foi atribuída à alta estabilidade da conexão cônica.

A influência da estabilidade mecânica na união implante/pilar na perda óssea perimplantar foi abordada por Hermann et al. (2001b). Foi utilizado um total de 60 implantes, instalados aleatoriamente em áreas edêntulas de cinco cães formando seis subgrupos diferentes, todos instalados com a interface implante/pilar a uma

distância de 1 mm da crista óssea e com a conexão dos pilares no mesmo tempo cirúrgico da instalação dos implantes. Os subgrupos designados A, B, C possuíam gap com as seguintes dimensões: $<10\mu\text{m}$, $\sim 50\mu\text{m}$ e $\sim 100\mu\text{m}$, respectivamente bem como os grupos D, E, F. A diferença entre os grupos consistia de soldagem a laser na interface implante/pilar dos conjuntos do subgrupo A, B, C, eliminando qualquer micromovimento entre os componentes. Os conjuntos implante/pilar do subgrupo D, E, F tiveram seus componentes montados por parafusos. Três meses após a instalação dos implantes todos os animais foram sacrificados. Amostras não-descalcificadas foram analisadas histomorfometricamente quanto a mudanças do nível ósseo. Como resultado, foi encontrada uma perda óssea significativamente maior no subgrupo D, E, F. Concluiu-se que mudanças em implantes de duas peças não-submersos são significativamente influenciadas por possíveis movimentos entre implante e pilar, não importando, porém o tamanho do gap.

Todescan et al. (2002) realizaram um estudo em cães avaliando a influência da distância da interface implante/pilar com a crista óssea na manutenção da altura óssea. Foram utilizados 24 implantes, posicionados três a três em cada lado da mandíbula. Os implantes foram divididos em grupos I, II e III. No grupo I a plataforma foi posicionada a aproximadamente 1 mm da crista óssea, no grupo II em nível da crista óssea e no grupo III 1 mm abaixo da crista. Após três meses foram instalados pilares *standard*, e após três meses da conexão dos pilares os animais foram sacrificados e amostras foram colhidas para exame histométrico. Os autores concluíram que a altura da mucosa e da inserção conjuntiva eram mais longas quanto mais infra-ósseos eram os implantes. Quando a interface implante/pilar foi posicionada mais apicalmente não houve perda óssea adicional. Concluíram ainda, que estudos adicionais serão necessários para verificar esses resultados em um

período maior e sob condições de carga funcional.

Cravinhos (2003) avaliou por meio de teste microbiológico *in vitro* a precisão da adaptação da interface implante/conector de três sistemas de implantes. Os implantes pertenciam aos sistemas: Colosso®, com 10 conjuntos, denominado grupo 01; Conect®, com 10 conjuntos, denominado grupo 02 e Globtek® com 10 conjuntos, denominado grupo 03. Os implantes foram inoculados com 0,1µl de uma suspensão de *Streptococcus sanguis* na sua superfície interna e fechados com torque de 30N/cm e incubados em tubos Eppendorf contendo meio BHI em condições ideais de temperatura e saturação de CO². Foram observados por 14 dias e controlados diariamente para verificar a presença de contaminação. Todos os sistemas apresentaram micro-infiltração bacteriana, não sendo observadas diferenças estatísticas significativas entre os sistemas.

Amaral (2003) avaliou *in vitro* cinco sistemas de implante: Conic®, Máster Porous®, Serson®, INP® e Implac®, quanto a contaminação bacteriana na interface implante/intermediário, correlacionando a contaminação com as dimensões de gap, obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura. Os conjuntos foram inoculados com 0,3µl de uma suspensão de *Streptococcus sanguis* e fechados com torque de 32N/cm. Os conjuntos foram incubados em tubos Eppendorf contendo meio BHI por 14 dias em condições ideais de cultura. Diariamente era realizada uma leitura para verificação de contaminação. Após os 14 dias os conjuntos foram analisados utilizando microscopia eletrônica de varredura para avaliar o tamanho dos espaços na interface implante/pilar. Como resultado foi demonstrado que todos os grupos apresentaram alto grau de infiltração bacteriana, com exceção do grupo 03 (Serson®), que apresentou um resultado significativamente menor em relação

aos demais grupos. As dimensões dos espaços na interface implante/conector não se correlacionaram significativamente com a contaminação bacteriana.

A influência do momento em que é feita a conexão do pilar em implantes de duas peças comparativamente aos de peça única foi abordada por Brogini et al. (2003). Foram utilizados vários modelos de implantes instalados na área mandibular edêntula de seis cães. Cada modelo de implante foi instalado em dois locais aleatoriamente, tanto do lado direito como do lado esquerdo da mandíbula. A conexão do pilar foi feita no momento da instalação dos implantes quando estes eram em duas peças e não submersos, e três meses após a instalação dos implantes nos implantes de duas peças submersos. Seis meses após a instalação dos implantes foram obtidas as amostras teciduais para análise histomorfométrica. O estudo revelou uma relação direta entre a presença do gap e o infiltrado inflamatório intenso com predominância de neutrófilos, associado à perda óssea, independente da técnica cirúrgica submersa ou não-submersa. Por outro lado um infiltrado inflamatório mínimo, com predominância de células mononucleares, com pouca perda óssea, foi observado em implantes com peça única.

Piatelli et al. (2003) realizaram um estudo histológico retrospectivo baseado em dados de três trabalhos prévios em macacos, avaliando a resposta óssea a implantes inseridos de 1 a 2 mm acima da crista óssea (grupo 01 – 15 implantes), inseridos em nível da crista óssea (grupo 2-12 implantes) e implantes inseridos de 1 a 1,5mm abaixo da crista óssea alveolar (grupo 3-13 implantes). Os implantes receberam ou carga imediata ou carga precoce podendo ter sido instalados imediatamente após a extração. No grupo 1 foi observado um aumento ósseo de $0,13 \pm 0,12$ mm em direção coronal. No grupo 2, verificou-se uma perda óssea de

2,1±0,29mm. No grupo 03 uma média de 3,6±0,46 de perda óssea foi observada. Relataram que os resultados confirmam estudos previamente publicados por Hermann et al. (2000), que concluíram que se o gap for posicionado abaixo da crista óssea ocorrerá uma maior perda óssea.

Dibart et al. (2005) avaliaram *in vitro* o selamento bacteriano de implantes com conexão cônica (Bicon®). No primeiro grupo, com 10 implantes, avaliou a capacidade de selamento analisando através de microscopia o interior dos implantes que foram imersos em uma suspensão bacteriana (*Actinobacillus actinomicetencomitans*, *Streptococcus oralis* e *Fusobacterium nucleatum*) em meio BHI (*brain-heart infusion*). Os implantes foram incubados por 24h em câmara anaeróbica a 37°C. Os conjuntos implante/pilar foram então removidos do meio, lavados duas vezes em solução estéril salina fosfato tamponada e fixados com formalina 4%. Após a separação do conjunto implante/pilar, o interior do implante foi avaliado com microscopia eletrônica de varredura. O segundo grupo avaliou a capacidade de selamento do implante verificando a capacidade das bactérias contidas no interior do implante contaminarem o meio externo. Foram utilizados cinco conjuntos de pilar/implante. Quatro conjuntos foram inoculados com 0,1µl de um gel produzido a partir de 100µl da suspensão bacteriana utilizada no grupo 01 com Agar a 4%. Três implantes receberam a conexão do pilar. O quarto implante foi imerso e incubado sem o pilar servindo como controle positivo. Outro conjunto foi incubado sem contaminante servindo como controle negativo. Os conjuntos implante/pilar foram imersos individualmente em cinco tubos de ensaio contendo 10ml de meio BHI e incubados em ambiente anaeróbico por 72 horas. No fim de 24 horas, 20 µl do meio de cada tubo foi plaqueado e incubado também em meio anaeróbico por cinco dias. O mesmo procedimento foi repetido em 49 e 72 horas. Os resultados do primeiro grupo

acusaram ausência de microorganismos no interior dos implantes. No segundo grupo, somente os conjuntos de controle positivo mostraram crescimento bacteriano.

Utilizando um simulador de cargas mastigatórias, Steinebrunner et al. (2005) avaliaram e compararam *in vitro* a permeabilidade bacteriana na interface implante/pilar de cinco sistemas de implante: Branemark®(NobelBiocare), Frialit-2/Hermetics®(Dentsply), ReplaceSelect®(NobelBiocare), Camlog®(Altatec, Wurmberg, Alemanha) e Screw-Vent® (Zimmer Dental, Carlsbad). Foram utilizados oito conjuntos de cada sistema. Cada implante foi inoculado com 5µl de uma suspensão de *Escherichia coli* na concentração de $1,5 \times 10^9$ UFC/ml. Os implantes foram fechados conforme o protocolo de cada fabricante e instalados no simulador de mastigação imersos em caldo trípico de soja e submetidos a 1.200.000 ciclos de 120N de carga. Em intervalos regulares de quantidades de ciclos mastigatórios 0,5ml da solução que circunda o implante foi plaqueado até acusar contaminação com *Escherichia coli*. Assim que ocorria a contaminação, o número de ciclos era anotado. Todos os implantes apresentam permeabilidade bacteriana na interface pilar/implante. Todos os conjuntos apresentaram contaminação. O número de ciclos de carga até ocorrer a contaminação bacteriana variou significativamente entre os sistemas de implante e entre seus modelos específicos de conexão. A média de ciclos de mastigação até a detecção da *Escherichia coli* na solução circundante foi 1.728.000 para o sistema Branemark, 43.200 para o sistema Frialit-2/Hermetics, 64.800 para o sistema Replace-Select, 345.600 para o sistema Camlog e 24.300 para o sistema Screw-Vent.

Cury et al. (2006) avaliaram em um estudo *in vitro*, a micro-infiltração bacteriana em implantes Frialit-2® (Friadent, Alemanha), e três intermediários

protéticos. Foram utilizados 30 conjuntos de pilar e intermediário. Cada um dos três grupos utilizou 10 implantes. O grupo 01 utilizou o pilar intermediário Frialit 2, o grupo 02 utilizou o intermediário SIN e o grupo 03 utilizou o intermediário Impladen. Os implantes foram imersos em meio BHI (brain-heart infusion), inoculado com *Escherichia coli* na concentração de 10^8 e incubados a 37°C por 48 horas. Os implantes foram removidos do meio após dois dias de imersão, lavados com soro fisiológico e secados com gaze estéril. Após a separação dos implantes, a parte interna do implante foi preenchida com 5µl de solução salina estéril. Aguardados 10 segundos, o líquido foi absorvido por cones de papel endodôntico por 10 segundos. Os cones foram colocados em tubos contendo 1ml de solução salina estéril e centrifugados por 30 segundos. As amostras foram diluídas 100 vezes e plaqueadas em meio de cultura BHA (*brain-heart agar*). Após período de incubação foi feita a contagem de unidades formadoras de colônia. A análise estatística com o teste Anova utilizando nível de significância de 0,05% não apontou diferença estatisticamente significativa entre os grupos 01,02 e 03.

Coppedê (2007) avaliou *in vitro* por meio de um simulador de cargas mastigatórias, as alterações no torque de remoção do pilar de conjuntos implante/pilar submetido a ciclos sucessivos de montagem, simulação de carga mastigatória e desmontagem. Foram utilizados 68 implantes Alvin CM 4.3x13 e dois tipos de pilares: Munhão Universal CM e Munhão Universal CM Parafuso Passante (Neodent). Foram formados quatro grupos com 17 conjuntos cada, sendo que os grupos 1 e 3 receberam os pilares sólidos e os grupos 2 e 4 receberam os pilares com parafuso passante. Os grupos 1 e 2 foram utilizados como grupo controle. Nesses grupos, os pilares foram instalados com torque de instalação recomendado que foi de 20N para os pilares sólidos e 10N nos de parafuso passante. Os torques de instalação foram

medidos por um torquímetro digital com precisão decimal. Após 5 minutos, os pilares foram removidos e os torques de remoção foram medidos. Foram realizados 10 ciclos de inserção/remoção para cada conjunto implante/pilar. Os grupos 3 e 4, utilizados como grupos teste, recebiam por meio de um simulador uma carga intermitente de 553 gramas, aplicada com inclinação de 30° perfazendo um total de 1325 ciclos, o que corresponderia a quatro dias de função normal. Após cada ciclo os pilares eram removidos e os torques de remoção eram medidos. Foram realizados 10 ciclos de montagem/carga/desmontagem para cada conjunto de implante/pilar. Concluiu-se que o torque de remoção dos pilares submetidos à carga era significativamente maior que os pilares correspondentes no grupo controle. Entre os dois tipos de pilares carregados mecanicamente, o que apresentou os melhores resultados foi o pilar com parafuso passante, que apresentou um torque de remoção maior que o de instalação.

Dias (2007) realizou a análise *in vitro* da adaptação implante/pilar de seis sistemas de implante utilizando microscopia eletrônica de varredura na medição das interfaces e por meio de teste microbiológico avaliando a permeabilidade bacteriana das mesmas interfaces. Inicialmente foram examinadas cinco amostras de cada modelo: Neodent Titamax, Neodent Cone Morse, Titanium Fix, Conexão, SIN e Dentoflex, avaliando as medidas obtidas em 12 pontos na interface implante/pilar utilizando microscopia eletrônica de varredura com aumentos de até 20.000 vezes. O teste microbiológico consistiu na inoculação de 0,5µl de uma suspensão de *Escherichia coli* na porção oca interna de oito implantes que receberam seu pilar correspondente e torque de fechamento recomendado pelo fabricante. Os conjuntos foram incubados em meio de cultura para enterobactérias a 37°C durante 14 dias, com verificações da presença de contaminação realizadas com 24h, 48h e no 5º, 7º e 14º dias a partir da data de inoculação. Concluiu-se que os conjuntos que

apresentaram maior media de desadaptação foram: em primeiro lugar, o Neodent Cone Morse, seguido pelos grupos SIN, Conexão, Dentoflex, Neodent Titamax e Titanium Fix. Todos os grupos apresentaram infiltração bacteriana, sendo que o grupo que apresentou o maior valor percentual de contaminação foi o grupo Neodent Cone Morse, com 100% das amostras contaminadas, seguido pelo grupo Dentoflex, com 87,5%, Conexão e Titanium Fix, ambos com 62,5%, e SIN e Neodent Titamax, ambos com 12,5%.

Lin et al. (2008) avaliaram por meio de análise de elementos finitos, as respostas biomecânicas de restaurações suportadas por implantes unitários, utilizando como parâmetros variáveis: o sistema de implante, a posição do implante na crista óssea, o tipo de osso e as condições de carga. Utilizando imagens tomográficas de um segundo pré-molar superior restaurado com uma coroa, montou-se em três dimensões a estrutura em malha para a análise de elementos finitos. Foram feitos três modelos para cada implante (Frialit-2® e Straumann®) num total de seis modelos. Foram arbitradas três posições do implante no sentido buco-lingual da crista, sendo que na terceira posição o implante era inclinado em 20° em relação ao plano frontal. As simulações receberam ainda variantes de densidade óssea segundo a classificação de Lekholm e Zarb. Os modelos receberam cargas de 150N axiais e laterais aplicadas na cúspide lingual com uma inclinação de 45°. Os autores concluíram que: a) implantes posicionados axialmente à carga promovem uma melhor dissipação de forças; b) métodos de compactação óssea durante a instalação podem melhorar a estabilidade inicial dos implantes; c) o modelo gerado a partir do implante Straumann pode ter um melhor mecanismo de transmissão de força e pode diminuir o risco de fratura do parafuso e perda do pilar; d) esquemas oclusais com redução de forças laterais são recomendados.

3 PROPOSIÇÃO

O propósito deste trabalho foi o de investigar por meio de análise microbiológica *in vitro*:

- a) a capacidade de selamento bacteriano *in vitro* do Munhão Universal CM (Neodent Implante Osteointegrável, Curitiba, Brasil);
- b) a capacidade de selamento bacteriano *in vitro* do Munhão Universal CM Parafuso Passante (Neodent Implante Osteointegrável, Curitiba, Brasil);
- c) comparar os dados obtidos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Na análise comparativa do selamento bacteriano *in vitro* na interface implante/pilar, foram utilizados 22 implantes de conexão cônica, Titamax CM 3,75X13 mm, 11 munhões universais CM 4,5X4X2,5 mm e 11 munhões universais CM 4,5X4X2,5 mm Parafuso Passante, todos estéreis a partir de suas embalagens comerciais. Foram fundidos 21 *copings* a partir de Cilindros Munhão Universal Calcinável 4,5X4mm que foram posteriormente embalados em papel grau cirúrgico e esterilizados em autoclave. Todos os implantes e componentes utilizados foram do mesmo fabricante (Neodent Implante Osteointegrável, Curitiba/Brasil).

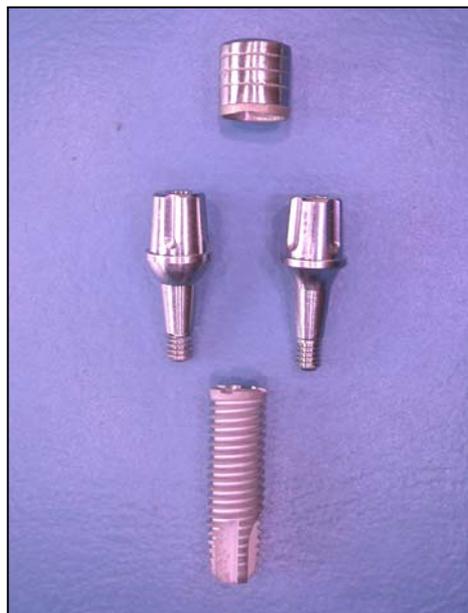


Figura 1 - Implante com munhões e coping.



Figura 2 - Munhão sólido.



Figura 3 - Munhão parafuso passante.

Foram formados dois grupos com 10 conjuntos de implante/pilar. O grupo que utilizou munhões sólidos foi denominado “**S**” tendo cada conjunto pilar/implante recebido a designação de S1 até S10, e o grupo que utilizou munhões com parafuso passante foi denominado “**P**”, formado pelos conjuntos P1 até P10. Além do grupo

de 10 conjuntos implante/pilar houve dois conjuntos utilizados um como controle negativo de cultura e outro como controle positivo.

O que distingue os dois modelos de pilares testados está no fato de o pilar ser em peça única (sólido) ou duas peças (parafuso passante). Essa característica do pilar tipo parafuso passante criou a necessidade de utilização de um *coping* cimentado que selasse a passagem de fluidos pelo orifício do parafuso, avaliando desta maneira somente a interface implante/pilar quanto ao selamento bacteriano. O mesmo *coping* foi utilizado nos conjuntos implante/munhão sólido apenas como padronização de método, na possibilidade de haver alguma interferência do cimento no crescimento bacteriano. O cimento utilizado, que foi do tipo resinoso (Enforce, Dentsply), passou por ensaios tanto de cultura negativa como positiva, não tendo sido notada interferência no crescimento bacteriano.

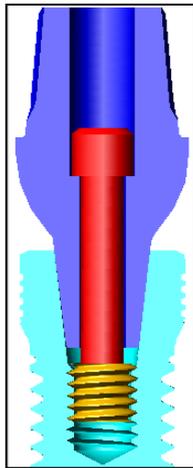


Figura 4 - Diagrama de munhão com parafuso passante.

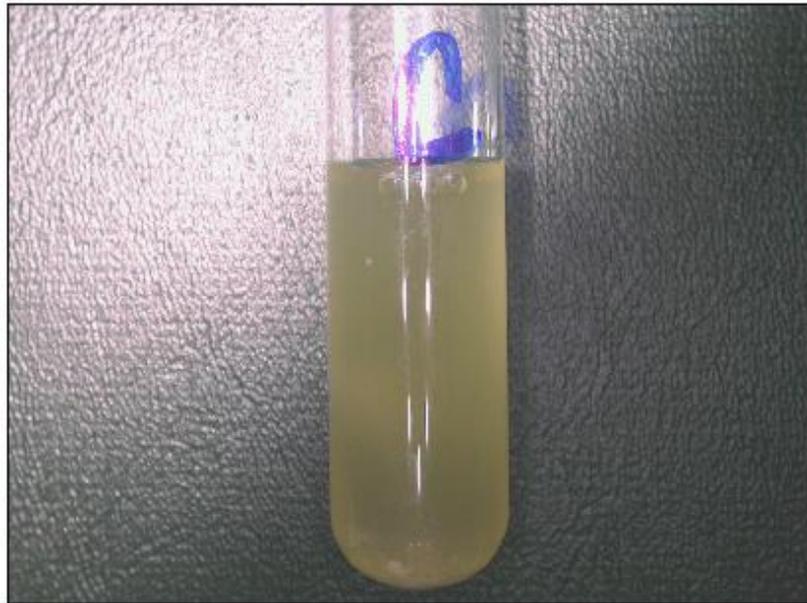


Figura 5 - Controle positivo do cimento resinoso.

Previamente à pesquisa foram realizados dois ensaios-piloto utilizando quatro conjuntos pilar/implante em cada ensaio. Foram avaliados e posteriormente especificados os seguintes critérios:

- a) quantidade da suspensão a ser inoculada no implante;
- b) tamanho das ponteiros de micropipeta utilizadas;
- c) maneira de como seria feita a inserção das ponteiros no implante para que não ocorresse contaminação em paredes laterais;
- d) altura da coluna líquida do recipiente que continha a suspensão bacteriana, evitando excesso de imersão da ponteira e conseqüente possibilidade de contaminação lateral;
- e) material a ser utilizado para o *swab*;
- f) mecanismo de fixação do implante durante os procedimentos de

inoculação, montagem dos componentes e aplicação de torque de fechamento;

g) diluição ideal da suspensão dos conjuntos que apresentassem crescimento bacteriano, a ser utilizada durante o procedimento de plaqueamento para contagem de colônias.

4.2 Análise microbiológica

Todo procedimento de transferência da suspensão bacteriana e montagem dos componentes foi executado em condições estéreis sob fluxo laminar de ar (Filtracom, Brasil).

Foi utilizada uma suspensão de *Escherichia coli* (ATCC) 25922 em uma concentração de 10^8 UFC/mL. A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa, móvel e anaeróbica facultativa medindo de 1 a $1,5\mu\text{m}$ de diâmetro e de 2 a $6\mu\text{m}$ de comprimento. É um microorganismo amplamente usado em estudos *in vitro*, especialmente com propósitos de esterilização, desinfecção e contaminação. Além disso, é uma bactéria de fácil manipulação em laboratório e possui um período curto de reprodução de 20 minutos (Jensen et al., 1997). Utilizando um alicate de pressão estéril, os conjuntos foram fixados utilizando região mais apical do implante, evitando a possibilidade de deformação da conexão e conseqüente desadaptação. A suspensão foi contida em uma placa de Petri, de modo a evitar uma altura de coluna líquida que pudesse contaminar a lateral das ponteiras. Os implantes receberam $0,3\mu\text{l}$ da suspensão na base da rosca interna por meio de micropipetas (Labmate) utilizando ponteiras de $0,1$ a $10\mu\text{l}$, uma para cada conjunto pilar/implante, de modo

que a ponteira fosse inserida perpendicularmente à base do implante.



Figura 6 - Inserção perpendicular à base da rosca interna do implante.



Figura 7 - Instalação do pilar.

A recomendação de torque de fechamento difere nos dois pilares testados sendo de 20N/cm nos munhões sólidos e 10N/cm nos de parafuso passante.



Figura 8 - Fechamento com torquimetro manual (Neodent).

Posteriormente à aplicação do torque especificado, cada conjunto recebeu a cimentação de um *coping*, com exceção de um conjunto com pilar parafuso passante que foi incubado sem *coping* servindo como controle positivo. Cada conjunto foi então imerso em 5ml de caldo BHI (Acumedia) e incubado a 37°C. Antes de ser imerso, cada conjunto foi submetido à passagem de um swab com cones de papel absorvente no corpo do implante, na região de interface implante/pilar. Posteriormente este swab foi imerso em 5ml de caldo BHI e incubado nas mesmas condições dos conjuntos, servindo como controle negativo de contaminação externa. Era excluído do estudo o conjunto cujo swab correspondente apresentasse crescimento bacteriano.

Os conjuntos foram examinados diariamente durante sete dias quanto à presença de turvação do meio.

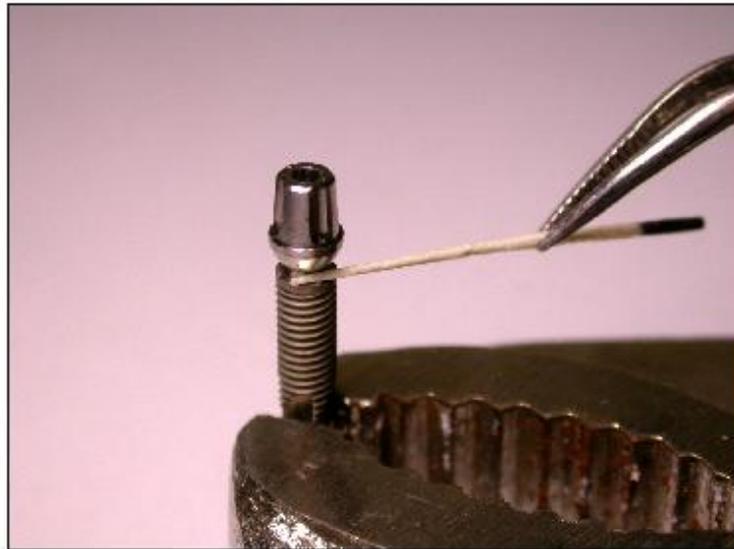


Figura 9 - Swab com cone de papel.



Figura 10 - Coping cimentado ao conjunto implante/pilar.



Figura 11 - Conjuntos imersos em meio BHI.



Figura 12 - Controle positivo (direita) e negativo (esquerda).

4.3 Análise estatística

4.3.1 Metodologia estatística

Recorreu-se à análise descritiva dos dados por meio de tabelas e gráfico. Para a comprovação do objetivo deste trabalho foram utilizados os testes não-paramétricos “Mann-Whitney” (pelo software “*Primer of Biostatistics*”¹) e “Exato de Fisher” (pelo “*Epi-Info*”²). O nível de significância (probabilidade de significância) adotado foi menor que 5% ($p < 0,05$).

¹ Stanton A. Glantz. *Primer of Biostatistics* (Version 4.0). 4 ed. New York: McGraw Hill; 1997. 473 p.

² Centers for Disease Control & Prevention (CDC). *Epi-Info* 2000. USA: World Health Organization; 2000. A Word Processing, *Epi-Info* (version 3.4.3). Geneva: Database and Statistics Program for Public Health; 2007.

5 RESULTADOS

Após 24 horas de incubação foi notado turvamento nos tubos P2, P5 e P10 no grupo **P**. No grupo **S** apresentaram turvamento os tubos S3, S4, S7 e S10. Posteriormente durante os seis dias seguintes, nenhum tubo apresentou crescimento bacteriano. Nenhum dos tubos controle contendo os *swabs* apresentou crescimento durante os sete dias de observação.

De cada conjunto que apresentou crescimento foi tomado 1ml da suspensão que foi posteriormente diluído a 10^{-8} . Foram utilizados 0,1mL da suspensão diluída para se proceder ao plaqueamento em meio BHA (*brain-heart agar*). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas e após esse período foi feita a contagem de colônias por um único observador.

Nenhum dos tubos controle contendo os *swabs* apresentou crescimento durante o período de observação.

A tabela 1 apresenta as amostras viáveis quanto ao crescimento bacteriano nos grupos estudados com valores expressos em percentuais.

O grupo **P** apresentou crescimento bacteriano em 30% das 10 amostras analisadas.

O grupo **S** apresentou no mesmo período de observação crescimento bacteriano em 40% das 10 amostras analisadas.

Os grupos **P** e **S** somados apresentaram crescimento em 35% das 20 amostras.

Tabela 1 - Crescimento bacteriano nos grupos em estudo.

Crescimento Bacteriano	Grupo P		Grupo S		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Não	07	70,0	06	60,0	13	65,0
Sim	03	30,0	04	40,0	07	35,0
Total	10	100,0	10	100,0	20	100,0

$p = 0,500$ (Exato de Fisher).

O gráfico 1 representa o comportamento do crescimento bacteriano no decorrer do período de observação. É possível verificar que o crescimento bacteriano ocorreu em três conjuntos no grupo **P** e em quatro conjuntos no grupo **S**, nas primeiras 24 horas. Posteriormente não foi verificado crescimento bacteriano em nenhum dos conjuntos.

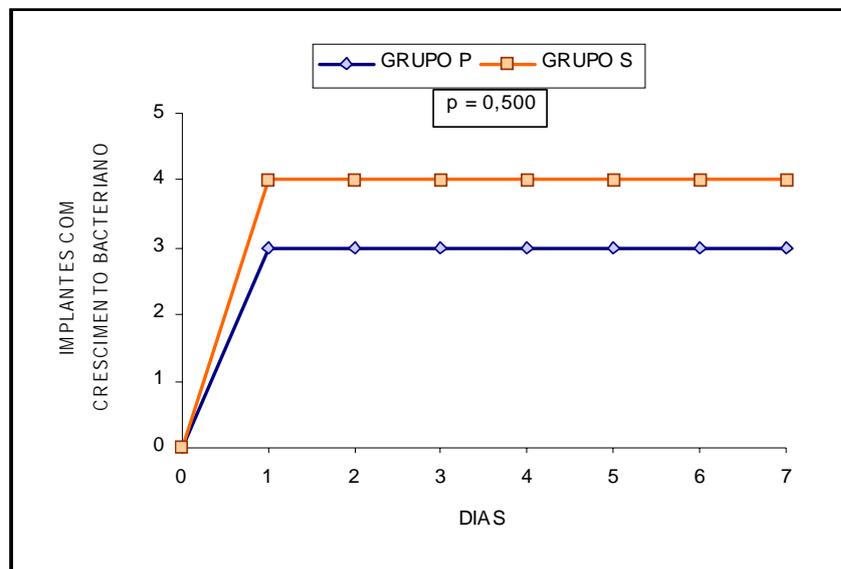


Gráfico 1 – Crescimento bacteriano nos grupos.

Após o plaqueamento dos conjuntos: **P2, P5, P10 e S3, S4, S7, S10** utilizando 1 ml do meio de cultura com diluições a 10^{-8} , o resultado quanto à contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) está demonstrado nas tabelas, 2 e 3.

Tabela 2 - Avaliação do crescimento bacteriano.

	UFC GRUPO P	UFC GRUPO S
	P2-12	S3-15
	P5-12	S4-14
	P10-19	S7 -5
		S10-16
Número	3	4
Média	14,3	12,5
Desvio		
Padrão	4,0	5,1
Mínimo	12,0	5,0
Máximo	19,0	16,0
Mediana	12,0	14,5

p = 0, 580 (Mann-Whitney).

Tabela 3 - Avaliação do crescimento bacteriano – geral.

Conjuntos	UFC Grupo P	UFC Grupo S
1	0	0
2	12	0
3	0	15
4	0	14
5	12	0
6	0	0
7	0	5
8	0	0
9	0	0
10	19	16
Número	10	10
Média	4,3	5,0
Desvio		
Padrão	7,2	7,1
Mínimo	0,0	0,0
Máximo	19,0	16,0
Mediana	0,0	0,0

p = 0, 695 (Mann-Whitney).

Na comparação entre os grupos **P** e **S** em relação às unidades formadoras de colônias, de modo geral, não foi observada diferença estatística significativa (tabela 3).

Ao comparar apenas os casos em que houve crescimento, também não foi observado diferença estatística significativa entre os grupos **P** e **S** (tabela 2).

6 DISCUSSÃO

A avaliação da capacidade de selamento bacteriano *in vitro* é uma das características que poderia de certa maneira traduzir a performance clínica do sistema de implante, sendo um dos fatores que pode ser levado em consideração na escolha de sistemas e componentes.

Foi demonstrado neste estudo que os pilares tanto sólidos (Munhão Universal CM) como com parafuso passante (Munhão Universal CM Parafuso Passante), apesar de possuírem diferenças substanciais quanto ao desenho e especificações de torque de fechamento, apresentam comportamento semelhante quanto à permeabilidade bacteriana.

Em uma análise para detectar a presença de microrganismos na rosca interna de implantes Branemark, Quirynen & Steenberghe. (1993) analisaram por meio de microscopia implantes após três meses de instalação, encontrando uma quantidade significativa de microrganismos principalmente cocos e bastonetes. Concluíram que a origem mais provável dessa contaminação seja a permeabilidade bacteriana na interface implante/pilar.

Quirynen et al. (2002), em uma revisão de literatura tratando dos riscos de infecção em implantes, relacionaram como principais fatores causadores de perda óssea perimplantar a sobrecarga oclusal e a presença bacteriana. Concluíram que o risco de perda de osteointegração depende dos mecanismos de defesa do hospedeiro, duração da infecção e da forma e característica da superfície dos implantes.

Jansen et al. (1997), em um trabalho *in vitro* utilizando implantes de conexão plana e cônica (Astra, Ankylos e ITI) e condições de cultura microbiológica semelhantes ao nosso trabalho, observaram crescimento bacteriano em todos os sistemas sendo que no sistema Frialit 2 com anel de silicone houve uma permeabilidade significativamente inferior aos demais sistemas. Nesse mesmo trabalho foi relatada a dificuldade de proceder à montagem dos implantes com conexão cônica Ankylos e Astra sem que houvesse contaminação externa. Esse fato era devido ao pouco espaço no interior do implante e a transição imediata da rosca interna para a interface cônica. Igualmente, no presente trabalho verificou-se inicialmente nos ensaios-piloto o mesmo problema, que foi resolvido com a redução do volume inoculado e a inserção perpendicular da ponteira da micropipeta. A necessidade da execução de um *swab* comprovando a não-contaminação no momento da montagem tornou-se evidente.

Além do tamanho da desadaptação, outro fator que merece atenção é a estabilidade da conexão. Hermann et al. (2001a) realizaram um estudo em que eram comparados grupos de implantes de duas peças colocados a 1 mm da crista óssea. Um dos grupos recebia solda a laser na interface implante/pilar impossibilitando a ocorrência de micromovimentos. Foi concluído que as mudanças na crista óssea foram significativamente influenciadas por possíveis micromovimentos entre pilar e implante, não importando, porém, o tamanho da desadaptação na interface pilar/implante.

Todescan et al. (2002) avaliaram a influencia da distância do *gap* à crista óssea e concluíram não haver perda óssea adicional quando o *gap* era posicionado mais apicalmente. Neste estudo os implantes não foram submetidos à carga

funcional.

A incidência de forças oclusais transversais funcionais sobre a prótese pode induzir flexão e (ou) micromovimentos entre implante e conexão, aumentando desta maneira o *gap* e induzindo a um efeito de bombeamento entre o interior do implante e os tecidos perimplantares subjacentes (Rangert et al., 1991; Steinebrunner et al., 2005).

A estabilidade das conexões cônicas em comparação às retas foi avaliada por Merz (2000) a partir de simulações em análise de elementos finitos. As conexões cônicas apresentaram uma superioridade mecânica tanto em cargas axiais como em cargas laterais de 15° e 30°.

A influência do torque de fechamento pode influenciar a permeabilidade na interface implante/pilar. Gross (1999) avaliou a permeabilidade de cinco sistemas de implante utilizando torques de 10N, 20N e torque preconizado pelo fabricante, concluindo existirem diferenças significativas quanto à micropermeabilidade proporcionalmente à variação do torque de fechamento. No presente estudo, contudo, não se demonstrou diferenças estatisticamente importante na permeabilidade bacteriana, levando em consideração a diferença de torque de fechamento dos dois componentes avaliados.

Dibart (2005), em um estudo de selamento bacteriano *in vitro* utilizando implantes tipo cone morse (Bicon®), obteve resultados de selamento bacteriano em 100% das amostras. O sistema não preconiza um torque específico de fechamento.

Coppedê (2007) avaliou pela simulação de cargas mastigatórias, as alterações do torque de remoção de munhões cone morse em conjuntos pilar/implante

submetidos a sucessivos ciclos de carga e desmontagem do pilar. As conexões utilizadas nesse trabalho são as mesmas que utilizamos em nosso estudo. Concluiu-se que o torque de remoção dos pilares submetidos a carga eram maiores que os pilares correspondentes do grupo controle. Entre os dois pilares avaliados o pilar que apresentou melhores resultados foi o Munhão Universal CM Parafuso Passante apresentando um torque de remoção maior que o torque de instalação. Coincidentemente, o presente estudo apontou um maior valor percentual de selamento bacteriano ao grupo **P** (Munhão Universal CM Parafuso Passante), que foi de 70%, comparativamente ao grupo **S** (Munhão Universal CM), que foi de 60%. Esse resultado, contudo, não traduz uma diferença estatisticamente significativa.

Dias (2007) realizou um estudo avaliando a adaptação de conexão implante/pilar de seis modelos de implantes utilizando microscopia eletrônica de varredura e análise microbiológica utilizando a *Escherichia coli*. Um dos modelos examinados (Titamax Cone Morse) possui a mesma conexão da qual trata o presente estudo. O resultado por ele obtido, quanto à permeabilidade bacteriana que foi de 100% nas oito amostras, diverge substancialmente dos resultados por nós obtidos, que foram de 30% das 10 amostras no caso dos munhões parafuso passante e 40% de 10 amostras nos munhões sólidos. Somando-se os dois grupos, o resultado percentual médio das 20 amostras quanto à permeabilidade bacteriana *in vitro* no nosso estudo foi de 35%.

Na revisão de literatura do presente estudo, alguns trabalhos se destacam, e por meio deles pode ser criada uma linha de raciocínio ainda não totalmente elucidada, mas que em nosso entender possui uma lógica significativa. Vários trabalhos associam perda óssea ao desenvolvimento do biofilme bacteriano,

tanto em periodonto como em região perimplantar na área de interface implante/pilar (Waerhaug, 1977; Hermann et al., 2001; Quirynen et al., 2002; Brogгинi et al., 2003; Piatelli et al., 2003). Os trabalhos de Hermann et al. (2001) e Todescan et al. (2002), contudo, afirmaram não haver correlação entre a proximidade do gap e a perda óssea perimplantar. No trabalho de Hermann houve uma estabilização rígida do pilar ao implante por meio de solda a laser e no estudo de Todescan os implantes não foram submetidos à carga funcional. Associando estes dois trabalhos aos trabalhos de Rangert et al. (1991); Besimo et al. (1999) e Steinebrunner et al. (2005), que afirmaram haver um mecanismo de bombeamento de fluidos entre os implantes e o meio externo quando submetidos a cargas funcionais, e aos trabalhos de Jensen et al. (1997); Dibart et al. (2005) e no presente trabalho, que avaliaram o selamento bacteriano em conexões cone morse, pode-se supor que o principal fator na manutenção do nível ósseo perimplantar é a estabilidade mecânica da conexão que evitaria o citado efeito de bombeamento e o conseqüente aumento na concentração de metabólitos bacterianos na região perimplantar. A rigidez da conexão não implica necessariamente selamento bacteriano, explicando de certa maneira o bom desempenho clínico dos implantes de conexão cônica no que diz respeito à manutenção de níveis ósseos, mesmo quando a interface é posicionada abaixo da crista óssea. Estudos histomorfométricos comparativos *in vivo* utilizando conexões rígidas, mas comprovadamente permeáveis a bactérias e fluidos, poderiam colaborar na elucidação da real importância do selamento bacteriano.

7 CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos neste estudo pode-se concluir que:

- a) a capacidade de selamento bacteriano *in vitro* do Munhão Universal CM em valores percentuais é de 60%;
- b) a capacidade de selamento bacteriano *in vitro* do Munhão Universal CM Parafuso Passante em valores percentuais é de 70%;
- c) não existe diferença estatística significativa quanto ao selamento bacteriano *in vitro* entre os dois pilares testados. A diferença de torque de fechamento não alterou a capacidade de selamento *in vitro* dos pilares testados.

REFERÊNCIAS³

Amaral JIQ. Análise in vitro da infiltração bacteriana e das desadaptações na interface implante/conector protético em cinco sistemas de implantes endósseos [tese]. Piracicaba: Universidade Estadual de Campinas; 2003.

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

Besimo CE, Guindy JS, Lewetag D, Meyer J. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999 Sept-Oct;14(5):654-60.

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

Cravinhos JCP. Análise in vitro da infiltração bacteriana na interface implante/conector protético em três sistemas de implantes endósseos [dissertação]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas; 2003.

Coppedê AR. Efeito de ciclos sucessivos de torque/carregamento mecânico em dois diferentes pilares protéticos do sistema cone morse: um estudo in vitro [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP; 2007.

Cury PR, Horewicz VV, Augusto AO, Joly JC, Laganá DC, Araújo NS. Avaliação in vitro da microinfiltração bacteriana na interface implante-intermediário. *Implant News.* 2006; 3(6): 613-7.

Dias ECLCM. Análise descritiva do grau de adaptação de pilares protéticos a implantes osseointegráveis e seu efeito na infiltração bacteriana: um estudo in vitro [dissertação]. Duque de Caxias: Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy"; 2007.

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

Gargiullo AW, Wentz FM, Orban B. Dimensions and relations of the dentogingival junction in humans. *J Periodontol.* 1961;32:261-7.

³ De acordo com o Manual de Normalização para Dissertações e Teses do Centro de Pós-Graduação CPO São Leopoldo Mandic, baseado no modelo Vancouver de 2007, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus.

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

Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol*. 2001 Oct;72(10):1372-83.

Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Schoolfield JD, Cochran DL. Biologic Width around one - and two-piece titanium implants. *Clin Oral Implants Res*. 2001 Dec;12(6):559-71.

Jansen VK, Conrads G, Richter EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997 July-Aug;12(4):527-40.

Lekholm U, Ericsson I, Adell R, Slots J. The condition of the soft tissues at tooth and fixture abutments supporting fixed bridges. A microbiological and histological study. *J Clin Periodontol*. 1986 July;13(6):558-62.

Lin CL, Wang JC, Ramp LC, Liu PR. Biomechanical response of implant systems placed in the maxillary posterior region under various conditions of angulation, bone density, and loading. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008 Jan-Feb;23(1):57-64.

Mangano C, Bartolucci EG. Single tooth replacement by morse taper connection implants: A retrospective study of 80 implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001 Sept-Oct;16(5):675-80.

Merz BR, Hunenbart S, Belser UC. Mechanics of the implant abutment connection: An 8-degree taper compared to a butt joint connection. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000 July-Aug;15(4):519-26.

Oppermann RV, Rösing CK. *Periodontia: ciência e clínica*. São Paulo: Artes Medicas; 2001.

Orsini G, Fanali S, Scarano A, Petrone G, di Silvestro S, Piattelli A. Tissue reactions, fluids and bacterial infiltration in implants retrieved at autopsy: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000 Mar-Apr;15(2):283-6.

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

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

Quirynen M, van Steenberghe D, De Soete M. Infectious risks for implants: a review of the literature. *Clin Oral Impl Res*. 2002 Feb;13(1):1-19.

Rangert B, Gunne J, Sullivan DY. Mechanical aspects of a Brånemark implant connected to a natural tooth: an in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1991;6(2):177-86.

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

Tarnow DP, Cho SC, Wallace SS. The effect of inter-implant distance on the height of inter-implant bone crest. *J Periodontol*. 2000 Apr;71(4):546-9.

Tarnow D, Elian N, Fletcher P, Froum S, Magner A, Cho SC, et al. Vertical distance from the crest of bone to the height of the interproximal papilla between adjacent implants. *J Periodontol*. 2003 Dec;74(12):1785-8.

Todescan FF, Pustiglioni FE, Imbronito AV, Albrektsson T, Gioso M. Influence of the microgap in the peri-implant hard and soft tissues: a histomorfometric study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002 July-Aug;17(4):467-72.

Vacek JS, Gher ME, Assad DA, Richardson AC, Giambarresi LI. The dimensions of the human dentogingival junction. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1994 Apr;14(2):154-65.

Waerhaug J. Subgingival plaque and loss of attachment in periodontosis as evaluated on extracted teeth. *J Periodontol*. 1977 Mar;48(3):125-30.

ANEXO A – Controle de crescimento bacteriano e plaqueamento.

Grupo P

	1º DIA	2ºDIA	3ºDIA	4ºDIA	5ºDIA	6ºDIA	7ºDIA
P1	-	-	-	-	-	-	-
P2	+	P+	+	+	+	+	+
P3	-	-	-	-	-	-	-
P4	-	-	-	-	-	-	-
P5	+	P+	+	+	+	+	+
P6	-	-	-	-	-	-	-
P7	-	-	-	-	-	-	-
P8	-	-	-	-	-	-	-
P9	-	-	-	-	-	-	-
P10	+	P+	+	+	+	+	+

P= plaqueamento

Controle (Swab) Grupo P

	1º DIA	2ºDIA	3ºDIA	4ºDIA	5ºDIA	6ºDIA	7ºDIA
P1	-	-	-	-	-	-	-
P2	-	-	-	-	-	-	-
P3	-	-	-	-	-	-	-
P4	-	-	-	-	-	-	-
P5	-	-	-	-	-	-	-
P6	-	-	-	-	-	-	-
P7	-	-	-	-	-	-	-
P8	-	-	-	-	-	-	-
P9	-	-	-	-	-	-	-
P10	-	-	-	-	-	-	-

Grupo S

	1º DIA	2ºDIA	3ºDIA	4ºDIA	5ºDIA	6ºDIA	7ºDIA
S1	-	-	-	-	-	-	-
S2	+	P+	+	+	+	+	+
S3	-	-	-	-	-	-	-
S4	-	-	-	-	-	-	-
S5	+	P+	+	+	+	+	+
S6	-	-	-	-	-	-	-
S7	-	-	-	-	-	-	-
S8	-	-	-	-	-	-	-
S9	-	-	-	-	-	-	-
S10	+	P+	+	+	+	+	+

P= plaqueamento

Controle (Swab) Grupo S

	1º DIA	2ºDIA	3ºDIA	4ºDIA	5ºDIA	6ºDIA	7ºDIA
S1	-	-	-	-	-	-	-
S2	-	-	-	-	-	-	-
S3	-	-	-	-	-	-	-
S4	-	-	-	-	-	-	-
S5	-	-	-	-	-	-	-
S6	-	-	-	-	-	-	-
S7	-	-	-	-	-	-	-
S8	-	-	-	-	-	-	-
S9	-	-	-	-	-	-	-
S10	-	-	-	-	-	-	-

Plaqueamento Grupo P

CONJUNTOS IMPLANTE/PILAR	UFC
P2	12
P5	12
P10	19

Plaqueamento Grupo S

CONJUNTOS IMPLANTE/PILAR	UFC
S3	15
S4	14
S7	05
S10	16

ANEXO B – Folha de aprovação do Comitê de Ética.



Dispensa de Submissão ao CEP

Campinas, 12 de Dezembro de 2006.

Ao

C. D. Marco Antonio Deconto

Curso: Mestrado em Implantodontia

Prezado (a) Aluno (a):

O projeto de sua autoria **“Análise microbiológica *in vitro* do selamento bacteriano na conexão pilar/implante em implantes tipo cone morse”**.

Orientado (a) pelo (a) Professor (a) Dr.(a) Alexander Salvoni.

Entregue na Secretaria de Pós-graduação do C.P.O. São Leopoldo Mandic, no dia 12/10/2006 com número de protocolo **nº06/319 NÃO SERÁ SUBMETIDO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**, instituído nesta Universidade de acordo com a resolução 196/1.996 do CNS – Ministério da Saúde, por tratar-se exclusivamente de pesquisa laboratorial, sem envolvimento de seres humanos ou animais.

Cordialmente

Prof. Dr. Thomaz Wassall
Coordenador de Pós-Graduação