

**Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”**

**UNIGRANRIO**

Pablo Torquillo Duarte

**AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA COLONIZAÇÃO PERI-IMPLANTAR POR  
BACTÉRIAS ORAIS E NÃO ORAIS EM IMPLANTES DENTÁRIOS RECÉM  
INSTALADOS**

**Duque de Caxias**

**2017**

Pablo Torquillo Duarte

Avaliação longitudinal da colonização peri-implantar por bactérias orais e não orais  
em implantes dentários recém instalados

Dissertação apresentada à Universidade  
do Grande Rio “Prof. José de Souza  
Herdy”, como parte dos requisitos parciais  
para obtenção do grau de mestre em  
Odontologia.

Área de Concentração: Periodontia

Orientadora: Carina Maciel da Silva  
Boghossian

**Duque de Caxias**

**2017**

CATALOGAÇÃO NA FONTE/ BIBLIOTECA – UNIGRANRIO

D812a Duarte, Pablo Torquillo

Avaliação longitudinal da colonização peri-implantar por bactérias orais e não orais em implantes dentários recém instalados / Pablo Torquillo Duarte. - Duque de Caxias, 2017.

52 f.: il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado em Odontologia/Periodontia) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciências da Saúde, 2017. “Orientadora: Carina Maciel da Silva Boghossian”.

Bibliografia: 43-50

Odontologia. 2. Periodontia. 3. Implantes dentários. 4. Sondas de DNAo. 5. microbiota oral - Análise. 6. Bactérias. I. Boghossian, Carina Maciel da Silva. II. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”. IV. Título.

CDD – 617.6

Pablo Torquillo Duarte

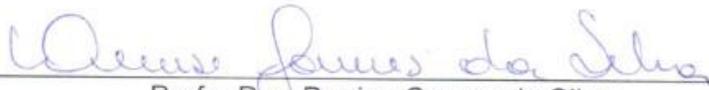
**AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA COLONIZAÇÃO PERI-IMPLANTAR POR  
BACTÉRIAS ORAIS E NÃO ORAIS EM IMPLANTES DENTÁRIOS RECÉM  
INSTALADOS**

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy" UNIGRANRIO para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração:  
Periodontia

Aprovada em 20 de fevereiro de 2017.

**Banca Examinadora**



Profa. Dra. Denise Gomes da Silva  
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio



Prof. Dr. Plínio Mendes Senna  
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio



Profa. Dra. Renata Martins do Souto  
UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dedico este trabalho a minha mãe, por todo o incentivo.

Meu pai, o mais generoso de todos os pais.

A minha avó Arlete por todo suporte para a realização desde sonho.

A minha avó Nélia, por todo o incentivo e orações.

Minha esposa, Camila, por estar ao meu lado em todos os momentos.

## Agradecimentos

Primeiramente a Deus.

Ao meus pais e todos os meus familiares pela dedicação e carinho.

A minhas avós por todo suporte, apoio e amor dedicado.

A minha amada esposa Camila pela compreensão, força, companheirismo e amizade.

Aos meus sogros Karla e Fernando pelo carinho e compreensão.

Aos professores do mestrado em periodontia da UNIGRANRIO, Prof<sup>o</sup> Dr. Marcio Falabela e Prof<sup>a</sup> Dra. Denise Gomes pela amizade e transmissão de conhecimento durante o mestrado.

A minha orientadora Professora Doutora Carina Maciel da Silva Boghossian, pela sua dedicação e valorosa ajuda em todas as fases desta dissertação.

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

Aos meus colegas da aeronáutica por compreenderem e incentivarem minha busca por mais conhecimento.

Laboratório das análises microbiológica da Universidade Federal do Rio de Janeiro

A FAPERJ pelo apoio financeiro

“ Ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua produção ou a sua construção. Quem ensina aprende ao ensinar, e quem aprende ensina ao aprender.”

Paulo Freire

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar as características da microbiota subgengival, incluindo bactérias orais e não orais, de indivíduos portadores de implantes dentários logo após sua instalação e ao longo de 6 meses. A população de estudo foi formada por indivíduos que receberam implantes dentários na Clínica de Pós-graduação em Odontologia da Unigranrio. Um total de 21 indivíduos foram incluídos no estudo e 16 concluíram a avaliação. Foram coletadas informações quanto ao gênero, idade e condição sistêmica. Amostras de biofilme subgengival foram coletadas dos sítios proximais dos implantes e dos dentes contralaterais ou dos antagonistas nos dias 7, 30, 90 e 180 após a instalação dos implantes. A determinação da prevalência e dos níveis de 70 espécies bacterianas da microbiota subgengival foi realizada através da técnica de “Checkerboard DNA-DNA hybridization”. Diferenças significativas foram testadas através dos testes de Wilcoxon e Mann-Whitney. Associações entre os parâmetros clínicos e microbiológicos foram testadas através do Coeficiente de Correlação de Spearman. Os dados obtidos aos 7 dias demonstraram que dentes comparados a implantes tinham significativamente maior prevalência e/ ou níveis das espécies *C. sputigena*, *E. corrodens*, *H. alvei*, *N. mucosa*, *Streptococcus spp. 1*, *S. noxia*, *T. socranskii* e *V. parvula* ( $p < 0,05$ ). No dia 30, amostras de dente apresentavam significativamente maior prevalência e/ ou níveis das espécies *C. sputigena*, *F. alocis*, *F. periodonticum*, *H. alvei*, *S. noxiae* e *V. parvula* ( $p < 0,05$ ). No dia 120, amostras de dente apresentavam significativamente maior prevalência e/ ou níveis das espécies *S. noxia*, *T. socranskii* e *V. parvula* ( $p < 0,05$ ). Análise de correlação demonstrou que as espécies *C. sputigena*, *E. corrodens*, *F. periodonticum*, *H. alvei*, *N. mucosa*, *Neisseria*, *S. enterica* ssp. *enterica* sorv. *Typhi*, *Streptococcus spp. 1*, *S. noxia*, *T. socranskii* e *V. parvula* estavam significativamente associadas negativamente com implantes ( $p < 0,05$ ). A microbiota da região peri-implantar é diversificada e semelhante à microbiota de dentes no mesmo indivíduo, com poucas espécies diferindo nos primeiros tempos e se igualando ao longo dos 6 meses de observação, tanto para espécies orais quanto para espécie não-orais.

**Palavras-chave:** implantes dentários, microbiota oral, bactérias, sondas de DNA.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the characteristics of the subgingival microbiota, including oral and non-oral bacteria, of individuals with dental implants recently installed and over 6 months. The study population consisted of individuals who received dental implants at the Postgraduate Clinic in Dentistry from UNIGRANRIO. A total of 21 individuals were included in the study and 16 completed the evaluation. Data were collected regarding gender, age and systemic condition. Subgingival biofilm samples were collected from the proximal sites of the implants and the contralateral teeth or the antagonists on days 7, 30, 90 and 180 after implant installation. The determination of the prevalence and levels of 70 bacterial species of the subgingival microbiota was performed using Checkerboard DNA-DNA hybridization technique. Significant differences were tested by Wilcoxon and Mann-Whitney tests. Associations between clinical and microbiological parameters were tested through Spearman Correlation Coefficient. Data obtained at day 7 showed that teeth compared to implants had significantly higher prevalence and/ or levels of the species *C. sputigena*, *E. corrodens*, *H. alvei*, *N. mucosa*, *Streptococcus spp. 1*, *S. noxia*, *T. socranskii* and *V. parvula* ( $p < 0.05$ ). On day 30, tooth samples showed significantly higher prevalence and/ or levels of species the *C. sputigena*, *F. alocis*, *F. periodonticum*, *H. alvei*, *S. noxia* and *V. parvula* ( $p < 0.05$ ). At day 120, tooth samples presented significantly higher prevalence and/ or levels of *S. noxia*, *T. socranskii* and *V. parvula* species ( $p < 0.05$ ). Correlation analysis showed that species *C. sputigena*, *E. corrodens*, *F. periodonticum*, *H. alvei*, *N. mucosa*, *Neisseria*, *S. entericasspentericasorvTyphi*, *Streptococcus spp. 1*, *S. noxia*, *T. socranskii* and *V. parvula* were significantly negatively associated with implants ( $p < 0.05$ ). The microbiota of the peri-implant region is diverse and similar to the microbiota of teeth in the same individual, with few species differing in the earliest times and equaling over the 6 months of observation, for both oral and non-oral species.

**Key words:** dental implants, oral microbiota, bacteria, DNA probes.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Aa	<i>Aggregatibacteractinomycetemcomitans</i>
° C	Graus Celsius/ Celsius degree
AAP	<i>American Academy of Periodontology/ Academia Americana de Periodontia</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
HIV	<i>vírus da imunodeficiência humana</i>
IgG	Imunoglobulina G
µL	Microlitro/ <i>microliter</i>
M	Molar
mM	Mimolar/ <i>millimolar</i>
mg	Miligrama/ <i>milligram</i>
mL	Mililitro/ <i>milliliter</i>
mm	Milimetro/ <i>millimeter</i>
NCI	Nível clínico de inserção
N	Newton
ng	Nanograma/ <i>nanogram</i>
%	Porcentagem
pH	Potencial hidrogeniônico
RNA	<i>Ribonucleicacid/Ácido ribonucleico</i>
SDS	<i>SodiumDodecylSulphate/ Lauryl Sulfato de Sódio</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SSC	<i>Saline SodiumCitrate/ citrato de salina sódica</i>
TE	Tampão tris-EDTA
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Frequência de detecção das espécies orais nas amostras de dentes e implantes ao longo do tempo. As espécies bacterianas estão organizadas de acordo com os complexos bacterianos descritos por Socransky et al. (1998). \* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; † diferença significativa entre os grupos aos 120 dias;  $p < 0,05$ , Teste de Mann-Whitney. ‡ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias; || Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste Wilcoxon. Pág. 34
- Figura 2. Frequência de detecção das espécies não-orais nas amostras de dentes e implantes ao longo do tempo. As espécies bacterianas estão organizadas de acordo com os complexos bacterianos descritos por Socransky et al. (1998). \* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; † diferença significativa entre os grupos aos 120 dias;  $p < 0,05$ , Teste de Mann-Whitney. ‡ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias; || Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste Wilcoxon. Pág. 35
- Figura 3. As espécies bacterianas estão organizadas de acordo com os complexos bacterianos descritos por Pág. 36

Socransky et al. (1998). \* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; † diferença significativa entre os grupos aos 120 dias;  $p < 0,05$ , Teste de Mann-Whitney. ‡ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias; || Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste Wilcoxon.. \* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 7 dias; † Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; ‡ Diferença significativa entre dentes e implantes aos 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste de Mann-Whitney.

Figura 4. Níveis das espécies de microrganismos não-orais estudados nas amostras de dentes e implantes. \* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 7 dias; † Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; ‡ Diferença significativa entre dentes e implantes aos 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste de Mann-Whitney. § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; || Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 30 e 120 dias; || Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 30 e 120 dias; Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste Wilcoxon. Pág. 37

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Relação das cepas orais empregadas na confecção das sondas de DNA. Pág. 28
- Tabela 2. Relação das cepas não orais empregadas na confecção das sondas de DNA. Pág. 29
- Tabela 3. Idade média dos participantes de acordo com o gênero Pág. 33
- Tabela 4. Análise de correlação entre implante e níveis dos microrganismos estudados. Pág 38

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.	OBJETIVO.....	22
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
5.	RESULTADOS.....	30
6.	DISCUSSÃO.....	39
7.	CONCLUSÃO.....	42
8.	REFERÊNCIASBIBLIOGRÁFICAS.....	43

## 1. INTRODUÇÃO

Os implantes dentários têm demonstrado resultados previsíveis na Odontologia, com índice de sucesso bastante representativo em longo prazo(Listgarten et al. 1991). No entanto, ao longo do tempo pode ocorrer o desenvolvimento de inflamação peri-implantar, especialmente em indivíduos susceptíveis. Esta inflamação é associada a uma patologia, que pode ser mucositeperi-implantar ou peri-implantite(AAP 2013). Estas patologias são caracterizadas pela resposta inflamatória dos tecidos peri-implantares como consequência do acúmulo de biofilme patogênico. Esta correlação entre o acúmulo de biofilme bacteriano patogênico e o estabelecimento de uma reação inflamatória inicialmente descrita por Løe et al. 1965(Buser et al. 1992) também é passível de ocorrer nos tecidos peri-implantares. A mucositeperi-implantar apresenta, clinicamente, inflamação reversível dos tecidos moles peri-implantares, sem ocasionar perda óssea (AAP 2013). Por outro lado, a peri-implantite implica na perda óssea peri-implantar(AAP 2013). Portanto, a peri-implantite inicia-se sob a forma de inflamação superficial na mucosa perimplantar, denominada mucositeperi-implantar. Caso permaneça sem tratamento, a patologia pode se tornar progressiva e irreversível, levando a uma perda óssea vertical e horizontal, comprometendo a longevidade dos implantes (Moon et al. 1999).

O fator etiológico primário da doença peri-implantar comum às doenças periodontais é a presença do biofilme subgengival patogênico (Socransky et al. 1994). Assim como no entorno dos dentes, a infecção microbiana ocorre em implantes, e sabe-se que esta colonização ocorre logo após a sua instalação, quando a microbiota subgengival é estabelecida. Logo, o conhecimento da microbiota periodontal é fundamental para o diagnóstico das doenças que envolvem o complexo Periodonto/Peri-implante.

Com relação ao tratamento com implantes dentários, as falhas podem ser divididas em: precoces, quando o processo de osseointegração não é completo; e tardias, quando um implante não se mantém osseointegrado(Adell et al. 1981; Marquez 2004). Lesões como peri-implantite, hiperplasia gengival, fístulas e perdas ósseas estão relacionadas ao acúmulo de biofilme bacteriano. Assim, as falhas tardias estão diretamente relacionadas ao biofilme bacteriano. Portanto, o biofilme

bacteriano assume uma importância ímpar na manutenção da homeostase peri-implantar (Bauman et al. 1993), na medida que se compreende seu papel frente aos tecidos peri-implantares. Há evidências de que sítios periodontais, principalmente os doentes, possam funcionar como fonte de infecção para o tecido peri-implantar (Apse et al. 1991; Jepsen et al. 1996). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as características da microbiota subgengival, incluindo bactérias orais e não orais, no espaço peri-implantar de implantes dentários recém-instalados e ao longo de 6 meses.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### TECIDO PERIODONTAL E PERI-IMPLANTAR

A mucosa mastigatória inclui a mucosa gengival e palatina, compostas por um epitélio escamoso estratificado ceratinizado e por tecido conjuntivo denso, a lâmina própria. A lâmina própria da gengiva está inserida diretamente no osso alveolar pelo periósteo. A mucosa alveolar adjacente é constituída por um tecido conjuntivo rico em fibras elásticas e coberta por um epitélio escamoso estratificado não queratinizado (Bauman et al. 1993; Listgarten et al. 1991). A mucosa ao redor de implantes dentários é composta pelo epitélio juncional com aproximadamente 2mm de comprimento, que é contínuo com tecido conjuntivo, que tem de 1 a 1,5 mm de altura. O conjuntivo é definido durante a cicatrização do tecido mole, após a instalação do implante. Este serve como uma barreira entre o meio ambiente oral e o osso peri-implantar. Enquanto a interface implante-epitélio tem muitas características em comum com a interface epitélio-dente, diferenças marcantes são encontradas entre a inserção de tecido conjuntivo do dente e a correspondente ao redor do implante (Bauman et al. 1993; Moon et al. 1999).

Em dentes, na região supra-alveolar, o cimento radicular apresenta fibras inseridas, as fibras de Sharpey, dispostas obliquamente. Essas fibras são compostas por 70% de colágeno, 20% de fibroblastos, 5% de vasos, 5% de matriz e outras substâncias. A superfície do implante não possui raiz cementária, portanto, as fibras colágenas da região supracrestal se inserem no osso peri-implantar e se posicionam de forma paralela ao longo eixo do pilar do implante (Buser et al. 1992; Lindhe and Berglundh 1998; Moon et al. 1999). Os implantes osseointegrados apresentam poucas barreiras funcionais e anatômicas se comparados aos dentes naturais. A adesão ocorre apenas por meio do epitélio juncional. A ausência de inserção de fibras faz com que o selamento se torne ainda mais importante e a manutenção e estabilização deste deve ser um dos objetivos da terapia implantar (Apse et al. 1989; Jepsen et al. 1996; Lindhe & Berglundh 1998).

A presença da mucosa ceratinizada parece ser importante na manutenção desse selamento (Adell et al. 1981). Portanto, há a necessidade de uma adequada faixa de mucosa ceratinizada ao redor de dentes e implantes dentários para a manutenção da saúde (Marquez 2004). Como mencionado acima, a inserção de

tecido conjuntivo é mediada por fibras de Sharpey inseridas no cimento, porém, essas fibras não podem se aderir ao titânio. Quando existe um tecido mucoso ao redor do implante, não há fibras de tecido conjuntivo organizado, isso faz com que o sítio peri-implantar seja mais suscetível ao ingresso de bactérias, com potencial risco de infecção e subsequente reabsorção óssea. Para tanto, a interface tecido mole/implante ideal pode ser estabelecido pela criação de uma adequada zona de mucosa ceratinizada, que se adere à superfície do implante por meio de hemidesmossomos do epitélio juncional e as fibras de tecido conjuntivo estabelecem uma orientação paralela em relação à superfície do implante (Bauman et al. 1993).

## **DOENÇAS PERIODONTAIS E PERI-IMPLANTARES**

Processos patológicos distintos têm sido diagnosticados nos tecidos que margeiam os implantes, são eles a mucositeperi-implantar e a peri-implantite(AAP 2013). Estudos mostram o biofilme bacteriano como fator etiológico primário destas doenças (Bauman et al. 1993; Esposito et al. 1999;Mombelli 2002; Renvert et al. 2007b; Rutar et al. 2001).

Com o aumento das indicações e conseqüentemente o número de indivíduos utilizando próteses sobre implantes, espera-se que a incidência destas complicações aumente consideravelmente nos próximos anos (Mombelli et al. 2012). Já se demonstra que indivíduos portadores de implantes dentários apresentam uma prevalência de musositeperi-implantar em torno de 80% (Zitzmann & Berglundh 2008). Enquanto, a prevalência de peri-implantite parece ser menor, podendo variar de 6,6% a 36,6%, dependendo do estudo (AAP 2013). Sendo assim, torna-se necessário um maior conhecimento a respeito destas doenças para que abordagens terapêuticas adequadas possam ser efetivadas em níveis individual e populacional.

Devido às semelhanças entre a gengiva e a mucosa peri-implantar, alguns parâmetros periodontais passaram a ser empregados nas avaliações dos tecidos periimplantares(AAP 2013). Informações quanto a presença de placa bacteriana, inflamação marginal dos tecidos, o aumento na profundidade de sondagem e a ocorrência de sangramento ou supuração à sondagem, associadas ao exame radiográfico, passaram a ser consideradas protocolo para diagnóstico e monitoração de implantes em função (AAP 2013). O diagnóstico precoce permite tratamento

menos invasivo, aumentando a chance de manutenção dos implantes(Mombelli 2002; Rutar et al. 2001).

Os sinais clínicos inflamatórios que ocorrem na mucosa peri-implantar são decorrentes das doenças peri-implantares, a mucosite peri-implantar e a peri-implantite. Após a instalação da prótese, os agentes etiológicos mais estudados e associados com estas respostas inflamatórias são os microrganismos patogênicos da cavidade bucal(Bauman et al. 1993; Esposito et al. 1999;Mombelli 2002; Rutar et al. 2001).

A mucosite peri-implantar é definida como uma inflamação dos tecidos marginais ao redor de implantes em função. Assim como a gengivite, a mucosite peri-implantar é uma doença que não causa sequelas aos tecidos após o tratamento (AAP 2013). Existe uma relação de causa e efeito entre o acúmulo de placa bacteriana ao redor de implantes e o desenvolvimento de inflamação no tecido peri-implantar(Mombelli 2002; Renvert et al. 2007b). Sendo assim, a mucosite seria um desequilíbrio entre as defesas imunitárias do hospedeiro e as agressões bacterianas e se apresentaria como uma inflamação moderada dos tecidos moles superficiais (Tonetti & Schmid 1994).

A peri-implantite é caracterizada como uma reação inflamatória nos tecidos ao redor de implantes osseointegrados em função, associada à perda óssea marginal (AAP 2013). Esta doença é um processo inflamatório mais avançado do que a mucosite peri-implantar, no qual a inflamação leva à destruição da interface implante-tecido ósseo (AAP 2013). No entanto, nem toda mucosite peri-implantar irá evoluir para um quadro de peri-implantite. Isto dependerá do grau de susceptibilidade à doença que o indivíduo possui (AAP 2013).

## **MICROBIOTA PERIODONTAL E PERI-IMPLANTAR**

Ao longo do tempo, inúmeras espécies de microrganismos orais associadas à saúde periodontal, bem como a diferentes tipos de doenças periodontais foram identificadas (Christersson et al. 1992; Dzink et al. 1988; Haffajee & Socransky 1994; Listgarten & Hellden 1978; Moore and Moore 1994; Socransky et al. 1988; Socransky & Haffajee 2005). Em 1998, Socransky et al. demonstraram a existência de complexos microbianos que predominam no biofilme subgengival de pacientes

com e sem doença periodontal (Socransky et al. 1998). No caso de doença, destaca-se o chamado “complexo vermelho”, que é constituído por três espécies bacterianas (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*). Este complexo é fortemente relacionado com bolsas periodontais profundas e sangramento à sondagem. Outro grupo a ser destacado é o “complexo laranja”, que inclui as espécies *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotellanigrescens*, *Parvimonas micra*, três espécies de *Campylobacter*, *Eubacterium nodatum* e *Streptococcus constellatus*. Os autores demonstraram que o estabelecimento do complexo laranja era necessário para a colonização por espécies do complexo vermelho. Enquanto espécies dentro dos complexos estão fortemente associadas, os complexos têm também relações específicas entre si. Isto indica, não somente relações específicas entre as espécies subgingivais, mas sugere também um possível modelo ou sequência de colonização. Uma única espécie que é considerada patógeno periodontal e que não agrega em complexo é o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa). Apesar de toda esta diversidade presente na microbiota subgingival, até momento, somente o Aa e a *P. gingivalis* são considerados patógenos periodontais clássicos (Holt and Ebersole 2005; Kinane et al. 1999; Slots and Ting 1999).

Análises de lesões peri-implantares através de cultura microbiológica demonstram que existem diferenças significantes entre lesões de peri-implante e implantes estáveis com relação a presença de bastonetes entéricos gram-negativos, *P. intermedia/nigrescens* e *P. gingivalis* (Botero et al. 2005). Por outro lado, estudos que utilizaram técnicas moleculares para avaliar a microbiota de peri-implantite demonstram que o perfil microbiano subgingival de lesões peri-implantares apresenta uma grande variabilidade (Persson et al. 2006; Quirynen et al. 2006; Renvert et al. 2007a; Renvert et al. 2007b; Salvi et al. 2008; Shibli et al. 2008). No espaço subgingival, os perfis microbianos demonstram que espécies benéficas estão em proporções menores em implantes doentes comparados com saudáveis (Shibli et al. 2008). Além disto, vários membros dos complexos vermelho e laranja estão presentes em níveis mais altos nas lesões de peri-implantite, incluindo as espécies *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *F. nucleatum* ss. *nucleatum*, *F. nucleatum* ss. *vicentii* e *P. intermedia* (Shibli et al. 2008). No entanto, evidências mostram que, em indivíduos dentados, não existem diferenças significativas entre os

perfis microbianos subgingivais de amostras de implantes e dentes. Isto pode sugerir que os nichos ecológicos em implantes e dentes podem ser similares e, assim, permitir o estabelecimento de uma microbiota semelhante (Renvert et al. 2007a). Assim, áreas com periodontite não tratadas em indivíduos que receberão implantes dentários podem atuar como potenciais reservatórios para infecção futura da região peri-implantar (Quirynen et al. 2002; Quirynen et al. 2006). Por outro lado, a inserção de novas superfícies pode representar novas oportunidades para a colonização bacteriana. Desta forma, a presença dessas novas superfícies de implante, que possuem propriedades físicas diferentes daquelas dos dentes, poderia proporcionar a seleção de bactérias específicas para esse *habitat*, podendo levar à formação de uma microbiota diferenciada (Quirynen et al. 2006; Renvert et al. 2007b).

### **3. OBJETIVO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar as características da microbiota subgengival, incluindo bactérias orais e não orais, no espaço peri-implantar de implantes dentários recém-instalados e ao longo de 6 meses.

Objetivos específicos:

- Determinar a composição microbiana inicial ao redor de implantes dentários e ao longo de 6 meses após a instalação.
- Comparar as microbiotas de dentes e implantes nos mesmos indivíduos.
- Determinar os perfis de bactérias orais e não orais ao redor de implantes e de dentes.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **População do estudo**

A população de estudo foi formada por indivíduos que receberam implantes dentários na Clínica de Pós-Graduação da Unigranrio. Os indivíduos que participarão do estudo assinarão um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, explicando a natureza do estudo. Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO, sob número 1.359.026.

### **Cálculo Amostral**

Baseado em um banco de dados de mais de 400 indivíduos em uma população avaliada ao longo de 8 anos, o cálculo do tamanho amostral para os dados microbiológicos foi realizado considerando uma diferença de  $1 \times 10^4 \pm 0,9 \times 10^4$  células bacterianas do complexo vermelho (*P. gingivalis*, *T. denticolae*, *T. forsythia*) entre indivíduos com saúde periodontal e periodontite crônica. Um número mínimo de 14 indivíduos foi estimado para cada grupo com um erro  $\alpha$  de 5% e um poder de 80% (Heller et al. 2011). Entretanto, o presente estudo é uma avaliação longitudinal e incluiu inicialmente 21 indivíduos, prevendo-se perdas ao longo do tempo.

### **Crítérios de inclusão**

Para participar do estudo, os indivíduos teriam que ser adultos (>18 anos) e ter pelo menos 1 dente para cada implante dentário instalado.

### **Crítérios de exclusão**

Indivíduos que apresentassem as seguintes condições não foram incluídos no estudo: doenças periodontais; doenças conhecidas do sistema imunológico (ex.: HIV-positivo); diabetes; gravidez ou amamentação; necessitar de quimioprofilaxia para o atendimento odontológico; ter feito uso de antimicrobianos nos seis meses anteriores ao estudo; ser fumante; ter recebido tratamento periodontal no último ano.

## **Dados anamnésicos**

Foram registrados em questionário anamnésico o gênero, a raça, o nível de escolaridade, a renda familiar, dados de saúde geral e odontológica.

## **Instalação dos implantes**

Após a instalação dos implantes, era colocado imediatamente o cicatrizador (SlimFit, Neodent<sup>®</sup>, Curitiba, PR, Brasil). Todos os implantes instalados foram do sistema Neodent<sup>®</sup>, desenho hexágono externo, com torques variando entre 35 e 60 N.

## **Coleta das amostras**

Amostras de biofilme dental foram coletadas nos tempos 7, 30, 120 e 180 dias após a instalação dos implantes. Sob isolamento relativo, o biofilme subgengival foi coletado dos implantes e do dente homólogo, quando presente, ou seu antagonista. Foram coletados 1 *pool* (amostras de todas as faces) por dente e 1 *pool* por implante dentário. Esta coleta foi realizada com curetas do tipo Gracey estéreis de titânio (Hu-Friedy). O biofilme obtido foi colocado em tubos tipo Eppendorf individuais, contendo 150 µL de tampão tris-EDTA (TE; 10 mM de Tris HCl, 1 mM de EDTA, pH 7,6). A estas amostras foram adicionados 150 µL de 0,5 M NaOH.

## **Determinação da microbiota subgengival com a técnica “Checkerboard DNA-DNA hybridization”**

O processamento microbiológico foi realizado no Laboratório de Microbiologia Oral do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

## **Preparo das membranas**

O método para identificação dos microrganismos no biofilme supra e subgengival foi realizado através da técnica descrita por Socransky e colaboradores (Socransky et al. 1994), com modificações (Colombo et al. 2005).

As suspensões de biofilme em TE com NaOH foram fervidas em banho-maria por 10 min e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de 5 M de acetato de amônia. Cada suspensão contendo DNA livre foi depositada nas fendas do “Minislot30” (Immunetics, Cambridge, MA, EUA) e o DNA concentrado em uma membrana de *nylon* (15 X15 cm), carregada positivamente (GE Healthcare Life Sciences, São Paulo, SP, Brasil). A membrana foi removida do aparato e o DNA depositado na membrana foi fixado através da exposição à temperatura de 120°C por 20 min em forno (Fanem Ltda., São Paulo, SP, Brasil). As duas últimas canaletas do “Minislot” foram reservadas para a colocação dos controles, contendo uma mistura das espécies de microrganismos investigados pelas sondas de DNA, em duas concentrações,  $10^5$  e  $10^6$  células bacterianas.

### ***Hibridização das membranas com as sondas de DNA***

Após fixação do DNA nas membranas, essas foram pré-hibridizadas a 42°C por 1 h numa solução contendo 50% de formamida, 1% de caseína, 5 x SSC, 25 mM de fosfato de sódio (pH 6,5) e 0,5 mg/ml de RNA de levedura. Em seguida, cada membrana foi colocada sob a placa acrílica do “Miniblotter45” (Immunetics) com as linhas contendo o DNA fixado perpendiculares às canaletas do “Miniblotter45”. Em cada canaleta foram colocadas 135 µl de cada sonda específica diluída em solução de hibridização, contendo 45% de formamida, 5 X SSC, 20 mM de fosfato de sódio (pH 6,5), 0,2 mg/ml de RNA de levedura, 10% de sulfato de dextrano, 1% caseína e 20 ng/ml de sonda da DNA específica. As sondas foram hibridizadas a 90° às linhas das amostras de biofilme no aparato “Miniblotter45”. O aparato foi incubado a 42°C por no mínimo 16 h para hibridização. As sondas genômicas para as espécies bacterianas (Tabela 1 e 2) foram confeccionadas usando o “High Prime” (Roche Applied Science, São Paulo, SP, Brasil).

### ***Deteção das espécies***

Após hibridização com as sondas, as membranas foram removidas do “Miniblotter45” e lavadas por 5 min em temperatura ambiente, seguidos de duas lavagens de 20 min a 68°C em solução adstringente (0,1 X SSC, 0,1% SDS), a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, as membranas foram imersas em solução bloqueadora (0,1 M de ácido maleico, 3 M de

NaCl, 0,2 M de NaOH, 0,3% de Tween 20 e 0,5% de caseína, pH 8,0) por 1 h, e incubadas por 30 min na mesma solução bloqueadora contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Roche Applied Science) numa diluição de 1/25.000. As membranas então, então, lavadas em solução tampão (0,1 M de ácido maleico, 3 M de NaCl, 0,2 M de NaOH, 0,3% de Tween 20, pH 8,0) duas vezes por 15 min e uma vez por 5 min em uma solução contendo 0,2 M de Dietanolamina (pH 9,5) e 2 mM de MgCl<sub>2</sub>. Em seguida, uma solução detectora de fluorescência (AttoPhos® AP FluorescentSubstrate System, Promega Corporation, Madison, WI, EUA) foi adicionada às membranas. Finalmente, as membranas foram digitalizadas e as imagens captadas pelo Sistema de Imagens Storm TM 860 (Molecular Dynamics, GE Healthcare Life Sciences), utilizando-se o *software* ImageQuant versão 5.2 (GE Healthcare Life Sciences). Os sinais emitidos foram avaliados visualmente por comparação com os controles de 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> células bacterianas para as espécies testes na mesma membrana. Os sinais foram registrados como: 0: não detectado; 1: <10<sup>5</sup> células; 2: ~10<sup>5</sup> células; 3: 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> células; 4: ~10<sup>6</sup> células; 5: >10<sup>6</sup> células. A sensibilidade da técnica desse teste foi ajustada para permitir a detecção de 10<sup>4</sup> células de uma determinada espécie, através do ajuste de cada sonda de DNA. Este procedimento foi realizado com o objetivo de se obter a mesma sensibilidade de detecção para cada espécie. A ausência de detecção foi computada como zero, no entanto níveis entre 1-1000 poderiam estar presentes.

### **Análise dos dados**

Os dados obtidos foram analisados pelo pacote estatístico IBM-SPSS (versão 20, IBM Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Foi calculada a média da idade e seu desvio-padrão dos indivíduos e grupados de acordo com o gênero. Os dados microbiológicos foram expressos através da média da percentagem de sítios colonizados (prevalência) e média do nível de colonização, calculados para cada espécie em dentes e em implantes, separadamente. Diferenças significativas entre dentes e implantes foram testadas pelo teste Mann-Whitney. A análise do comportamento da microbiota ao longo do tempo foi testada pelo teste Wilcoxon. Associações entre presença de implante ou dente e os níveis dos microrganismos

foram testados através do Coeficiente de Correlação de Spearman. O nível de significância utilizado foi de 5%.

**Tabela 1.**Relação das cepas orais empregadas na confecção das sondas de DNA.

Taxa	Cepa	Taxa	Cepa
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	43718 <sup>a</sup>	<i>Leptotrichiabuccalis</i>	14201
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	29523 <sup>a</sup>	<i>Neisseria mucosa</i>	19696
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	625 <sup>b</sup>	<i>Peptostreptococcus</i>	33270
<i>Actinomyces gerensceriae</i>	23860 <sup>a</sup>	<i>Prevotellamelaninogenica</i>	25845
<i>Actinomyces israelii</i>	12102 <sup>a</sup>	<i>Porphyromonasgingivalis</i>	33277
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929 <sup>a</sup>	<i>Prevotella intermedia</i>	25611
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	12104 <sup>a</sup>	<i>Prevotellanigrescens</i>	33563
<i>Actinomyces naeslundii II (A.viscosus)</i>	43146 <sup>a</sup>	<i>Propionibacterium acnes</i>	11827
<i>Campylobacter rectus</i>	33238 <sup>a</sup>	<i>Propionibacterium acnes</i>	43541
<i>Capnocytophaga concisus</i>	484 <sup>b</sup>	<i>Selenomonasnoxia</i>	33359
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624 <sup>a</sup>	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596 <sup>a</sup>	<i>Streptococcus</i>	27823
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612 <sup>a</sup>	<i>Streptococcus mitis</i>	49456
<i>Campylobacter showae</i>	51146 <sup>a</sup>	<i>Streptococcus oralis</i>	35037
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099 <sup>a</sup>	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556
<i>Eikenella corrodens</i>	23834 <sup>a</sup>	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558
<i>Eubacterium saburreum</i>	33271 <sup>a</sup>	<i>Streptococcus</i>	27335
<i>Fusobacteriumperiodonticum</i>	33693 <sup>a</sup>	<i>Tannerella forsythia</i>	43037
<i>Fusobacterium nucleatum sp.</i>	10953 <sup>a</sup>	<i>Treponema denticola</i>	B1 <sup>b</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum ss. vincentii</i>	49256 <sup>a</sup>	<i>Treponema socranskii</i>	S1 <sup>b</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum ss. nucleatum</i>	25586 <sup>a</sup>	<i>Veillonellaparvula</i>	10790
<i>Gemellamorbillorum</i>	27824 <sup>a</sup>		-

<sup>a</sup> ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD)

<sup>b</sup> TheForsyth Institute, Boston, MA

**Tabela 2.**Relação das cepas não orais empregadas na confecção das sondas de DNA.

<b>Taxa</b>	<b>Cepa*</b>	<b>Taxa</b>	<b>Cepa*</b>
<i>Acinetobacterbaumannii</i>	19606	<i>Haemophilusaphrophilus</i>	33389
<i>Actinomycesmeyerii</i>	35568	<i>Haemophilusinfluenzae</i>	33533
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	<i>Helicobacterpylori</i>	43504
<i>Candidaalbicans</i>	10231	<i>Lactobacillusacidophilus</i>	4356
<i>Clostridium difficile</i>	98689	<i>Neisseriagonorrhoeae</i>	21824
<i>Dialisterpneumosintes</i>	GBA27	<i>Neisseriameningitides</i>	13077
<i>Enterobacteragglomerans</i>	27155	<i>Neisseriapolysaccharea</i>	43768
<i>Enterobactercloacae</i>	10699	<i>Neisseriasicca</i>	29256
<i>Enterobactersakazakii</i>	12868	<i>Neisseriasubflava</i>	49275
<i>Enterobacteraerogenes</i>	13048	<i>Neisserialactamica</i>	23970
<i>Enterobactergergoviae</i>	33028	<i>Olsenellauli</i>	49627
<i>Enterococcusfaecalis</i>	10100	<i>Peptostreptococcusanaerobi</i>	27337
<i>Escherichia coli</i>	10799	<i>Prevotellatanneriae</i>	51259
<i>Eubacteriumsaphenum</i>	49989	<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	10145
<i>Filifactoralocis</i>	35896	<i>Rothiadentocariosa</i>	17931
<i>Fusobacteriumnecrophorum</i>	25286	<i>Salmonellaentericasorv.</i> <i>Typhi</i>	6539
<i>Gardnerellavaginallis</i>	49145	<i>Staphylococcus aureus ss</i> <i>aureus</i>	33591
<i>Hafniaalvei</i>	11604	<i>Serratialiquefanciens</i>	11367
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	10031	<i>Serratiamarcescens</i>	13477
<i>Klebsiellaoxytoca</i>	12833	<i>Streptococcuspneumoniae</i>	49619

\*ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD)

## 5. Resultados

No início do estudo foram incluídos 21 indivíduos, destes 11 eram mulheres e 10 homens (Tabela 3). A idade média das mulheres foi de 45,09 ( $\pm$  10,80) e a dos homens foi de 49,00 ( $\pm$  15,56). Dos 21 indivíduos iniciais, 4 não continuaram o seguimento, sendo que 2 por motivo de perda do implante, 1 por mudança de cidade e 1 não deu explicações.

As frequências de detecção dos microrganismos estudados estão apresentadas nas Figuras 1 e 2. Na avaliação do dia 7 das espécies orais, foi observado que numericamente mais espécies foram detectadas em mais de 50% das amostras de dentes comparado às amostras de implantes. Em implantes, no dia 7, as espécies que foram detectadas em mais de 50% das amostras foram *Actinomyces spp.*, *V. parvula*, *C. sputigena*, *E. corrodens*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *N. mucosa* e *T. socranskii*. Além destas espécies, em dentes, as bactérias que estiveram acima de 50% das amostras foram *Streptococcus spp. 1*, *Streptococcus spp. 2*, *Aa*, *C. rectus*, *P. micra*, *T. denticola*, *L. buccalis* e *S. noxia* aos 7 dias. Interessantemente, ocorreu uma inversão na quantidade de espécies detectadas em mais de 50% das amostras na avaliação de 180 dias. Aos 180 dias, as amostras de implantes tiveram mais espécies detectadas acima de 50% das amostras comparado com dentes. Pode-se destacar as espécies *Fusobacterium spp.* e *P. micra*, que estiveram presentes em 100% das amostras analisadas de implantes. No entanto, diferenças significativas foram observadas aos 30 dias entre amostras de dentes e implantes, sendo que as espécies *C. sputigena*, *F. periodonticum* e *S. noxia* foram detectadas mais frequentemente em dentes ( $p < 0,05$ ; teste de Mann-Whitney). Já aos 120 dias, as espécies *T. socranskii* e *V. parvula* foram detectadas mais frequentemente em dentes comparado a implantes,  $p < 0,05$ . A espécie *S. noxia* não foi detectada em nenhuma amostra de implante aos 120 dias. Análise dentro do grupo demonstrou que, do tempo 7 dias para 30 dias, houve aumento na frequência de *P. micra* em implantes ( $p < 0,05$ , teste Wilcoxon) e de *Lactobacillus spp.*, *P. acnes* e *R. dentocariosa* ( $p < 0,05$ ) em dentes. Do dia 120 para o 180, houve aumento significativo apenas na frequência de *T. socranskii* ( $p < 0,05$ ). Comparações entre o dia 7 e o 180 demonstraram que em implantes houve aumento significativo,  $p < 0,05$ , nas frequências de *Fusobacterium spp.*, *P. micra* e

*P. acnes* em implantes e/ ou dentes; e redução significativa na frequência de *C. sputigena* em dentes ( $p < 0,05$ ).

Quanto às espécies não-orais, com exceção de *C. albicans*, *C. matruchoyii*, *E. faecalis* e *P. anaerobius*, que se mantiveram acima de 50% de frequência de detecção em todos os períodos de coleta nas amostras de implante, as outras espécies mostraram um aumento na frequência de detecção ao longo do tempo. Diferenças significativas foram observadas aos 7 dias entre dentes e implantes apenas para a espécie *H. alvei* ( $p < 0,05$ ), e aos 30 dias para as espécies *F. alocis* e *H. alvei* ( $p < 0,05$ ). Comparações intra-grupo ao longo do tempo mostraram que dos 120 aos 180 dias *Gemella spp.* e *S. liquefaciens* aumentaram significativamente em implantes e/ ou dentes,  $p < 0,05$ , como demonstrado na Figura 2. Comparações entre 7 e 180 dias dentro dos grupos mostraram que em implantes apenas *S. aureus* demonstrou um aumento significativo comparado com o tempo inicial,  $p < 0,05$ , passando de 48,5% no dia 7 para 100% das amostras no dia 180. Já dentes apresentaram frequências finais significativamente maiores das espécies *H. alvei* e *S. entericasspentericasorvTyphi*; e menores das espécies *C. matruchoyii* e *P. anaerobius* ( $p < 0,05$ ).

Os níveis bacterianos das espécies orais estudadas no dia 7 demonstraram ser significativamente maiores em dentes comparados a implantes nas seguintes espécies: *C. sputigena*, *E. corrodens*, *N. mucosa*, *Streptococcus spp.* 1, *S. noxia*, *T. socranskiie V. parvula* ( $p < 0,05$ ) (Figura 3). Análises do tempo 30 dias demonstraram que as espécies orais *C. sputigena*, *F. periodonticum*, *S. noxiae V. parvula* estavam também em níveis mais elevados em amostras de dentes comparadas às amostras de implantes ( $p < 0,05$ ). Na análise do dia 120, novamente as espécies *S. noxiae V. parvula*, além da espécie *T. socranskiie* estavam significativamente presentes em maiores níveis nas amostras de dentes quando comparadas àquelas dos implantes,  $p < 0,05$ . Por outro lado, no dia 180, nenhuma espécie demonstrou diferença significativa quanto aos níveis entre dentes e implantes.

Os níveis bacterianos das espécies não-orais estudadas no dia 7 demonstraram ser significativamente maiores em dentes comparados a implantes nas espécies *H. alvei* e *Neisseria* ( $p < 0,05$ ). Na avaliação do dia 30, a única espécie não-oral que diferiu entre as amostras de dente e implante foi *H. alvei*, com maiores contagens de células nas amostras de dentes ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, no dia 120

nenhuma espécie não-oral demonstrou diferença significativa nos níveis entre as amostras de dente e implantes. No entanto, no dia 180, a espécie *S. entericasspentericasorvTyphi* demonstrou níveis significativamente mais elevados nas amostras de dentes comparado àquelas de implantes ( $p < 0,05$ ).

Análises dos níveis dentro dos grupos demonstraram que, na comparação de 7 e 30 dias, em implantes houve aumento significativo apenas para as espécies *H. pylori* e *P. micra* (Figuras 3 e 4). Na análise das amostras provindas de dentes para o mesmo período de dias, foi encontrado aumento significativo para *E. corrodens*, *H. pylori*, *P. micra*, *P. acnes* e *S. aureus*, e diminuição significativa dos níveis para *Neisseria* ( $p < 0,05$ ). Do tempo 30 para 120 dias, nas amostras de implantes foi observada uma redução significativa nos níveis da espécie *T. socranskii* ( $p < 0,05$ ), e nas amostras de dentes redução significativa de *H. influenzae* ( $p < 0,05$ ). Análises comparando os níveis do dia 120 com os do dia 180 dentro dos grupos demonstraram que em implantes houve uma redução significativa em *C. albicans*, enquanto houve aumento significativo das espécies *Fusobacterium spp.*, *F. alocis*, *Gemella spp.*, *P. micra*, *Streptococcus spp. 1*, *S. noxia*, *S. liquefaciense* e *T. socranskii* ( $p < 0,05$ ). Nesta análise, foi observado ainda que nas amostras de dentes, houve um aumento significativo nos níveis das espécies *C. difficile*, *Fusobacterium spp.*, *F. alocis*, *Gemella spp.*, *H. influenzae*, *H. pylori*, *P. micra*, *R. dentocariosa*, *Streptococcus spp. 2*, *S. salivarius*, *S. liquefaciense* e *S. aureus* ( $p < 0,05$ ).

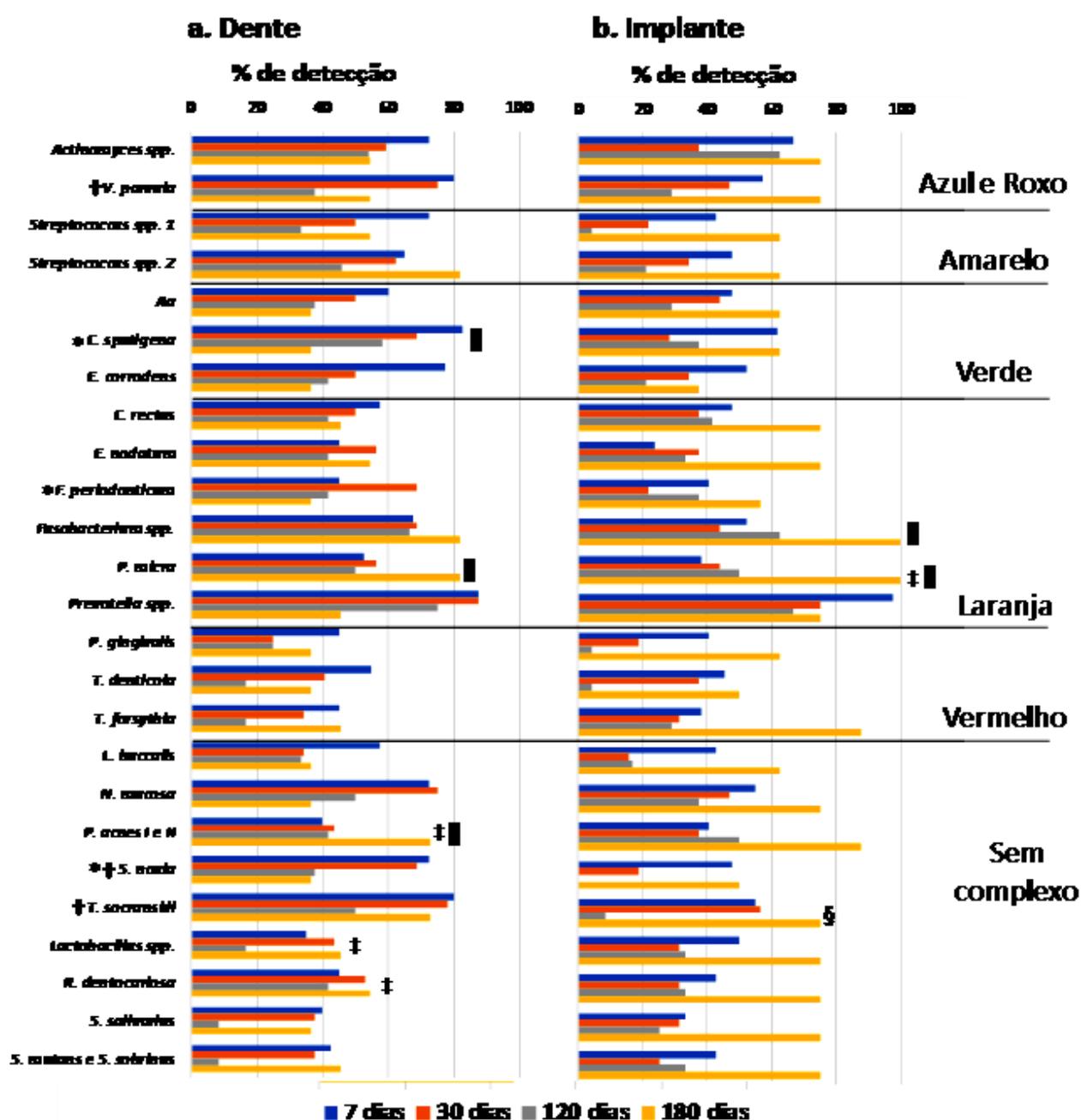
Análises de associação bivariada foram realizadas entre os níveis das espécies de microrganismos estudados e presença de implante (Tabela 4) e idade (Tabela Suplementar em anexo). Na análise dos dados do dia 7, foram observadas associações negativas significativas entre implante e as espécies estudadas, porém, fracas ( $\rho < -0,4$ ;  $p < 0,05$ ) para as espécies *C. sputigena*, *N. mucosa*, *Streptococcus spp. 1*, *S. noxia*, *T. socranskii*, *V. parvula*, *H. alveie* e *Neisseria spp.*, e correlação negativa significativamente moderada para a espécie *E. corrodens*. Já no dia 30, as espécies *C. sputigena* ( $\rho = -0,480$ ,  $p = 0,003$ ), *F. periodonticum* ( $\rho = -0,454$ ,  $p = 0,005$ ), *S. noxia* ( $\rho = -0,498$ ,  $p = 0,002$ ), *V. parvula* ( $\rho = -0,423$ ,  $p = 0,010$ ) e *H. alveie* ( $\rho = -0,435$ ,  $p = 0,008$ ) tiveram associação moderada negativa significativa com implante. No dia 120, três espécies bacterianas demonstraram também associação negativa moderada significativa com implante: *S. noxia* ( $\rho = -$

0,485,  $p = 0,012$ ), *T. socranskii* ( $\rho = -0,416$ ,  $p = 0,035$ ) e *V. parvula* ( $\rho = -0,500$ ,  $p = 0,009$ ), E, finalmente, no dia 180 dias, apenas *S. entericasspentericasorvTyphi* demonstrou uma associação significativa negativa forte com implante ( $\rho = -0,689$ ,  $p < 0,0001$ ).

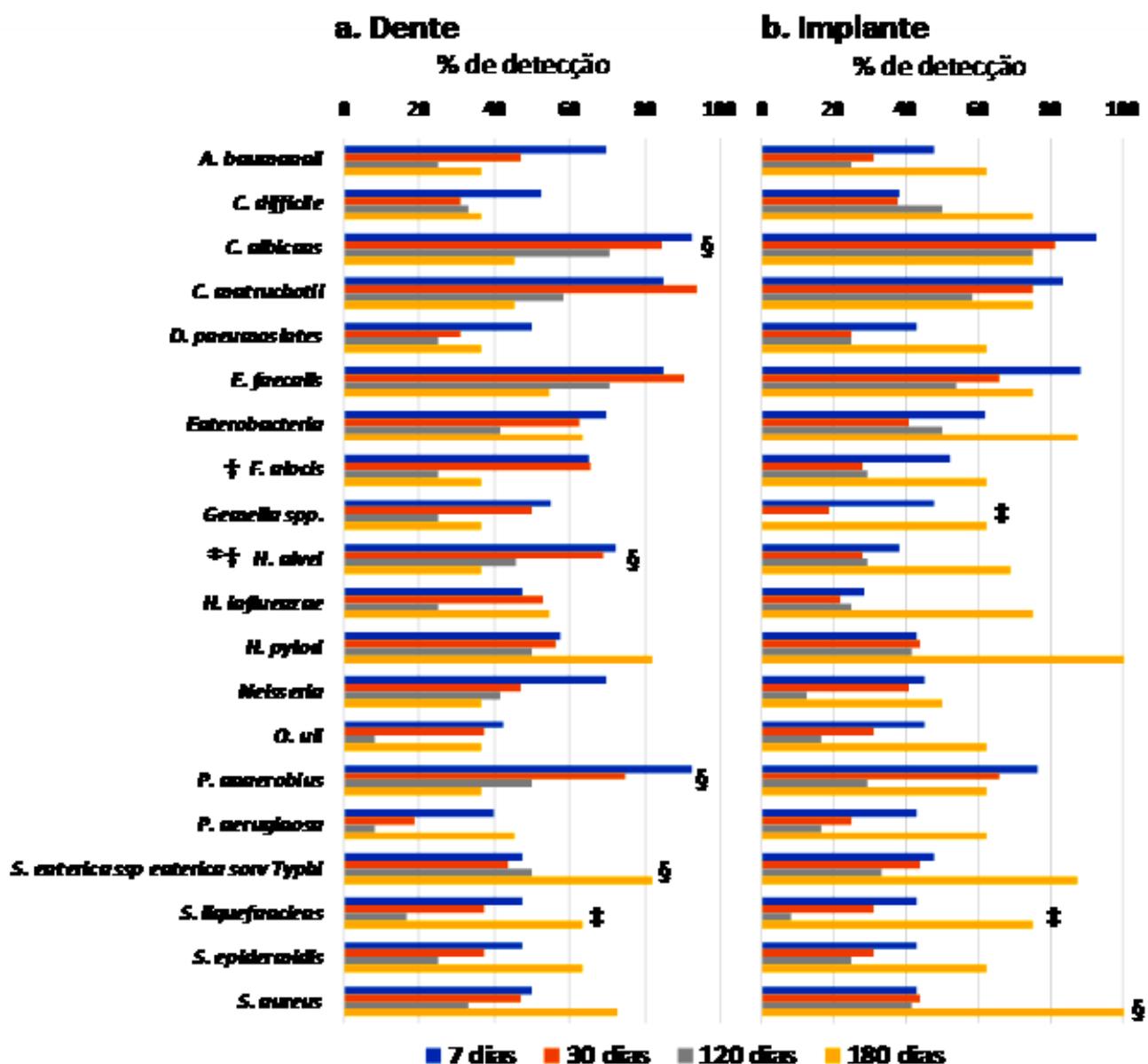
**Tabela 3.** Idade média dos participantes de acordo com o gênero.

<b>Gênero</b>	<b>n</b>	<b>Média de idade</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Valor de p</b>
Feminino	11	45,09	10,80	
Masculino	10	49,00	15,56	> 0,05
Total	21	46,95	13,09	

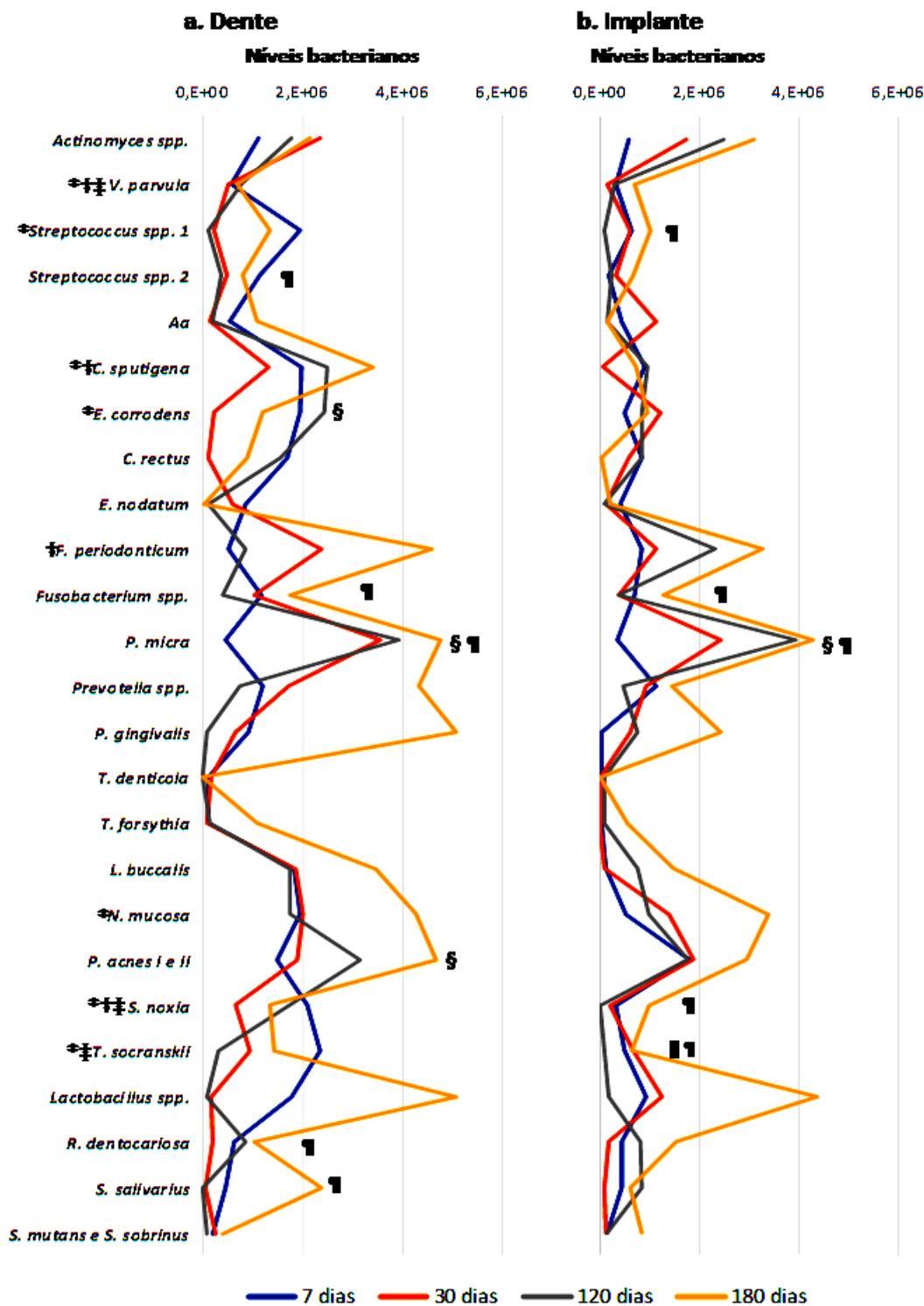
\*teste Mann-Whitney.



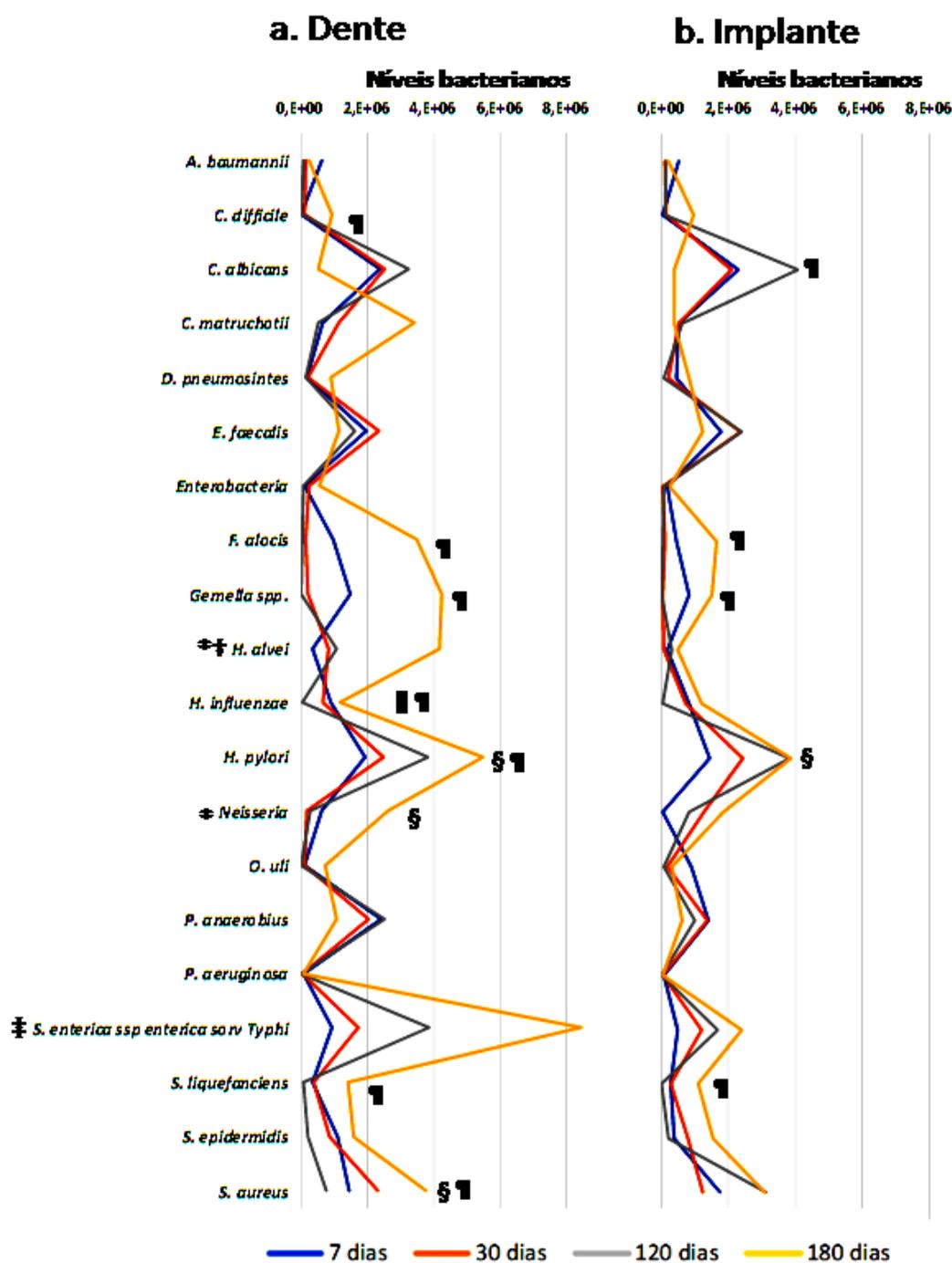
**Figura 1.** Frequência de detecção das espécies orais nas amostras de dentes e implantes ao longo do tempo. As espécies bacterianas estão organizadas de acordo com os complexos bacterianos descritos por Socransky et al. (1998). \* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; † diferença significativa entre os grupos aos 120 dias; p < 0,05, Teste de Mann-Whitney. ‡ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias; || Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 180 dias; p < 0,05, Teste Wilcoxon.



**Figura 2.** Frequência de detecção das espécies não-orais nas amostras de dentes e implantes ao longo do tempo. \*Diferença significativa entre os grupos (dentes e implantes) aos 7 dias; †Diferença significativa entre os grupos aos 30 dias;  $p < 0,05$ , Teste de Mann-Whitney. ‡ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias; § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste Wilcoxon.



**Figura 3.** Níveis das espécies bacterianas orais estudadas nas amostras de dentes e implantes.\* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 7 dias; † Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; ‡ Diferença significativa entre dentes e implantes aos 120 dias; § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; ¶ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 30 e 120 dias; ¶ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias; p < 0,05, Teste de Mann-Whitney. § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; ¶ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 30 e 120 dias; ¶ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias; p < 0,05, Teste Wilcoxon.



**Figura 4.** Níveis das espécies de microrganismos não-orais estudados nas amostras de dentes e implantes. \* Diferença significativa entre dentes e implantes aos 7 dias; † Diferença significativa entre dentes e implantes aos 30 dias; ‡ Diferença significativa entre dentes e implantes aos 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste de Mann-Whitney. § Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 7 e 30 dias; ¶ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 30 e 120 dias; ¶¶ Diferença significativa dentro do grupo entre os tempos 120 e 180 dias;  $p < 0,05$ , Teste Wilcoxon.

**Tabela 4.** Análise de correlação entre implante e níveis dos microrganismos estudados.

Espécies <sup>1</sup>	Implante	
	<i>rho</i> *	<i>P</i>
<b>Dia 7</b>		
<i>C. sputigena</i>	-0,346	0,015
<i>E. corrodens</i>	-0,420	0,003
<i>N. mucosa</i>	-0,307	0,032
<i>Streptococcus spp. 1</i>	-0,286	0,047
<i>S. noxia</i>	-0,346	0,015
<i>T. socranskii</i>	-0,346	0,015
<i>V. parvula</i>	-0,289	0,044
<i>H. alvei</i>	-0,334	0,019
<i>Neisseria spp.</i>	-0,346	0,015
<b>30 dias</b>		
<i>C. sputigena</i>	-0,480	0,003
<i>F. periodonticum</i>	-0,454	0,005
<i>S. noxia</i>	-0,498	0,002
<i>V. parvula</i>	-0,423	0,010
<i>H. alvei</i>	-0,435	0,008
<b>120 dias</b>		
<i>S. noxia</i>	-0,485	0,012
<i>T. socranskii</i>	-0,416	0,035
<i>V. parvula</i>	-0,500	0,009
<b>180 dias</b>		
<i>S. entericasspentericasorvTyphi</i>	-0,689	<0,0001

<sup>1</sup>Apenas espécies que mostraram correlação significativa estão apresentadas na tabela; \* rho: coeficiente de correlação de Spearman; *P*: valor de p.

## 6. Discussão

Este estudo teve por objetivo avaliar as características da microbiota subgingival, incluindo bactérias orais e não orais, de indivíduos portadores de implantes dentários logo após sua instalação e ao longo de 6 meses, comparando-as com microbiota de dentes nos mesmos indivíduos. Tem-se demonstrado a relação causal entre a presença do biofilme bacteriano e o desenvolvimento de doenças peri-implantares (Becker et al. 1990; Botero et al. 2005; Renvert et al. 2007b), as quais vêm se tornando uma realidade na rotina da clínica odontológica (AAP 2013; Zitzmann and Berglundh 2008). Desta forma, torna-se importante uma maior compreensão de como ocorre o estabelecimento da colonização por microrganismos das áreas peri-implantares em indivíduos portadores de implantes dentários recém-instalados a fim de melhorar o entendimento da etiopatogênese das doenças peri-implantares.

Os achados do presente estudo nos diferentes tempos de coleta de dados demonstram que existe já aos 7 dias após a implantação, uma grande diversidade de espécies bacterianas. Interessantemente, somente a partir dos 30 dias é que foram observadas diferenças significativas entre a colonização de dentes e implantes para as espécies *C. sputigena*, *F. periodonticum*, *S. noxia*, *T. socranskiie* e *V. parvula*, sendo mais frequentemente detectadas em dentes. Entretanto, quando análises ao longo do tempo foram realizadas dentro do grupo, foi observado que várias espécies aumentaram sua frequência de detecção em implantes, tais como *Fusobacterium spp.*, *P. micra* e *P. acnes*. Em um estudo de 2014, Schaumann et al. (Schaumann et al. 2014) demonstraram por pirosequenciamento uma grande diversidade de espécies entre amostras obtidas de biofilme subgingival de dentes e implantes. No entanto, os autores não encontraram diferenças significativas entre dentes e implantes quanto à colonização. Além disto, os resultados que foram obtidos no presente estudo no dia 7 revelaram que, em implantes, as espécies *Actinomyces spp.*, *V. parvula*, *C. sputigena*, *E. corrodens*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.* e *T. socranskii* estavam presentes em mais de 50% das amostras estudadas. Este resultado é compatível com os achados de Shibli et al. (2008) (Shibli et al. 2008), que também detectaram estas espécies em implantes saudáveis. Para (Leonhardt et al. 2002) espécies como *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Aa*,

*Capnocytophaga spp.* e *C. rectus* compõe a microbiota residente normal em muitos indivíduos e podem ser encontrados em sítios estáveis ou com peri-implantite.

Quanto aos níveis bacterianos das espécies orais estudadas, pode-se observar que poucas espécies diferiram significativamente entre dentes e implantes, sendo que o número de espécies que diferiram foi decaindo ao longo do tempo. Assim, no dia 7, havia significativamente maiores níveis em dentes para 7 sondas testadas (*C. sputigena*, *E. corrodens*, *N. mucosa*, *Streptococcus spp.* 1, *S. noxia*, *T. socranskiie V. parvula*), no dia 30 dia, para 4 sondas (*C. sputigena*, *F. periodonticum*, *S. noxiae V. parvula*), no dia 120, para 3 sondas (*S. noxiae V. parvulae T. socranskii*) e no dia 180, nenhuma diferença. Possivelmente, com o decorrer do tempo estes sítios peri-implantares irão adquirir o mesmo perfil microbiológico daquele encontrado em dentes saudáveis para espécies orais. Aparentemente, parece que o importante é a manutenção do controle do biofilme de maneira similar ao estipulado para a prevenção das doenças periodontais. Há estudos que demonstram que há diferenças entre a microbiota de implantes saudáveis e implantes com peri-implantite (da Silva et al. 2014; Maruyama et al. 2014; Persson and Renvert 2014), o que indica que o estabelecimento de uma microbiota patogênica em níveis críticos deve ser evitada. Portanto, os níveis bacterianos parecem ser importantes também na manutenção do equilíbrio saúde-doença peri-implantar, assim como na doença periodontal. Foi demonstrado no estudo de Persson e Renvert (2014), que implantes que possuíam níveis acima de  $10^4$  células das espécies *T. forsythia*, *T. denticola*, *C. rectus*, *T. socranskii*, *P. gingivalis*, *S. aureus*, *C. gracilise P. intermedia* possuíam risco significativamente elevado, com *OddsRatio* variando de 3,1 a 4,6, de desenvolvimento de peri-implantite. Além disto, outro fator a ser considerado é a microbiota de implantes doentes que pode interferir com aquela de implantes ainda saudáveis. A microbiota de implantes saudáveis em indivíduos com implantes com peri-implantite em outros implantes já apresenta características significativamente diferentes quando se compara com implantes saudáveis em indivíduos que não tem peri-implantite (Silva et al., 2013). Neste sentido, também é importante eliminar qualquer fonte ou reservatório potencial de patógenos, como bolsas periodontais, principalmente adjacentes a áreas que receberão implantes. Aoki et al. (Aoki et al. 2012) demonstraram que as bactérias que colonizavam as regiões peri-implantares eram os mesmos clones de dentes adjacentes. Por outro lado, foi demonstrado que

o aumento do sangramento peri-implantar está associado com aumento de *Porphyromonas* spp. (Al-Radha et al. 2012).

A prevalência das espécies não-orais estudadas em implantes foi relativamente alta durante todo o tempo de observação. De maneira semelhante o que aconteceu com as espécies orais, poucas diferenças significativas foram observadas entre dentes e implantes e estas diferenças diminuíram ao longo do tempo. A colonização do biofilme subgengival por espécies não-orais e sua possível participação na etiopatogênese das doenças periodontais têm sido discutidas (da Silva-Boghossian et al. 2011; Silva et al. 2010; Souto et al. 2014). Estudos na área de implantodontia ainda são escassos, porém dados similares aos presentes foram demonstrados por Persson e Renvert (2014), que encontraram níveis elevados de *H. influenzae*, *H. pylori* e *S. aureus* em amostras de implantes saudáveis e com peri-implantite. No estudo de Charalampakis et al. (Charalampakis et al. 2012) identificaram o crescimento de *S. epidermidis* e *S. aureus* em 28,8% e 7,9%, respectivamente, das amostras coletadas de implantes; enquanto que *F. alocis* foi detectado em 80% das amostras através do método do *checkerboard*. Possivelmente, os achados aqui apresentados e o de outros estudos possam demonstrar que na doença peri-implantar espécies não-orais também desempenham papéis importantes na patogênese da doença.

Na análise de associação bivariada realizada neste estudo entre os níveis das espécies de microrganismos estudados e presença de implante, foram encontradas somente associações negativas. Isto indica que as espécies que demonstraram associações negativas estariam mais associadas a dentes do que a implantes. Estas espécies foram *C. sputigena*, *E. corrodens*, *F. periodonticum*, *H. alvei*, *N. mucosa*, *Neisseria*, *S. entericasspentericasorvTyphi*, *Streptococcus* spp. 1, *S. noxia*, *T. socranskii* e *V. parvula*.

## **7. CONCLUSÃO**

A microbiota da região peri-implantar é diversificada e semelhante à microbiota de dentes no mesmo indivíduo, com poucas espécies diferindo nos primeiros tempos e se igualando ao longo dos 6 meses de observação, tanto para espécies orais quanto para espécie não-orais.

## 8. Referências bibliográficas

- AAP (2013), 'Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications', *J Periodontol*, 84 (4), 436-43.
- Adell, R., et al. (1981), 'A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw', *Int J Oral Surg*, 10 (6), 387-416.
- Al-Radha, A. S., et al. (2012), 'Molecular analysis of microbiota associated with peri-implant diseases', *J Dent*, 40 (11), 989-98.
- Aoki, M., et al. (2012), 'Transmission of periodontopathic bacteria from natural teeth to implants', *Clin Implant Dent Relat Res*, 14 (3), 406-11.
- Apse, P., et al. (1989), 'Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients', *J Periodontal Res*, 24 (2), 96-105.
- Apse, P., et al. (1991), 'The longitudinal effectiveness of osseointegrated dental implants. The Toronto Study: peri-implant mucosal response', *Int J Periodontics Restorative Dent*, 11 (2), 94-111.
- Bauman, G. R., et al. (1993), 'The peri-implant sulcus', *Int J Oral Maxillofac Implants*, 8 (3), 273-80.
- Becker, W., et al. (1990), 'Clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure', *Int J Oral Maxillofac Implants*, 5 (1), 31-8.
- Botero, J. E., et al. (2005), 'Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients', *J Periodontol*, 76 (9), 1490-5.
- Buser, D., et al. (1992), 'Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs', *J Periodontol*, 63 (3), 225-35.
- Charalampakis, G., et al. (2012), 'Clinical and microbiological characteristics of peri-implantitis cases: a retrospective multicentre study', *Clin Oral Implants Res*, 23 (9), 1045-54.
- Christersson, L. A., et al. (1992), 'Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis', *J Periodontol*, 63 (5), 418-25.
- Colombo, A. P., et al. (2005), 'Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results', *J Periodontol*, 76 (5), 778-84.

- da Silva-Boghossian, C. M., et al. (2011), 'Association of red complex, *A. actinomycetemcomitans* and non-oral bacteria with periodontal diseases', *Arch Oral Biol*, 56 (9), 899-906.
- da Silva, E. S., et al. (2014), 'Microbiological diversity of peri-implantitis biofilm by Sanger sequencing', *Clin Oral Implants Res*, 25 (10), 1192-9.
- Dzink, J. L., Socransky, S. S., and Haffajee, A. D. (1988), 'The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases', *J Clin Periodontol*, 15 (5), 316-23.
- Esposito, M., et al. (1999), 'Differential diagnosis and treatment strategies for biologic complications and failing oral implants: a review of the literature', *Int J Oral Maxillofac Implants*, 14 (4), 473-90.
- Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. (1994), 'Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases', *Periodontol 2000*, 5, 78-111.
- Heller, D., et al. (2011), 'Impact of systemic antimicrobials combined with anti-infective mechanical debridement on the microbiota of generalized aggressive periodontitis: a 6-month RCT', *J Clin Periodontol*, 38 (4), 355-64.
- Holt, S. C. and Ebersole, J. L. (2005), '*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis', *Periodontol 2000*, 38, 72-122.
- Jepsen, S., et al. (1996), 'Progressive peri-implantitis. Incidence and prediction of peri-implant attachment loss', *Clin Oral Implants Res*, 7 (2), 133-42.
- Kinane, D. F., Mooney, J., and Ebersole, J. L. (1999), 'Humoral immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease', *Periodontol 2000*, 20, 289-340.
- Leonhardt, A., et al. (2002), 'Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters', *Clin Oral Implants Res*, 13 (2), 127-32.
- Lindhe, J. and Berglundh, T. (1998), 'The interface between the mucosa and the implant', *Periodontol 2000*, 17, 47-54.
- Listgarten, M. A. and Hellden, L. (1978), 'Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans', *J Clin Periodontol*, 5 (2), 115-32.

- Listgarten, M. A., et al. (1991), 'Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants [corrected and republished with original paging, article originally printed in *Clin Oral Implants Res* 1991 Jan-Mar;2(1):1-19]', *Clin Oral Implants Res*, 2 (3), 1-19.
- Marquez, I. C. (2004), 'The role of keratinized tissue and attached gingiva in maintaining periodontal/peri-implant health', *Gen Dent*, 52 (1), 74-8; quiz 79.
- Maruyama, N., et al. (2014), 'Intraindividual variation in core microbiota in peri-implantitis and periodontitis', *Sci Rep*, 4, 6602.
- Mombelli, A. (2002), 'Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis', *Periodontol 2000*, 28, 177-89.
- Mombelli, A., Muller, N., and Cionca, N. (2012), 'The epidemiology of peri-implantitis', *Clin Oral Implants Res*, 23 Suppl 6, 67-76.
- Moon, I. S., et al. (1999), 'The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant. An experimental study in the dog', *J Clin Periodontol*, 26 (10), 658-63.
- Moore, W. E. and Moore, L. V. (1994), 'The bacteria of periodontal diseases', *Periodontol 2000*, 5, 66-77.
- Persson, G. R. and Renvert, S. (2014), 'Cluster of bacteria associated with peri-implantitis', *Clin Implant Dent Relat Res*, 16 (6), 783-93.
- Persson, G. R., et al. (2006), 'Antimicrobial therapy using a local drug delivery system (Arestin) in the treatment of peri-implantitis. I: Microbiological outcomes', *Clin Oral Implants Res*, 17 (4), 386-93.
- Quirynen, M., De Soete, M., and van Steenberghe, D. (2002), 'Infectious risks for oral implants: a review of the literature', *Clin Oral Impl Res*, 13 (1), 1-19.
- Quirynen, M., et al. (2006), 'Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri-implant pockets', *Clin Oral Implants Res*, 17 (1), 25-37.
- Renvert, S., et al. (2007a), 'Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation', *Clin. Oral Impl. Res.*, 18, 509-16.
- Renvert, S., et al. (2007b), 'Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation', *Clin Oral Implants Res*, 18 (4), 509-16.
- Rutar, A., et al. (2001), 'Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions', *Clin Oral Implants Res*, 12 (3), 189-95.

- Salvi, G. E., et al. (2008), 'One-year bacterial colonization patterns of Staphylococcus aureus and other bacteria at implants and adjacent teeth', *Clin Oral Implants Res*, 19 (3), 242-8.
- Schaumann, S., et al. (2014), 'Pyrosequencing of supra- and subgingival biofilms from inflamed peri-implant and periodontal sites', *BMC Oral Health*, 14, 157.
- Shibli, J. A., et al. (2008), 'Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants', *Clin Oral Implants Res*, 19 (10), 975-82.
- Silva, D. G., et al. (2010), 'Presence of Helicobacter pylori in supragingival dental plaque of individuals with periodontal disease and upper gastric diseases', *Arch Oral Biol*, 55 (11), 896-901.
- Slots, J. and Ting, M. (1999), 'Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: occurrence and treatment', *Periodontol 2000*, 20, 82-121.
- Socransky, S. S. and Haffajee, A. D. (2005), 'Periodontal microbial ecology', *Periodontol 2000*, 38, 135-87.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., and Dzink, J. L. (1988), 'Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites', *J Clin Periodontol*, 15 (7), 440-4.
- Socransky, S. S., et al. (1998), 'Microbial complexes in subgingival plaque', *J Clin Periodontol*, 25 (2), 134-44.
- Socransky, S. S., et al. (1994), "'Checkerboard" DNA-DNA hybridization', *Biotechniques*, 17 (4), 788-92.
- Souto, R., Silva-Boghossian, C. M., and Colombo, A. P. (2014), 'Prevalence of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter spp. in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection', *Braz J Microbiol*, 45 (2), 495-501.
- Tonetti, M. S. and Schmid, J. (1994), 'Pathogenesis of implant failures', *Periodontol 2000*, 4, 127-38.
- Zitzmann, N. U. and Berglundh, T. (2008), 'Definition and prevalence of peri-implant diseases', *J Clin Periodontol*, 35 (8 Suppl), 286-91.

## **ANEXOS**

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Bactérias orais e não orais no espaço subgingival de Implantes dentários recém instalados e ao longo de 6 meses

**Pesquisador:** Fabio Torquillo Duarte

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 51203215.5.0000.5283

**Instituição Proponente:**UNIVERSIDADE UNIGRANRIO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.359.026

**Apresentação do Projeto:**

Os Implantes dentários têm demonstrado resultados previsíveis na Odontologia, com índice de sucesso bastante representativo em longo prazo. Ao longo do tempo pode ocorrer o desenvolvimento de inflamação peri-implantar, especialmente em indivíduos suscetíveis, normalmente associada a uma patologia, que pode ser mucosite peri-implantar ou peri-implante. Isto se deve ao acúmulo de biofilme patogênico passível de ocorrer nos tecidos peri-implantares causando ou não perda óssea. A fim de avaliar as características da microbiota subgingival, incluindo bactérias orais e não orais, indivíduos que receberão implantes dentários na Clínica de Pós-graduação em Odontologia da UNIGRANRIO serão convidados a participar do estudo. Um total de 18 indivíduos será incluído no estudo e após passarem pela anamnese, farão exames clínicos que serão realizados por um examinador calibrado, para registrar a presença de biofilme dental supragingival, sangramento e/ou supuração à sondagem e mensuração da profundidade de sondagem e do nível clínico de inserção em mm. Amostras de biofilme subgingival serão coletadas dos sítios proximais dos implantes e dos dentes contralaterais ou dos antagonistas com intervalo de 7, 30, 90 e 180 dias, a fim de determinar a prevalência e os níveis de espécies bacterianas da microbiota subgingival.

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160  
Bairro: 25 de Agosto CEP: 25.071-202  
UF: RJ Município: DUQUE DE CAXIAS  
Telefone: (21)2672-7733 Fax: (21)2672-7733 E-mail: cep@unigranrio.com.br

Continuação do Parecer: 1.359/2015

**Objetivo da Pesquisa:**

O objetivo do presente projeto de pesquisa é avaliar as características da microbiota subgingival, incluindo bactérias orais e não orais, de indivíduos portadores de implantes dentários logo após sua instalação e ao longo de 6 meses.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os riscos são mínimos para o paciente pois a coleta de biofilme dental não causa prejuízo algum para o indivíduo.

**Benefícios:**

Acompanhamento da cicatrização da instalação dos implantes dentários por 6 meses.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de pesquisa relevante para Odontologia pois visa o equilíbrio do processo saúde-doença de pacientes que necessitam de implante dentário.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos estão todos presentes e adequados.

**Recomendações:**

Que a pesquisa seja realizada e seus resultados conhecidos para que se possa melhor conhecer as características da microbiota subgingival, incluindo bactérias orais e não orais que podem interferir com o sucesso do implante dentário.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não existem pendências ou inadequações que necessitem ser reparadas. Voto pela aprovação do presente projeto.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Prezado (a) Pesquisador (a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO atendendo o previsto na Resolução 466/12 do CNS/MS APROVOU o referido projeto na reunião ocorrida em 09 de dezembro de 2015. Caso o (a) pesquisador (a) altere a pesquisa é necessário que o projeto retorne ao Sistema Plataforma Brasil para uma futura avaliação e emissão de novo parecer. Lembramos que o (a) pesquisador (a) deverá encaminhar o relatório da pesquisa após a sua conclusão, como um compromisso junto a esta instituição e o Sistema Plataforma Brasil.

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160  
Bairro: 25 de Agosto CEP: 25.071-302  
UF: RJ Município: DUQUE DE CAXIAS  
Telefone: (21)2872-7733 Fax: (21)2872-7733 E-mail: cep@unigranrio.com.br

UNIVERSIDADE DO GRANDE  
RIO PROFESSOR JOSÉ DE  
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



Continuação do Parecer: 1.359.026

Cordialmente,  
CEP/Unigranrio.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_624884.pdf	18/11/2015 12:51:40		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_Fabio.docx	18/11/2015 12:51:11	Fabio Torquillo Duarte	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.doc	18/11/2015 12:50:56	Fabio Torquillo Duarte	Aceito
Orçamento	orcamento_Fabio.PDF	12/11/2015 15:52:38	Fabio Torquillo Duarte	Aceito
Outros	ficha_anamnese.docx	12/11/2015 15:51:06	Fabio Torquillo Duarte	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuencia_Fabio.PDF	12/11/2015 15:47:56	Fabio Torquillo Duarte	Aceito
TGLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_Fabio.doc	12/11/2015 15:47:13	Fabio Torquillo Duarte	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_Fabio.PDF	12/11/2015 15:45:11	Fabio Torquillo Duarte	Aceito

Situação do Parecer:  
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:  
Não

DUQUE DE CAXIAS, 09 de Dezembro de 2015

Assinado por:  
Renato Cerqueira Zambrotti  
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160  
Bairro: 25 de Agosto CEP: 25.071-202  
UF: RJ Município: DUQUE DE CAXIAS  
Telefone: (21)2572-7733 Fax: (21)2572-7733 E-mail: cep@unigranrio.com.br

**Tabela Suplementar.** Análise de correlação entre implante e idade e níveis dos microrganismos estudados.

Espécie oral <sup>1</sup>	Implante		Idade		Espécie não-oral <sup>1</sup>	Implante		Idade	
	<i>rho</i> *	<i>P</i>	<i>rho</i> *	<i>P</i>		<i>rho</i> *	<i>P</i>	<i>rho</i> *	<i>P</i>
<b>Dia 7</b>					<b>Dia 7</b>				
<i>E. corrodens</i>	-0,420	0,003			<i>C. albicans</i>	0,590	<0,0001		
<i>N. mucosa</i>	-0,307	0,032			<i>C. sputigena</i>	-0,346	0,015	0,417	0,003
<i>Streptococcus spp.</i>	-0,286	0,047			<i>C. matruchotii</i>			0,398	0,005
<i>1</i>									
<i>S. noxia</i>	-0,346	0,015			<i>H. alvei</i>	-0,334	0,019		
<i>T. socranskii</i>	-0,346	0,015			<i>Neisseria spp.</i>	-0,346	0,015		
<i>V. parvula</i>	-0,289	0,044			<i>S. liquefaciens</i>			-0,292	0,042
					<i>S. aureus</i>			-0,321	0,024
<b>30 dias</b>					<b>30 dias</b>				
<i>C. sputigena</i>	-0,480	0,003			<i>C. albicans</i>			0,367	0,028
<i>F. periodonticum</i>	-0,454	0,005			<i>E. faecalis</i>			0,396	0,017
<i>N. mucosa</i>			-0,360	0,031	<i>H. alvei</i>	-0,435	0,008		
<i>S. noxia</i>	-0,498	0,002							
<i>V. parvula</i>	-0,423	0,010							
<b>120 dias</b>					<b>120 dias</b>				
<i>R. dentocariosa</i>			0,396	0,045	<i>E. faecalis</i>			0,399	0,043
<i>S. noxia</i>	-0,485	0,012			<i>Enterobacteria</i>			0,457	0,019

<i>T. socranskii</i>	-0,416	0,035	<i>P. aeruginosa</i>	-0,390	0,049
<i>V. parvula</i>	-0,500	0,009			
<b>180 dias</b>			<b>180 dias</b>		
<i>Fusobacterium</i>		0,433	0,039	<i>S. entericasspentericasorvTyphi</i>	-0,689 <0,0001
<i>spp.</i>					
<i>Streptococcus spp.</i>		-0,441	0,035	<i>S. aureus</i>	0,536 0,008
2					

<sup>1</sup>Apenas espécies que mostraram correlação significativa estão apresentadas na tabela; \* rho: coeficiente de correlação de Spearman; *P*: valor de p.