

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

JOELY ÂNGELA DE OLIVEIRA LEITÃO

**ANÁLISE, POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR), DA
PRESENÇA DE *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS*,
PORPHYROMONAS GINGIVALIS E *PREVOTELLA INTERMEDIA* EM SÍTIOS
PERIMPLANTARES.**

São Paulo, SP, 2003

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

JOELY ÂNGELA DE OLIVEIRA LEITÃO

**ANÁLISE, POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR), DA
PRESENÇA DE *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS*,
PORPHYROMONAS GINGIVALIS E *PREVOTELLA INTERMEDIA* EM SÍTIOS
PERIMPLANTARES.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação,
Nível Mestrado, da Faculdade de Odontologia da
Universidade de Santo Amaro, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre em Odontologia,
Área de concentração Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz De Lorenzo

Co-orientador: Prof. Dr. Mario Julio Avila-Campos

São Paulo, SP, 2003

B. 30123980
Class. U61769
Cutter L548a
Patri nº 3215
Tipo entrada DDT/CD
Nota Fiscal
Data rec. 23.11.03
Preço
Origem

**Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca Dr. Milton Soldani Afonso – Campus I**

L548a Leitão, Joely Ângela de Oliveira
Análise, por metodologia molecular (PCR), da presença de
Actinobacillus actinomycetemcomitans, *Porphyromonas*
gingivalis e *Prevotella intermedia* em sítios perimplantares. /
Joely Ângela de Oliveira Leitão. Orientação do Prof. Dr. José
Luiz De Lorenzo.
São Paulo: 2003.
70p.

Dissertação (Mestrado). Área de Concentração em
Implantodontia. Faculdade de Odontologia da Universidade
de Santo Amaro.

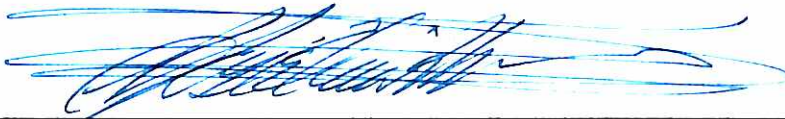
1. Bactérias 2. Implantes Dentários 3. Reação em Cadeia
da Polimerase I. Título

ANÁLISE, POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR), DA
PRESENÇA DE *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS*,
PORPHYROMONAS GINGIVALIS E *PREVOTELLA INTERMEDIA* EM SÍTIOS
PERIMPLANTARES.

Joely Ângela de Oliveira Leitão

Aprovada em 12/5/2003

Banca Examinadora



Prof. Dr. José Luiz De Lorenzo

Mestre em Odontologia e Doutor em Microbiologia e Imunologia pelo
Instituto de Ciências Biomédicas da USP.



Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk

Mestre em Odontologia e Doutor em Periodontia pela USP.



Prof. Dr. Mario Julio Avila-Campos

Prof. Associado Livre-Docente do Instituto de Ciências Biomédicas da
USP.

CONCEITO FINAL: 10.0

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, que já partiu, com todo meu carinho e saudade.

À minha mãe, de quem herdei minha obstinação e coragem.

Aos meus filhos Marcelo e João Pedro fundamentais na minha vida, eternos no meu coração.

Ao meu marido Paulo José, brilho no meu olhar e paz no meu coração.

“Quem nada conhece, nada ama.
Quem nada pode fazer, nada compreende.
Quem nada compreende, nada vale.
Mas quem compreende também ama, observa, vê...
Quanto mais conhecimento houver inerente numa coisa, tanto maior o amor...
Aquele que imagina que todos os frutos amadurecem ao mesmo tempo, como as
cerejas, nada sabe a respeito das uvas”.

PARACELSO

AGRADECIMENTOS:

A DEUS

Ao meu orientador, Prof. Dr. JOSÉ LUIZ DE LORENZO que muito mais do que orientador foi um amigo, um professor e um pai, me incentivando ao longo de toda essa jornada.

Ao Prof. Dr. MARIO JULIO AVILA-CAMPOS pela sua presteza, dedicação e atenção, indispensáveis ao nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. ROBERTO FRAGA MOREIRA LOTUFO, grande colaborador deste estudo e responsável pelo meu interesse em Microbiologia, meu muito obrigada.

Ao Prof. Dr. WILSON ROBERTO SENDYK pela oportunidade de chegar até aqui, minha admiração e respeito.

Aos mais que amigos, irmãos de todas as horas, VÂNIA MARIA CORVELHO e FERNADO SÉRGIO NOGUEIRA, pelo apoio, força, companheirismo e amizade incondicionais.

Aos amigos RICARDO E ROSÂNGELA SCHMITUTZ JAHN pela amizade, carinho e apoio infinitos.

À minha querida irmã de coração JOANA VARGAS pelo carinho dedicado aos meus filhos em todos os momentos.

Aos grandes amigos de MESTRADO, pelo companheirismo.

À LUCIANA COSTA que com sua eficiência e tranquilidade sempre se mostrou pronta a ajudar.

“Tudo que vive não vive sozinho nem para si mesmo”.

William Blake

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e símbolos	8
Lista de figuras	9
Lista de tabelas	10
Resumo	11
Abstract	12
Introdução	13
Proposição	17
Revisão da Literatura	18
Materiais e Método	38
Resultados	44
Discussão	49
Conclusões	63
Referências	64
Anexo 1	68
Anexo 2	69
Anexo 3	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DNA= ácido desoxirribonucleico

dNTP= di-nucleotídeo fosfato (mistura de oligonucleotídeos)

g= gravidade

IL= interleucinas

Kb= kilo base

MgCl₂= Cloreto de magnésio

ml= mililitro

mM= milimolar

PCR= reação em cadeia da polimerase

Taq= *Termophilus aquaticus*

TNF α = fator de necrose tumoral alfa

U= unidade

V= volts (voltagem)

°C= graus centígrados

μ l= microlitros

μ M= micromolar

μ g= micrograma

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma	43
Figura 2: Foto da reação de amplificação do DNA para amostras do sulco perimplantar	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Iniciadores específicos, temperaturas de anelamento e produtos amplificados utilizados no teste PCR para as bactérias-alvo selecionadas para este trabalho	41
Tabela 2: Dados anamnésicos, clínicos e microbiológicos (PCR) dos 19 pacientes analisados	45

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar a presença de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* no sulco perimplantar de pacientes parcialmente edêntulos, relacionando o histórico de doença periodontal, a profundidade de sulco perimplantar e o sangramento à sondagem, com o risco de desenvolvimento de doença perimplantar.

Foram analisados 19 pacientes, dos quais 10 apresentavam histórico de doença periodontal. O teste utilizado para análise microbiológica foi a reação em cadeia da polimerase (PCR) e os resultados qualitativos demonstraram que pelo menos uma das bactérias estudadas estava presente em três sulcos perimplantares do grupo de pacientes com histórico de doença periodontal e em quatro pacientes do grupo sem histórico.

As conclusões deste estudo são que mesmo em pacientes sem histórico de doença periodontal, a presença dessas bactérias pode ser indicadora de risco mesmo na ausência de sinais clínicos inflamatórios, e ainda que o controle e manutenção pré e pós-operatórios são atitudes fundamentais para o sucesso do tratamento.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the presence of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from peri-implant sulcus of partially edentulous patients, verifying the relation between their historic of periodontal disease, the probing depth and the bleeding on probing, with the risk of developing peri-implantar disease.

Nineteen patients were analyzed, 10 of those having presented periodontal disease previously to the installation of dental implants. The test used for microbiological analyses was the PCR and the qualitative results demonstrated that at least one of the studied bacteria was present in three peri-implant sulcus of patients with historic of periodontal disease, and in four patients of the group without historic of periodontal disease.

The conclusion of this study is that even in patients without a history of periodontal disease, the presence of these bacteria can be a risk indicator even in the absence of inflammatory clinical signs, and the previous and post implantation support therapy are fundamental for the successful treatment.

INTRODUÇÃO

A partir da introdução e do aperfeiçoamento da técnica de osseointegração, a Implantodontia deixou de ser uma esperança da Odontologia para constituir-se em uma realidade clínica devidamente embasada em grande número de trabalhos de pesquisa e na grande porcentagem de sucessos monitorados durante muitos anos. Com relação a este aspecto, muitos estudos longitudinais demonstraram que os implantes osseointegrados constituem uma terapia bastante previsível para a reposição de dentes perdidos (RUTAR et al., 2001).

Entende-se por osseointegração a união estrutural e funcional entre o osso vivo e organizado e a superfície de um implante com carga funcional (In: BRANEMARK, ZARB, ALBREKTSSON, 1987). Clinicamente é caracterizada principalmente pela ausência de inflamação, mobilidade e dor e, radiograficamente, pela manutenção de tecido ósseo com aparência hígida ao redor do implante.

Os princípios da osseointegração definidos por Branemark na década de 1960 abriram nova possibilidade de reabilitação de desdentados totais, e posteriormente, suas indicações foram estendidas para a reposição de dentes ausentes em desdentados parciais.

A ocorrência de perda óssea de aproximadamente 1,0 a 1,5 mm na crista alveolar no primeiro ano de pós-operatório pode ser considerada normal. Após este período, a perda admitida como normal restringe-se a 0,1 mm em cada ano, mas de acordo com Mombelli (1997), existem algumas variações na dependência do sistema utilizado nessa avaliação. Para avaliar o sucesso da aplicação dos implantes, Albrektsson et al. (1986) propuseram alguns critérios como imobilidade, ausência radiográfica de zonas com reabsorção óssea, ausência de inflamação, dor ou

parestesia, sucesso em 85% dos casos após cinco anos e em 80% após 10 anos e perda óssea inferior a 0,2 mm no segundo ano de pós-operatório.

No início da utilização de implantes osseointegrados, acreditava-se erroneamente que os tecidos perimplantares não poderiam ser afetados por doença semelhante à periodontal, em virtude da inexistência do ligamento periodontal. Mas após alguns anos de utilização desse tipo de tratamento, começaram a ser observadas patologias perimplantares que muitas vezes resultavam na perda do implante.

Quando começaram a ocorrer esses insucessos, iniciaram-se os estudos das razões pelas quais implantes instalados em determinados pacientes e/ou sítios perdiam a osseointegração. As doenças perimplantares se apresentaram como um novo problema e os profissionais começaram a buscar soluções, que se iniciavam principalmente com o diagnóstico e tratamento precoces dessas doenças.

Os aspectos clínicos que caracterizam a perda de osseointegração relacionam-se basicamente à inflamação dos tecidos perimplantares, traduzida por sangramento espontâneo ou à sondagem do sulco perimplantar, mobilidade, dor e exsudação. Radiograficamente observa-se perda de tecido ósseo, principalmente ao redor das espiras mais coronárias do implante.

Denominou-se mucosite à inflamação restrita aos tecidos moles, sem perda óssea, e a inflamação dos tecidos perimplantares, acompanhada de perda óssea, foi denominada perimplantite. De acordo com Mombelli (1997), esta patologia só aparece após o processamento da osseointegração e apresenta as seguintes características: a) perda óssea vertical da crista alveolar (reabsorção em forma de taça), que não leva à mobilidade do implante; esta só ocorre quando da perda total da osseointegração; b) a perda óssea é associada com a formação de uma bolsa

perimplantar; c) sangramento após sondagem; d) pode também haver supuração; e) os tecidos podem ou não estar edemaciados; f) pode ocorrer hiperplasia especialmente em áreas com ausência de gengiva queratinizada; g) a dor não é um sinal característico.

Essas patologias foram observadas especialmente quando a técnica começou a se difundir e o protocolo inicial proposto para tratamento de desdentados totais com pouco rebordo alveolar começou a ser utilizado em vários tipos de pacientes e reabilitações e não só nos desdentados totais. Assim, muitos pacientes com edentulismo parcial começaram a receber implantes como alternativa à indicação de próteses convencionais fixas ou removíveis. Alguns tecidos perimplantares começaram a apresentar patologias e, assim, começou-se a observar um número maior de insucessos do que os ocorridos nos totalmente edêntulos, motivo pelo qual vários pesquisadores passaram a buscar a origem destas falhas na influência determinada pela microbiota patogênica dos dentes remanescentes.

As causas conhecidas de perda de osseointegração de implantes dentais são a infecção imediata (trans-cirúrgico) ou posterior (biofilme) dos seus tecidos de suporte e a ação de cargas oclusais excessivas (trauma), ambas independentes da ausência do ligamento periodontal. Uma constatação digna de realce é que, à semelhança das periodontopatias, diferentes pacientes que hospedam microbiota similar, às vezes apresentam grandes diferenças nas manifestações clínicas da doença perimplantar, fato invariavelmente relacionado com a qualidade e intensidade da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro. É importante enfatizar que a perimplantite não conduz obrigatoriamente à perda do implante, porque é passível de tratamento.

No que concerne à infecção tardia, as pesquisas (BAUMAN et al., 1992; GEORGE et al., 1994; QUIRYNEN, PAPAIOANNOU, van STEENBERGHE, 1996)

demonstram que existem diferenças qualitativas e quantitativas muito claras entre a microbiota instalada em implantes circundados por tecidos saudáveis e a microbiota presente em casos de doenças perimplantares. Demonstram, ainda, que existe grande semelhança entre as microbiotas típicas de doenças periodontais e as de doenças perimplantares.

Com o conhecimento atual da etiologia das doenças perimplantares, é possível estabelecer um plano de tratamento, manutenção e controle e alcançar, assim, um prognóstico mais favorável. Mas é evidente que novos estudos são necessários e bem-vindos para esclarecer aspectos ainda obscuros, principalmente os relativos à contribuição do hospedeiro para sua auto-agressão.

A infecção provavelmente se constitua na mais freqüente causa de insucesso de implantes devidamente osseointegrados e vários trabalhos (ROSENBERG, TOROSIAN, SLOTS, 1991; PAPAIOANNOU, QUIRYNEN, van STEENBERGHE, 1996; DE LORENZO, SIMIONATO, DE LORENZO, 1997) estabeleceram uma relação causa e efeito em pacientes portadores de doença periodontal prévia e a doença perimplantar.

Expostos estes fatos, fica evidente a importância da participação da microbiota patogênica para iniciar a maioria das doenças perimplantares. Em função de diferenças na microbiota e na resposta do hospedeiro, os pacientes podem ter diferentes possibilidades de desenvolver mucosite e/ou perimplantite. Assim, podemos estabelecer um perfil de risco antes mesmo da instalação de implantes, atuando preventivamente, quando necessário, ou tratando uma doença perimplantar já instalada baseando-nos em evidências científicas que preconizam a utilização de testes microbiológicos para auxiliar no diagnóstico e na terapêutica a ser instituída e, com isso, proceder a um tratamento com maior possibilidade de resultados eficazes.

PROPOSIÇÃO

Com base nos comentários apresentados no capítulo Introdução, este estudo foi executado com as seguintes propostas:

1. analisar, por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), a presença de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, sinalizadores do risco de doença, em sulcos perimplantares de pacientes com e sem doença periodontal prévia à instalação dos implantes;
2. verificar se o histórico de doença periodontal influi decisivamente na presença posterior dessas bactérias em sítios perimplantares aparentemente saudáveis;
3. aferir a importância do controle para verificação de risco posterior à cirurgia, principalmente em pacientes com histórico de doença periodontal.

REVISÃO DA LITERATURA

A superfície do implante, assim como a do dente, permite o acúmulo de placa bacteriana (biofilme dental) e, conseqüentemente, a partir de um limiar fisiológico de tolerância do hospedeiro, desenvolve-se uma inflamação da gengiva que, na região perimplantar, é denominada mucosite. Se o processo tiver prosseguimento, em função direta da contínua agressão microbiana e da própria resposta do hospedeiro, a mucosite pode evoluir para perimplantite, uma patologia caracterizada por perda óssea muito semelhante à que ocorre na periodontite. (SILVERSTEIN et al., 1994).

De acordo com De Lorenzo e Cavenague (capítulo de livro em fase de edição¹), o primeiro trabalho de pesquisa a relacionar bactérias com doença perimplantar foi publicado por Rams e Link em 1983; procedendo a exame, por microscopia eletrônica de transmissão, de material colhido ao redor de três implantes que apresentavam sangramento e bolsas com profundidades iguais ou superiores a 10 mm, os autores observaram nítida predominância de bactérias Gram negativas, com ênfase para espiroquetas.

As diferenças existentes entre a microbiota isolada de sítios perimplantares considerados saudáveis e a de sítios com perimplantite foram demonstradas, pela primeira vez, por Rams et al. (1984). Relataram que a microbiota associada aos implantes saudáveis é composta, na sua maioria, por cocos, à semelhança do que ocorre nos dentes naturais periodontalmente saudáveis. Por outro lado, os autores confirmaram o significativo aumento da freqüência de espiroquetas, que foi

¹ Microbiologia Perimplantar, capítulo do livro Microbiologia para Estudantes e Profissionais de Odontologia, de autoria de José Luiz De Lorenzo, a ser editado pela Ed. Atheneu, 2003.

associado ao aumento da inflamação e à profundidade da bolsa perimplantar, constatação freqüentemente observada nos casos severos de periodontopatias de natureza infecciosa.

Apenas uma década após a publicação desses estudos pioneiros, a literatura especializada já comportava grande número de evidências que suportam o conceito de que a microbiota aderida a implantes saudáveis é similar a aderida na superfície de dentes saudáveis (BAUMAN et al., 1992), enquanto que a microbiota de sítios com doença perimplantar é semelhante à de sítios dentais afetados por periodontite (BAUMAN et al., 1992; SILVERSTEIN et al., 1994). Por outro lado, estava praticamente demonstrado que as bolsas periodontais representam um reservatório natural de bactérias periodontopatogênicas aptas a infectar os sulcos perimplantares, levando a considerável risco de doença (BAUMAN et al., 1992). Vários autores também confirmaram os dados daqueles trabalhos pioneiros, relacionando a profundidade da bolsa com a presença de patógenos periodontais, especialmente espiroquetas (GEORGE et al., 1994; PAPAIOANNOU et al., 1995; QUIRYNEN, PAPAIOANNOU, van STEENBERGHE, 1996; LISTGARTEN e LAI, 1999).

Em 1986, Lekholm et al. publicaram um estudo comparativo das microbiotas periodontal e perimplantar em pacientes parcialmente edêntulos. Foram feitas biópsias de áreas periodontais e perimplantares e colhidas amostras de placa bacteriana, com o intuito de obter a contagem total de bactérias e a distribuição dos morfotipos e da microbiota cultivável. Os resultados desse estudo demonstraram que as microbiotas instaladas em torno dos implantes e dos dentes sadios são similares e que existe apenas um pequeno infiltrado de células inflamatórias em ambas as regiões.

Mombelli, Buser e Lang (1988) investigaram seqüencialmente a colonização bacteriana em implantes instalados em cinco pacientes edêntulos. A primeira amostra microbiológica foi coletada um dia antes e, a última, 180 dias após a instalação dos implantes; a análise foi feita por microscopia de campo escuro e cultivo de anaeróbios em meios seletivos e não seletivos; 86% dos microrganismos foram identificados morfológicamente como cocos, sendo 80% Gram positivos. Não ocorreram mudanças significativas nestas proporções, com exceção de um único caso, no qual houve diminuição do número de cocos e, simultaneamente, ocorreu aumento gradativo do número de bacilos fusiformes após 21 dias e de espiroquetas após 120 dias. Neste caso em particular observou-se, clinicamente, bolsa perimplantar de 6 mm e exsudação purulenta; estava, assim, caracterizada uma sucessão bacteriana, com o início da colonização por bactérias patogênicas.

Apse et al. (1989) examinaram a microbiota perimplantar de 21 pacientes, sendo 15 parcialmente edêntulos e seis edêntulos. A parte microbiológica do estudo incluiu microscopia de campo escuro, cultura para contagem de unidades formadoras de colônias de anaeróbios e identificação dos gêneros *Porphyromonas* e *Prevotella*. Ficou sugerido que, nos parcialmente edêntulos, os dentes servem como fonte de bactérias patogênicas que podem colonizar sítios perimplantares.

Em 1990, Quirynen e Listgarten publicaram um estudo no qual utilizaram microscopia de contraste de fase para comparar as amostras bacterianas subgingivais de dentes e implantes em pacientes parcialmente e totalmente edêntulos. A microbiota observada nos dentes foi praticamente semelhante à observada nos implantes. Os resultados demonstraram que a composição da placa bacteriana dos implantes instalados em parcialmente edêntulos (65,8% de cocos, 2,3% de bacilos móveis e 2,1% de espiroquetas) difere significativamente da

encontrada nos totalmente edêntulos (71,3% de cocos colonizadores iniciais, 0,4% de bacilos móveis e 0,0% de espiroquetas). Os resultados confirmaram a sugestão de Apse et al. (1989) de que os dentes naturais servem como fonte de bactérias para colonização inicial dos implantes de titânio na mesma boca e, assim sendo, influenciam a composição da placa subgingival do sulco perimplantar.

Sondas de DNA foram utilizadas por Becker et al. (1990) para avaliar a microbiota de sulcos perimplantares com profundidade maior do que seis milímetros. O teste molecular demonstrou níveis moderados de *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* e *P. gingivalis*, espécies reconhecidas como periodontopatógenas.

Mombelli e Mericske-Stern (1990) investigaram a microbiota cultivável de 18 pacientes edêntulos dois anos após a colocação de implantes que suportavam sobredentaduras. Bacilos Gram negativos anaeróbios constituíam apenas 7,3% da microbiota, *Fusobacterium* spp. e *P. intermedia* foram encontrados em 8,8% das amostras e *P. gingivalis* e espiroquetas não foram detectados. Em nove pacientes os testes clínicos e microbiológicos foram repetidos no segundo, terceiro, quarto e quinto anos e os resultados foram similares. Esses resultados demonstram que os pacientes totalmente edêntulos são capazes de manter uma microbiota estável contendo uma quantidade mínima de periodontopatógenos.

Alcoforado et al., em 1991, publicaram um estudo sobre a microbiota subgingival de 18 sítios perimplantares doentes, com o objetivo de avaliar a presença de patógenos periodontais e de bactérias não-bucais. Em cinco (41,7%) desses sítios, foram encontradas consideráveis proporções de bacilos entéricos (*Enterobacteriaceae*) e de *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus* spp. foi isolado de dois sítios (16,7%). A conclusão desse estudo é que tanto podem existir

microrganismos bucais quanto exógenos envolvidos no processo de falha de implantes e que essa diversidade microbiana sugere a necessidade de uma profunda análise microbiológica antes de ser instituída uma terapia antibiótica. Um importante motivo dessa recomendação foi o isolamento da levedura *Candida albicans* de cinco dos 18 sítios doentes. Na opinião dos autores, a presença desses microrganismos superinfectantes pode caracterizar uma infecção oportunista secundária à administração de antibióticos; consideraram, ainda, que a superfície do implante fornece um nicho ecológico artificial que favorece a colonização de microrganismos atípicos.

Rosenberg, Torosian e Slots em 1991 relataram que a microbiota presente ao redor de implantes falhos devido à sobrecarga oclusal difere, qualitativa e quantitativamente, da colonizada em implantes que haviam falhado por motivo de infecção. Afirmaram, por outro lado, que os patógenos periodontais que recobrem os implantes perdidos por trauma encontram-se em pequeno número e em baixa frequência; a maioria da microbiota, nesses casos, é constituída por bactérias encontradas em casos de implantes bem sucedidos: *Streptococcus sanguinis* em níveis superiores a 10% da microbiota total, *Streptococcus morbillorum* e *Actinomyces* spp., ambos na proporção de 0,1 a 1%.

Meffert, em 1992, referiu-se ao “mecanismo de semente”, observado em pacientes parcialmente dentados portadores de implante, querendo com isso expressar que bactérias presentes em bolsas periodontais dos dentes naturais podem infectar os sulcos perimplantares. Com isto, confirmou as observações anteriormente comentadas de Apse et al. (1989) e de Quirynen e Listgarten (1990).

A maturação das placas bacterianas supra e subgingival sobre o esmalte, o cimento e o titânio com diferentes tipos de tratamento de superfície, foi observada

por Gatewood, Cobb e Killoy (1993). Os resultados obtidos por microscopia eletrônica demonstraram similaridade entre as microbiotas formadas sobre os dentes e sobre os implantes; a formação de placa mineralizada subgengival foi observada no décimo dia do estudo.

Em 1993, Leonhardt et al. relataram um estudo em 19 indivíduos parcialmente edêntulos que foram tratados periodontalmente antes do tratamento com implantes. O objetivo era acompanhar por três anos a colonização dos tecidos perimplantares por patógenos suspeitos. Foram colhidas amostras subgengivais para detecção de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* e *Campylobacter rectus*. A freqüência dessas bactérias foi maior em pacientes parcialmente edêntulos do que em totalmente edêntulos; este fato pode significar que os parcialmente edêntulos hipoteticamente têm um risco maior de desenvolver perimplantite.

Outra observação do estudo é que apenas um mês após a exposição do conector, já se instalam bactérias periodontopatogênicas ao redor dos implantes. A microbiota, nesses casos, pode estar composta também por bactérias não comuns nesse ambiente, como *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Candida spp.*, caracterizando assim um ambiente bastante heterogêneo nos sítios perimplantares doentes. Portanto, a presença desses microrganismos no momento da instalação dos implantes influencia a colonização dos mesmos e os pacientes totalmente edêntulos podem ser considerados de baixo risco para a colonização de periodontopatógenos, devido à baixa freqüência desses microrganismos (LEONHARDT et al. 1993).

É importante realçar que a presença desses microrganismos suspeitos não necessariamente é acompanhada de sinais clínicos de reabsorção óssea e falha do implante, apesar de exercerem um papel fundamental na fase destrutiva. A

conclusão é que o insucesso dos implantes está relacionado com condições multifatoriais que incluem não só a atividade metabólica dos microrganismos, mas também a qualidade da defesa do hospedeiro (LEONHARDT et al 1993).

Koka et al. (1993) realizaram um estudo piloto para analisar, cronologicamente, a colonização bacteriana subgengival em 10 implantes instalados em quatro pacientes parcialmente dentados. Foram coletadas amostras de placa supragengival e subgengival de três dentes próximos aos implantes 14 e 28 dias antes da instalação dos cicatrizadores e 14 e 28 dias após o mesmo procedimento. Embora realizado com um número bem menor de pacientes e implantes, os resultados foram similares aos de Leonhardt e colaboradores, no mesmo ano, mostrando que a presença de patógenos já pode ser constatada 28 dias após a colocação do cicatrizador.

Em um estudo prospectivo multicêntrico (Austrália, Europa e Estados Unidos) foram analisados 460 implantes em 139 pacientes por três anos e apesar do pequeno percentual de implantes falhos (6,1%), observou-se que estes se concentravam em indivíduos com altos índices de placa bacteriana. Nos últimos 20 anos, os implantes colocados em pacientes com edentulismo total foram bastante documentados, mas os dados não podem ser extrapolados para implantes utilizados no edentulismo parcial (van STEENBERGHE et al., 1993).

Silverstein et al. (1994) sugeriram que a penetração de infiltrado inflamatório é mais rápida ao redor de implantes do que nos dentes naturais. Afirmaram que a lesão inflamatória pode progredir mais rápida e mais profundamente nos sítios perimplantares, já que não existe uma barreira natural de tecido conjuntivo, e que a mucosa perimplantar não é uma barreira previsível contra a inflamação. Este fato é importante, principalmente se levarmos em consideração a densidade óssea da

área e a anatomia dos vasos da região, fatores que podem alterar a velocidade da reabsorção óssea.

Baseados no trabalho de gengivite experimental em humanos publicado por Løe et al. em 1965, Pontoriero et al. (1994) compararam os parâmetros clínicos e microbiológicos aferidos durante o desenvolvimento da doença perimplantar em voluntários. Concluíram que existe uma relação causa e efeito entre o acúmulo de placa bacteriana após três semanas de ausência de higienização bucal e o desenvolvimento da mucosite. Esse modelo experimental permitiu aos autores ressaltar a importância da instituição de uma terapia de suporte para os implantes, semelhante à já preconizada para os dentes naturais.

Em estudo executado em 24 pacientes, George et al. (1994) examinaram clínica e microbiologicamente os sítios em torno de 98 implantes osseointegrados. Os resultados demonstraram que os patógenos associados com a periodontite estavam presentes mais comumente ao redor dos que apresentavam inflamação gengival, podendo contribuir para o aparecimento de perimplantite. Além disso, foram confirmadas maiores freqüências relativas (porcentagens da microbiota total) de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* em pacientes parcialmente dentados, quando comparadas com as presentes em desdentados totais.

O artigo publicado por Mombelli e Lang (1994) chamou a atenção para o fato de infecções em tecidos humanos ao redor de biomateriais como implantes, próteses valvulares e catéteres intravasculares responderem mal ao tratamento com antibióticos, sendo necessária, muitas vezes, a remoção desses dispositivos para que se consiga debelar a infecção. No entanto, salientaram que os modernos sistemas de implantes dentais fornecem fácil acesso para a execução de

procedimentos necessários para o controle direto da colonização bacteriana. Modelos animais e experimentos desenvolvidos “in vitro” podem revelar os mecanismos patogênicos dos microrganismos e estudos terapêuticos podem elucidar se a melhoria da condição clínica dos tecidos doentes pode ser conseguida pela redução ou erradicação dos patógenos suspeitos. Os autores reafirmaram que existem diferenças claras entre a composição da microbiota de implantes clinicamente saudáveis e a de casos de perimplantite. Sem dúvida, bactérias Gram negativas anaeróbias estritas estão envolvidas no desenvolvimento da patologia perimplantar, mas existem diferentes formas de doença perimplantar, incluindo as que apresentam etiologia infecciosa e as causadas por traumatismo oclusal (ROSENBERG, TOROSIAN e SLOTS, 1991), o que torna de grande valia os testes microbiológicos para o diagnóstico diferencial.

Em 1995, Mombelli et al. publicaram um estudo realizado com o objetivo de determinar a presença de patógenos na microbiota que coloniza implantes osseointegrados expostos há três e seis meses na boca de pacientes previamente tratados de periodontite. Os resultados demonstraram altas prevalências de patógenos periodontais Gram negativos anaeróbios (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Fusobacterium* spp., *Campylobacter rectus* e espiroquetas, mas não *A. actinomycetemcomitans*), após esses tempos de exposição.

Papaioannou et al. (1995) analisaram, em 297 pacientes, a relação entre a microbiota subgengival de 561 implantes e parâmetros periodontais como índices de placa e de sangramento gengival, profundidade de bolsa e sangramento à sondagem. O parâmetro mais fortemente relacionado com a microbiota dos implantes foi a profundidade do sulco perimplantar que, coincidentemente com os estudos realizados em dentes naturais, apresentou relação com a proporção

aumentada de espiroquetas. Concluíram, portanto, que a medida da profundidade desse sulco (especialmente quando maior que três milímetros) é o parâmetro clínico mais importante para se prever a composição da placa bacteriana subgingival.

Papaioannou, Quirynen e van Steenberghe, em 1996, confirmaram que o estado periodontal dos dentes remanescentes influencia a composição da microbiota subgingival dos implantes. Com o auxílio de sondas de DNA, ficou clara a presença das mesmas espécies bacterianas nos dentes naturais e nos implantes saudáveis, e de periodontopatógenos em grupos com periodontite crônica e refratária e perimplantite, especialmente em bolsas mais profundas.

Danser, van Winkelhoff e van der Velden, em 1997, investigaram a microbiota perimplantar de 20 pacientes totalmente edêntulos com histórico de doença periodontal e concluíram que a eliminação dos dentes remanescentes favorece um ambiente perimplantar desprovido de bactérias patogênicas como *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*.

Gouvoussis, Sindhusake e Yeung (1997) publicaram um estudo realizado em 25 dentes e implantes de nove pacientes, no qual investigaram a possibilidade de transmissão bacteriana de sítios com periodontite para sítios perimplantares da mesma boca. O método de detecção adotado foi a sonda de DNA para sete patógenos periodontais: *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Eikenella corrodens*, *F. nucleatum*, *Treponema denticola* e *Campylobacter rectus*. Os resultados mostraram que essa translocação é um acontecimento provável, tornando necessário um protocolo clínico no qual esteja prevista a eliminação de sítios de doença periodontal em pacientes candidatos a receber implantes dentais.

De Lorenzo, Simionato e De Lorenzo (1997) publicaram um artigo no qual apontaram a infecção perimplantar como a maior responsável pelas falhas de

implantes, especialmente em pacientes parcialmente edêntulos, nos quais a colonização por bactérias patogênicas provenientes de bolsas periodontais pode resultar em perimplantites que comprometem a osseointegração. Os autores fundamentaram os estados de saúde e de doença em bases ecológicas, comparando as sucessões microbianas que ocorrem nas transições do estado de saúde para as diferentes patologias seqüenciais do periodonto e da região perimplantar. Na situação de saúde, existe franco predomínio, no biofilme dental, de espécies Gram positivas facultativas com metabolismo predominantemente sacarolítico (colonizadores iniciais). As alterações ambientais determinadas pelo desenvolvimento do biofilme e pelo aumento de intensidade da resposta inflamatória vão gradativamente favorecendo o amplo predomínio de formas patogênicas Gram negativas anaeróbias estritas e proteolíticas.

Em 1998, Ellen publicou um artigo de revisão com o objetivo de avaliar o meio ambiente perimplantar e seu impacto em infecções clínicas, comparando com a etiologia microbiana da periodontite. O autor confirmou que a presença de dentes naturais é evidentemente um fator determinante da microbiota perimplantar.

Vários estudos (APSE et al., 1989; QUIRYNEN, LISTGARTEN, 1990; MEFFERT, 1992) já haviam sugerido que os patógenos periodontais podem ser transmitidos de dentes remanescentes para os sítios perimplantares e, também, que nos pacientes com higiene bucal deficiente observa-se maior reabsorção óssea em torno dos implantes do que naqueles que praticam higiene adequada. Em alguns, foi possível demonstrar que altos níveis de *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans* fazem aumentar o risco de novas perdas de inserção. Em vista desta situação, Mombelli, Buser e Lang (1998) sugeriram que quando existem evidências de perda óssea deve ser feita uma coleta de material para realização de

teste microbiológico, com o objetivo de se detectar a presença de microrganismos anaeróbicos.

Mombelli (1998) escreveu um artigo relacionando a idade dos pacientes com a microbiota periodontal e perimplantar; uma das suas considerações é que os implantes são mais utilizados em pacientes idosos e, portanto, considerações microbiológicas relacionadas à idade podem ser significativas. O autor considerou que *A. actinomycetemcomitans* parece estar muito mais relacionado a pacientes jovens e *P. gingivalis* a pacientes idosos.

Sbordone et al., em 1999, investigaram o estado clínico e a composição da microbiota subgingival em torno de 42 implantes e de dentes em 25 pacientes parcialmente edêntulos com histórico de periodontite. Este estudo longitudinal teve três anos de duração e os pesquisadores concluíram que não existe associação significativa entre as amostras periodontais e perimplantares em relação à perda de inserção, sugerindo que a presença de patógenos em sítios perimplantares e periodontais não deve ser associada com futuras perdas de inserção ou falha do implante, contrariamente à maioria dos estudos.

Em 1999, Leonhardt, Renvert e Dahlén descreveram um estudo em 88 pacientes, para avaliar as diferenças qualitativas na microbiota subgingival instalada ao redor de implantes do sistema Branemark que apresentavam sinais clínicos e radiográficos de perda de inserção (perimplantite), em relação à microbiota presente em implantes envolvidos por tecidos saudáveis. A avaliação foi feita por cultivos bacterianos. De 60% dos sítios com perimplantite, os autores isolaram *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* e *A. actinomycetemcomitans*. Do material coletado de 55% dos sítios doentes, foram isolados *Staphylococcus* spp., bacilos entéricos e *Candida* spp., habitantes não-usuais da microbiota bucal,

confirmando os dados de Alcoforado et al. (1991) e de Leonhardt et al. (1993). Em contraste, os implantes circundados por tecidos saudáveis apresentavam uma microbiota associada com a saúde periodontal.

Listgarten e Lai (1999), analisando material colhido de 41 pacientes com perimplantite por cultivo bacteriano, imunofluorescência e microscopia de campo escuro, constataram que as espécies mais freqüentemente detectadas foram *Bacteroides forsythus*, espiroquetas, *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus micros* e *P. gingivalis* que, na opinião dos autores, são mais relacionadas com periodontites refratárias do que com a crônica.

Lee et al. (1999) descreveram que a complexidade e a alteração da microbiota são diretamente proporcionais ao aumento da carga, mas confirmaram os dados já analisados segundo os quais a maior influência sobre a microbiota perimplantar é exercida pela microbiota dos dentes remanescentes. Verificaram que a colonização por patógenos periodontais foi maior em indivíduos com doença periodontal prévia. O uso de sondas de DNA permitiu a detecção dos patógenos periodontais que constituem o “complexo vermelho” do biofilme subgengival, descrito por Socransky et al. em 1998 (*P. gingivalis*, *B. forsythus* e *T. denticola*), ao redor de implantes saudáveis, podendo indicar aumento do risco de problemas futuros.

Além disso, as infecções associadas com artefatos implantados apresentam características que as distinguem das demais, pois tendem a cronicidade, indicando que seus agentes biológicos realmente criam mecanismos de resistência (evasão) às defesas do hospedeiro e por vezes só são eliminados quando da remoção do implante. Em parcialmente edêntulos, a microbiota dental parece ser uma fonte adicional de bactérias que, quando organizadas num biofilme, se tornam mais protegidas de mecanismos defensivos como a fagocitose (MOMBELLI, 1999).

van Winkellhoff et al. (2000) estudaram a colonização de sulcos perimplantares por patógenos suspeitos em 20 pacientes parcialmente edêntulos no dia da instalação dos implantes, imediatamente após a colocação de carga e seis e 12 meses após. Na data-base, as espécies mais isoladas foram *F.nucleatum*, *P.intermedia* e *P. micros*; nove pacientes apresentavam *B. forsythus*, três apresentavam *P. gingivalis* e dois apresentavam *A. actinomycetemcomitans*. Os exames procedidos após a instalação das próteses mostraram níveis apreciáveis da maioria dessas espécies, com exceção de *A. actinomycetemcomitans*. Dois casos de insucesso, um com fístula e outro com perda do implante, foram associados com altas contagens de *P. gingivalis*. Os autores concluíram que um apropriado controle da infecção antes da instalação dos implantes pode prevenir complicações.

van Winkellhoff e Wolf (2000) observaram a presença de *A. actinomycetemcomitans* e de anaeróbios estritos relacionados com a perimplantite, em um paciente edêntulo com histórico de periodontite severa. Apesar da medicação sistêmica utilizada (amoxicilina e metronidazol), dois dentes remanescentes conservados por razões protéticas foram sugeridos como fontes desses patógenos periodontais, que colonizaram os sítios perimplantares e que, apenas três meses após a instalação dos implantes, causaram a perda de osseointegração de um deles.

Um estudo longitudinal publicado por Mengel, Schröder e Flores-de-Jacoby em 2001, não encontrou diferenças significativas na distribuição dos microrganismos aderidos a dentes e a implantes, em apenas cinco pacientes com periodontites crônica e agressiva generalizadas previamente tratadas. A metodologia microbiológica empregada consistiu em microscopia de campo escuro e uso de sondas de DNA para a identificação bacteriana. Com relação aos parâmetros

clínicos analisados, a única diferença encontrada foi o nível de acúmulo de placa bacteriana, que foi maior nos implantes, fato atribuído à alta energia livre existente na superfície do titânio. Esta constatação, em nossa opinião, poderia ser explicada pelo fato de essa energia livre poder facilitar a deposição e a formação da película de glicoproteína salivar sobre a qual certas espécies bacterianas encontram excelentes condições para aderir, pois nela encontram receptores específicos.

Em um estudo retrospectivo, Rutar et al. (2001) avaliaram as condições clínicas e microbiológicas de 64 implantes em 45 pacientes parcialmente dentados, sem histórico de doença periodontal, cinco a 10 anos após sua instalação. O objetivo foi verificar a possível relação entre as condições dos tecidos de suporte e a história dental e sistêmica desses pacientes. Foi observada uma relação significativa entre a profundidade da bolsa perimplantar, a contagem total de microrganismos anaeróbios e a frequência de detecção de *P. gingivalis*. Verificou-se, ainda, que os implantes acometidos por perimplantite em estágio inicial respondiam bem à “terapia de suporte interceptativa acumulativa”. Os autores defenderam a idéia de que, para maior longevidade dos implantes, são importantes o controle periodontal e o diagnóstico precoce da infecção. Alguns pacientes com microbiota similar às vezes apresentam grandes diferenças nas manifestações clínicas, fato invariavelmente relacionado com a resposta do hospedeiro (NEWMAN e MARINHO, 1994).

Leonhardt et al. (2002) publicaram um estudo longitudinal de 10 anos realizado em 15 indivíduos com histórico de periodontite avançada, totalizando 57 implantes, com o objetivo de se fazer um seguimento dos parâmetros clínicos, radiográficos e microbiológicos dos implantes. Neste trabalho foram coletadas amostras de placa bacteriana dos dentes que apresentavam maior profundidade de bolsa e dos

implantes sem bolsa; após 10 anos, dos 15 indivíduos, sete eram positivos para placa bacteriana e 61% apresentavam sangramento à sondagem ao redor dos implantes, o que poderia indicar inflamação dos tecidos perimplantares; 35% dos pacientes apresentavam sangramento à sondagem nos dentes naturais.

Os autores concordam com outros estudos que observaram que há uma diferença na composição da microbiota, relacionada à profundidade de bolsa, considerando que bolsas periodontais profundas podem contribuir para uma mudança na microbiota subgengival, predispondo o sítio à doença; no entanto a profundidade de bolsa é um parâmetro difícil de se comparar, já que os tecidos moles que circundam os dentes e os implantes apresentam diferenças anatômicas e histológicas. Ao mesmo tempo, concluíram que o histórico de doença periodontal (indivíduos suscetíveis a periodontites e portanto à presença dos patógenos periodontais) é um fator que pode afetar a longevidade do tratamento com implantes (LEONHARDT et al., 2002).

Apesar de ainda haver discussões sobre as causas de falha dos implantes serem de natureza microbiológica ou carga excessiva, os fatores bacterianos podem iniciar mudanças nos tecidos que podem levar a perdas ósseas e aumento na profundidade de bolsas. Segundo os autores, os resultados desse estudo sugerem que a presença dos patógenos suspeitos nos implantes não necessariamente influencia o resultado e a longevidade do tratamento. A explicação aventada é que essas espécies bacterianas fazem parte da microbiota residente e, na maioria dos indivíduos, podem ser detectadas por acaso (LEONHARDT et al., 2002).

Conforme anteriormente referido, um fato extremamente importante a ser considerado é que as bactérias presentes no biofilme fixado em biomateriais são

muito mais resistentes a antibióticos e às defesas do hospedeiro do que as não aderidas (SOCRANSKY e HAFFAJEE, 2002) conseguindo muitas vezes persistir até que o dispositivo implantado seja removido, confirmando as observações de Mombelli e Lang (1994). Esses dispositivos aumentam a suscetibilidade a infecções e, se os mecanismos de defesa estiverem desequilibrados, pequenas concentrações de microrganismos são suficientes para desencadear um processo infeccioso nos tecidos vizinhos. O desenho e a superfície do biomaterial implantado também interferem na colonização bacteriana (ESPOSITO et al., 1998).

Mombelli (2002) publicou uma revisão na qual ressaltou que perimplantite não é sinônimo de implante falho, pois é passível de tratamento tanto quanto os dentes com periodontite. Citou um estudo seu anterior (MOMBELLI et al., 1987) relatando que implantes com sinais de inflamação e com sulcos maiores que cinco milímetros são colonizados por diferentes microrganismos como *F. spp.* e *P. intermedia*, quando comparados com implantes sem sinais de inflamação e menores profundidades de sulcos perimplantares. Os indivíduos parcialmente edêntulos com histórico de doença periodontal devem ser considerados de alto risco para o desenvolvimento da perimplantite, já que são suscetíveis à periodontite e à translocação de patógenos periodontais.

A transmissão de patógenos periodontais dos dentes para regiões perimplantares foi estudada por Sumida et al. (2002). O exame microbiológico, executado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e por cultivo bacteriano, sugeriu que parece haver transmissão de *P. gingivalis* e de *P. intermedia*.

Em excelente artigo de revisão, Quirynen, De Soete e van Steenberghe (2002) reuniram os conhecimentos relativos aos riscos de infecção em Implantodontia. Esclareceram que a perda precoce do implante não deve ser confundida com

perimplantite, pois esta é caracterizada por perda do osso de suporte de um implante somente após a colocação de carga.

Várias são as fontes de infecção inerentes ao ato trans-cirúrgico, tais como instrumental, luvas, ar da sala cirúrgica, ar expirado pelo paciente, saliva e região peribucal. Um bochecho com solução de clorexidina, realizado no pré-operatório imediato, reduz na ordem de 95% o número de bactérias viáveis na saliva, assim como a antissepsia prévia do epitélio peribucal reduz consideravelmente a microbiota presente nessa região (QUIRYNEN, DE SOETE e van STEENBERGHE, 2002).

Na superfície do implante, a ausência de cimento com fibras colágenas inseridas, pode conduzir ao desenvolvimento de placa bacteriana intra-sulcular mais rápido do que o observado nos dentes. Dentre os fatores determinantes de maior retenção e acúmulo de placa bacteriana, deve-se considerar a superfície rugosa do implante. A higiene bucal tem grande significado na manutenção do tecido ósseo ao redor do implante, pois sabe-se que sua deficiência acarreta aumento do risco de perda óssea. A composição da microbiota perimplantar está diretamente relacionada com o estado de saúde da boca do paciente e com o desenho e a textura da superfície do implante (QUIRYNEN, DE SOETE e van STEENBERGHE, 2002).

Os autores ressaltaram, por outro lado, que as alterações dos tecidos moles e duros, caracterizadas clinicamente por aumento da profundidade de bolsa e severa perda de inserção, estão associadas com mudanças (sucessões) da composição da microbiota subgengival. No biofilme presente em regiões perimplantares saudáveis, são demonstradas altas proporções de cocos e baixas proporções de anaeróbicos e, principalmente, de patógenos periodontais. Em casos de perimplantites,

notadamente em pacientes parcialmente edêntulos, diversos pesquisadores descreveram expressivos aumentos da contagem total de bactérias, com destaque para as Gram negativas em geral, e das proporções relativas de patógenos reconhecidos (*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* e outros), de organismos móveis e de espiroquetas; em contrapartida, observa-se severa diminuição da proporção de *Streptococcus* spp. e de outros colonizadores iniciais. A grande maioria das espécies mais freqüentemente isoladas de sítios perimplantares doentes é também associada com a periodontite crônica severa e com a forma agressiva, sendo por isso consideradas de grande virulência. Microrganismos considerados como transitórios (incomuns na microbiota bucal residente), como *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*, *Candida albicans* e *Staphylococcus* spp., têm sido relacionados com alguns casos de periodontite refratária e perimplantite (QUIRYNEN, DE SOETE e van STEENBERGHE, 2002).

Um fato importante é que esses microrganismos possuem elevada resistência aos antibióticos comumente utilizados, o que sugere que sua presença pode representar uma colonização secundária oportunista após a utilização sistêmica dessas drogas. O aspecto de alta relevância para nosso trabalho, devidamente enfatizada pelos autores dessa revisão, é que as bolsas periodontais são fontes de microrganismos altamente patogênicos e sua translocação para sítios perimplantares, em pacientes parcialmente edêntulos, representa provavelmente o principal fator de risco de insucesso. Essa possibilidade faz com que, no planejamento do tratamento com implantes, por vezes seja indicada a remoção de um ou mais dentes com sinais evidentes de periodontite avançada (QUIRYNEN, DE SOETE e van STEENBERGHE, 2002).

Como parece inquestionável que os sítios perimplantares de parcialmente edêntulos podem ser colonizados por patógenos periodontais provenientes de alterações periodontais nos dentes remanescentes, fica reforçada a necessidade de um rigoroso controle e tratamento desses casos, individualizando as necessidades de cada paciente. Mas apesar de todas as evidências discutidas, Quirynen e seus colaboradores em 2002 concluíram que o histórico de doença periodontal ainda tem um significado desconhecido em pacientes portadores de implantes e a opinião desses credenciados autores nos leva a inferir que não se trata de um assunto “fechado” como parecia e que novos estudos ainda são necessários para seu maior esclarecimento.

Torna-se importante ressaltar, encerrando este capítulo, que não nos foi possível encontrar, na literatura especializada, nenhum trabalho nesse sentido executado na população brasileira.

MATERIAIS E MÉTODO

PACIENTES

Para atender ao propósito da nossa pesquisa foram selecionados 19 pacientes parcialmente edêntulos, portadores de implantes há mais de um ano. Dez pacientes apresentavam histórico de doença periodontal e nove não, sete eram do sexo masculino e 12 do sexo feminino e as idades variaram entre 30 e 64 anos.

Todos os pacientes receberam uma Carta de informação e assinaram um Termo de consentimento livre e esclarecido para sua participação nessa pesquisa.

Os 19 pacientes foram escolhidos por dados obtidos na anamnese, feita com o propósito de excluir os que haviam sido submetidos a antibioticoterapia ou a tratamento imunossupressor nos últimos três meses, ou a tratamento periodontal nos últimos dois meses. Todos se apresentavam, no momento do exame clínico e da coleta de material, sem nenhum sinal ou sintoma de alterações sistêmicas.

EXAME CLÍNICO DO TECIDO PERIMPLANTAR

Com a finalidade de testarmos as prováveis correlações entre os dados clínicos e os resultados microbiológicos, os pacientes selecionados foram examinados quanto à profundidade de sulco perimplantar e à ocorrência de sangramento à sondagem, procedimentos básicos próprios do controle pós-operatório. Para tanto, foram utilizadas sondas milimetradas de teflon, apropriadas para utilização em sulcos perimplantares e superfícies de titânio. Os implantes examinados foram escolhidos ao acaso quando o paciente era portador de mais de um.

COLETA DO MATERIAL

Após a anotação dos dados referentes aos parâmetros clínicos, procedeu-se à coleta do material perimplantar. Para tanto, após cuidadosa remoção do biofilme supragengival com curetas de teflon, foi feito um isolamento relativo do campo de procedimento, utilizando-se roletes de algodão. O material do sulco perimplantar foi, então, coletado com o auxílio de dois cones de papel absorvente esterilizados*. Para cada sítio analisado foram utilizados dois cones, que foram introduzidos na região do sulco perimplantar o mais apicalmente possível, permanecendo no local por 60 segundos (BECKER et al., 1990). Em seguida, os cones foram transferidos para um tubo eppendorf contendo 400 µl de água ultra-pura Milli-Q esterilizada**. Assim, o material coletado foi conservado sob refrigeração a 4°C e transportado para o Laboratório de Anaeróbios do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Mario Julio Avila-Campos.

*Dentsply Brasil® - tamanho 40

**Millipore Ltda., S.P.

DETECÇÃO BACTERIANA PELA REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Para a detecção bacteriana foi escolhido o PCR, um teste molecular caracterizado pela sua sensibilidade e alta especificidade. Neste estudo, detectou-se a presença do DNA das seguintes bactérias: *A.*

actinomycetemcomitans, *P. gingivalis* e *P.intermedia* espécies consideradas, pela grande maioria dos autores, como representativas (indicadoras) dos quadros severos de periodontite e de perimplantite, e de risco para o desenvolvimento destas doenças.

Inicialmente, as amostras clínicas foram processadas para extração do DNA bacteriano pelo método de fervura a 100°C durante 15 minutos (AVILA-CAMPOS e VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2002). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 14.000 g durante 10 minutos e o sobrenadante (DNA) foi utilizado imediatamente ou estocado a -20°C.

A amplificação do DNA foi realizada em volumes finais de 25 µl, contendo 2,5 µl de tampão PCR (10X) 1,25 µl de MgCl₂ (50 mM), 1,0 µl da mistura de dNTP (0,2 mM), 1,0 µl de cada iniciador específico (0,4 µM), 0,25 µl de *Taq* DNA polimerase (0,5 U), 8,0 µl de H₂O Milli-Q esterilizada e 10 µl de DNA. Os pares de iniciadores utilizados foram sintetizados segundo Ashimoto et al. (1996) e Avila-Campos et al. (1999), como pode ser observado na Tabela 1.

*Gibco BRL, São Paulo, S.P.

Tabela 1. Iniciadores específicos, temperaturas de anelamento e produtos amplificados utilizados no teste PCR para as bactérias-alvo selecionadas para este trabalho.

Iniciadores	Seqüência 5' → 3'	Temperatura de anelamento	Produto amplificado
Aa	GCA GGA TCC ATA TTA AAT CTC CTT GT CCG GTC GAC AAC CTG ATA ACA GTA TT	55°C	0,5 Kb
Pg	GGC TTG AGT TCA GCG GCG GCA G CCC CGA AGG AAG ACG GTT TTC ACC ATC AG	60°C	0,6 Kb
Pi	AAC GGC ATT ATG TGC TTG CAC CTC AAG TCC GCC AGT TCG CG	50°C	0,4Kb

LEGENDAS: Aa = *A. actinomycetemcomitans*

Pg = *P. gingivalis*;

Pi = *P. intermedia*

G = Guanina

C = Citosina

A = Adenina

T = Timina

A reação de amplificação foi realizada em termociclador (Perkin Elmer, Gene Ampl PCR System 9700) programado para: um ciclo de 94°C por cinco minutos, 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50°C, 55°C ou 60°C (segundo cada par de iniciadores específicos, por 30 segundos); e um ciclo a 72°C por cinco minutos.

Os produtos da amplificação foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1%, em fonte de corrente* a 70 V por duas horas e 30 minutos. Após o tempo da corrida, o gel foi corado com brometo de etídio (0,5 µg/ml), observado e fotografado sobre transiluminador ultra-violeta utilizando-se o sistema Kodak Digital Science System-DC 120. Como controle de peso molecular foi usado 1 Kb DNA ladder**.

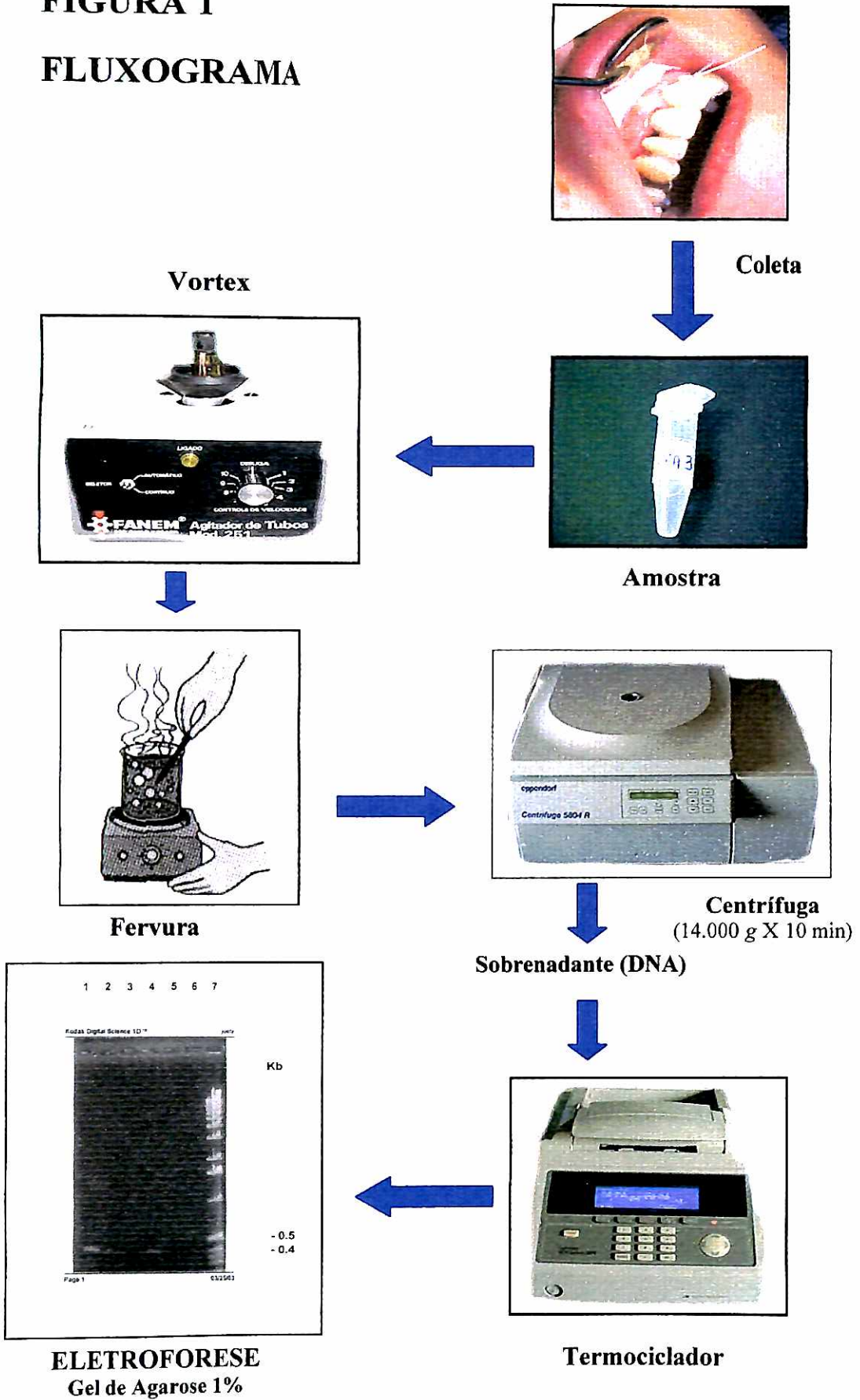
*Biorad®

**.(Gibco BRL®, Life Technologies Laboratories, São Paulo, S.P.).

Em todos os testes como controle negativo foi usada água e como controle positivo a fita de DNA do microrganismo pesquisado.

A seqüência dos procedimentos está expressa no fluxograma na folha seguinte, figura 1.

FIGURA 1 FLUXOGRAMA



RESULTADOS

Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 2, que reúne os dados referentes aos parâmetros clínicos, histórico ou não de doença periodontal, profundidade do sulco perimplantar, sangramento à sondagem, tabagismo, idade, sexo e tempo de instalação cirúrgica do implante e aos resultados do procedimento microbiológico.

Tabela 2. Dados anamnésicos, clínicos e microbiológicos (PCR) dos 19 pacientes analisados.

PACIENTES	HDP	P S P I	S S	FUMO	IDADE	SEXO	T C	RESULTADOS
AMOSTRA 1	S	2mm	S	N	63	M	24 meses	–
AMOSTRA 2	S	3mm	S	N	53	F	18 meses	–
AMOSTRA 3	S	3mm	S	N	46	F	36 meses	–
AMOSTRA 4	S	5mm	S	N	53	M	30 meses	<i>Pg, Pi, Aa</i>
AMOSTRA 5	N	2mm	S	N	30	F	36 meses	<i>Pi, Aa</i>
AMOSTRA 6	S	1mm	N	N	63	M	12 meses	–
AMOSTRA 7	S	3mm	S	N	64	F	24 meses	–
AMOSTRA 8	N	1mm	N	N	58	F	18 meses	<i>Pg</i>
AMOSTRA 9	S	2mm	N	N	53	F	48 meses	<i>Pg</i>
AMOSTRA 10	N	2mm	N	N	49	M	22 meses	–
AMOSTRA 11	S	1mm	S	S	50	F	12 meses	<i>Pg</i>
AMOSTRA 12	N	4mm	N	S	39	M	60 meses	–
AMOSTRA 13	S	2mm	N	N	52	M	36 meses	–
AMOSTRA 14	N	3mm	N	N	63	F	18 meses	–
AMOSTRA 15	S	3mm	N	S	61	F	48 meses	–
AMOSTRA 16	N	2mm	N	N	37	F	36 meses	–
AMOSTRA 17	N	1mm	N	N	53	F	36 meses	<i>Pg</i>
AMOSTRA 18	N	3mm	S	N	44	F	48 meses	<i>Pg, Pi</i>
AMOSTRA 19	N	1mm	N	N	43	M	120 meses	–

SIGLAS:

- HDP = HISTÓRICO DE DOENÇA PERIODONTAL
 PSP I = PROFUNDIDADE DO SULCO PERIMPLANTAR
 SS = SANGRAMENTO À SONDAGEM
 TC = TEMPO APÓS A CIRURGIA DE INSTALAÇÃO DO IMPLANTE
Pg = *P. gingivalis*
Pi = *P. intermedia*
Aa = *A. actinomycetemcomitans*

A leitura dessa tabela mostra que dos 10 pacientes que apresentavam doença periodontal antes da instalação do implante, apenas três apresentavam o material genético de pelo menos um dos três patógenos em suas amostras perimplantares e que esse índice de positividade foi maior nos que não apresentavam histórico da doença.

As amostras provenientes dos pacientes 4 e 5 foram positivas para *A. actinomycetemcomitans*.

As amostras provenientes dos pacientes 4, 8, 9, 11, 17, 18 foram positivas para *P. gingivalis*.

As amostras provenientes dos pacientes 4, 5, 18 foram positivas para *P. intermedia*.

Na amostra proveniente do paciente 4 foi detectada a presença do material molecular dos três patógenos analisados.

Na amostra do paciente 5 foram encontrados, conjuntamente, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans*.

Associação entre *P. gingivalis* e *P. intermedia* foi encontrada na amostra número 18.

Com relação a estes resultados, devemos observar que os pacientes 4, 9, 11 apresentavam histórico de doença periodontal, enquanto que os pacientes 5, 8, 17 e 18 não apresentavam.

O resultado obtido na análise molecular da amostra 4 chama a atenção por ela ter sido positiva para as três bactérias pesquisadas; clinicamente observa-se que a profundidade perimplantar (5 mm) foi a maior encontrada em todos os casos analisados, acompanhada por sangramento à sondagem. Este paciente tem histórico de doença periodontal severa.

Já a paciente 5, que se apresentou positiva para *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans*, é a mais jovem inserida neste estudo e não apresenta histórico de doença periodontal. Apesar de a profundidade do sulco perimplantar ser de apenas 2 mm, foi verificada a ocorrência de sangramento à sondagem.

As amostras 8 e 17 referem-se a pacientes sem histórico de doença periodontal, que embora apresentem apenas 1 mm de profundidade de sulco perimplantar e ausência de sangramento à sondagem, apresentaram-se positivas para *P. gingivalis*.

A amostra 9, coletada de paciente com histórico de periodontopatia, apresentou-se positiva para *P. gingivalis*; no entanto, a análise clínica mostrou profundidade de sulco perimplantar de 2mm e ausência de sangramento à sondagem.

A amostra 11, referente a uma paciente com histórico de doença periodontal, apresenta positividade para *P. gingivalis*; nesse caso foi verificado sangramento à sondagem, apesar da pequena profundidade do sulco perimplantar (1mm).

A amostra 18, positiva para *P. gingivalis* e *P. intermedia*, é proveniente de uma paciente sem histórico de doença periodontal, mas que apresentou 3 mm de profundidade do sulco perimplantar e sangramento à sondagem.

Os pacientes 1, 2, 3, 6, 7, 13 e 15 têm histórico de doença periodontal e não se apresentaram positivos para nenhum dos três microrganismos pesquisados.

Os pacientes 10, 12, 14, 16 e 19 não têm histórico de doença periodontal e não se apresentaram positivos para os microrganismos pesquisados.

Na figura 2 encontra-se a foto da reação de amplificação de DNA de *Prevotella intermedia* executada em cinco das amostras de sulco perimplantar e nos controles positivo e negativo.

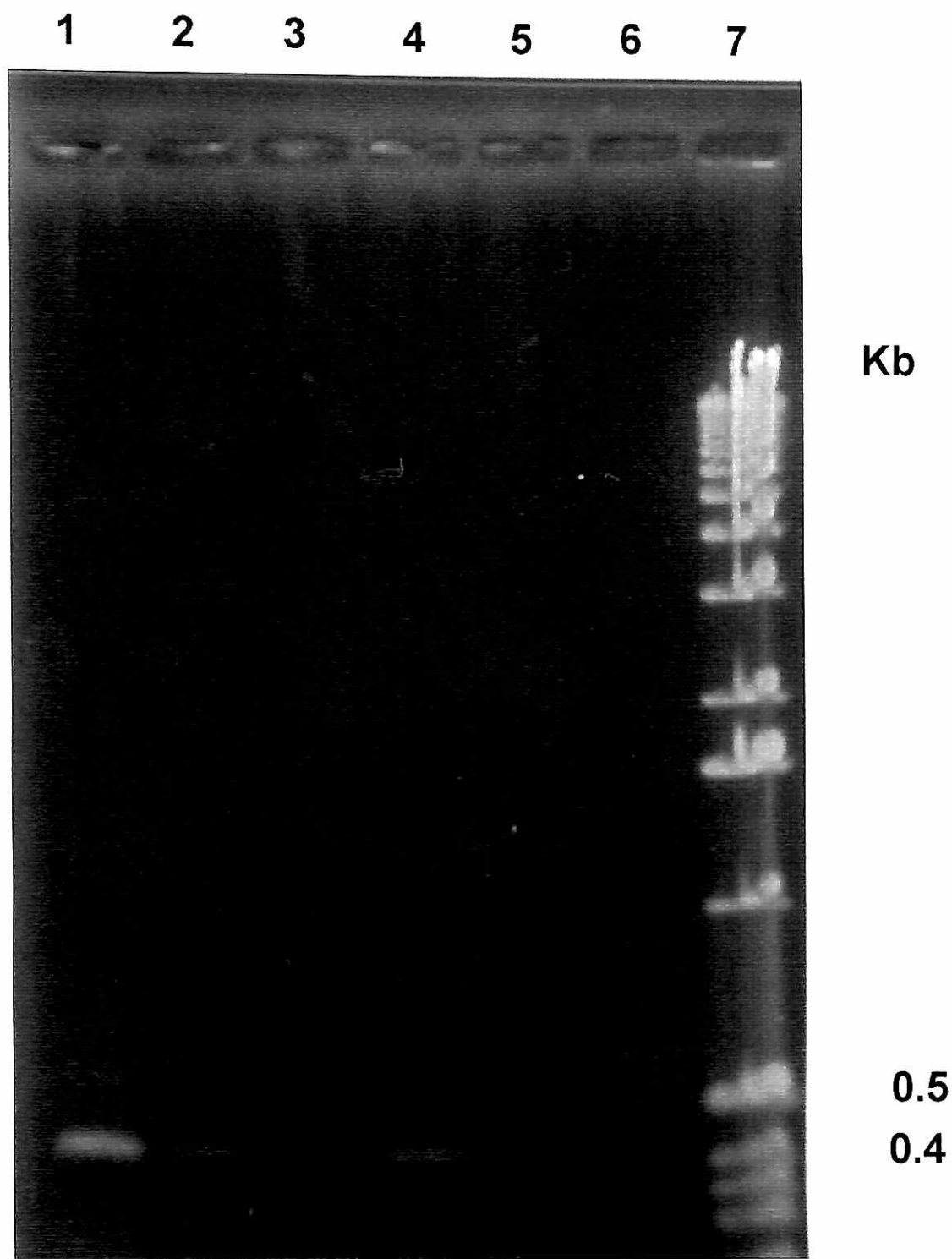


Fig. 2: Reação de amplificação de DNA para amostras de sulco peri-implantar. Linha 1: amostra 4, linha 2: amostra 5, linha 4: amostra: 18. Linha 6: controle negativo, linha 7: controle de peso molecular 1 Kb DNA ladder.

DISCUSSÃO

A nossa pesquisa pretende contribuir para o esclarecimento do papel do histórico de doença periodontal e as bactérias relacionadas à doença, em pacientes portadores de implantes, e o seu risco de desenvolver perimplantite.

Embora Quirynen, De Soete e Van Steenberghe (2002) tivessem exposto uma dúvida sobre essa questão, todas as evidências científicas apresentadas no capítulo Revisão da Literatura apontam que este é um fato real. Inicialmente é importante destacar que a instalação de bactérias periodontopatogênicas ao redor de implantes instalados em parcialmente edêntulos com histórico de doença periodontal foi constatada cerca de 30 dias após a colocação de cicatrizadores (LEONHARDT et al., 1993, KOKA et al., 1993).

Mombelli et al. (1995) descreveram o encontro de altas porcentagens de patógenos, com exceção de *A. actinomycetemcomitans*, três e seis meses após a exposição dos implantes ao meio ambiente bucal. Por outro lado, devemos levar em conta, na discussão dos resultados por nós obtidos, que Leonhardt et al. (1993), Sbordone et al. (1999) e Leonhardt et al. (2002) propuseram que a simples presença de bactérias patogênicas nos sítios perimplantares não deve ser associada com futuras perdas de inserção do implante, deixando-nos antever que outros fatores importantes devem ser considerados.

A presença de microrganismos, isoladamente, não significa que já esteja estabelecido um processo destrutivo, sendo também necessário o desequilíbrio da relação microbiota-hospedeiro para que se inicie um processo inflamatório clinicamente significativo nos tecidos perimplantares (HEYDENRIJK et al., 2002).

Assim o histórico de periodontite, mesmo na forma agressiva, não constitui-se obrigatoriamente em contra-indicação para o tratamento com implantes osseointegrados. Na verdade, estes pacientes podem receber implantes bucais desde que submetidos a um tratamento periodontal prévio e a um controle profissional pós-operatório rigoroso e freqüente, para tentarmos evitar a ocorrência de perdas ósseas rápidas que possam comprometer o sucesso do tratamento com implantes.

É possível observar que pacientes com histórico de doença periodontal, quando submetidos à terapia periodontal de suporte, conseguem manter-se clinicamente saudáveis, ainda que se apresentem positivos para presença de algumas bactérias patogênicas. A possibilidade de detecção aumenta quando a identificação de patógenos é feita por métodos moleculares como o PCR, que detecta bactérias viáveis e não viáveis mesmo em pequeno número, mas de forma qualitativa, visto que sua forma quantitativa conduz a resultados supositivos.

No entanto, parece confirmado que a presença de uma freqüência considerável de um ou mais patógenos periodontais faz aumentar o risco de doença (LEONHARDT, RENVERT e DAHLÉN, 1999), o que pode significar que pacientes com histórico de doença periodontal são mais suscetíveis à doença perimplantar.

Os trabalhos científicos comentados na Revisão da Literatura estabelecem forte relação entre a microbiota e a doença perimplantar e demonstram que pacientes parcialmente edêntulos portadores de implantes apresentam microbiota similar nos sítios em torno dos dentes e dos implantes. Já em 1984 Rams et al. observaram a semelhança entre as microbiotas colhidas de periodonto e de implantes. Por outro lado, as diferenças nas composições da microbiota de regiões perimplantes saudáveis e doentes ficaram demonstradas por vários estudos, nos

quais foi observado um fenômeno de sucessão bacteriana análogo ao que ocorre quando da instalação da doença periodontal (LEKHOLM et al., 1986; QUIRYNEN, LISGARTEN, 1990; GATEWOOD, COBB e KILLEY, 1993).

A partir da formulação do conceito de especificidade da placa dental (LOESCHE, 1976), uma gama enorme de estudos foi executada com o objetivo de elucidar quais são as bactérias relacionadas aos fenômenos de perda óssea alveolar e a conseqüente perda de inserção dental. Utilizando técnicas que vão desde a coloração de Gram, microscopia com contraste de fase e campo escuro, testes enzimáticos, métodos imunológicos e, nas duas últimas décadas, até testes moleculares ou genéticos, temos hoje a possibilidade de identificar, com segurança, os microrganismos presentes nos sítios pesquisados. De acordo com pesquisadores de grande prestígio (SLOTS et al., 1986; BECKER et al., 1990; ALCOFORADO et al., 1991; LEONHARDT et al., 1993; GEORGE et al., 1994; MOMBELLI et al., 1995; RAMS et al., 1996; LEONHARDT, RENVERT e DAHLÉN, 1999; QUIRYNEN, DE SOETE e van STEENBERGHE, 2002), as espécies *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans* estão associadas a quadros severos de periodontites, estando implicadas também em casos de perimplantites.

A constatação de que o aumento da frequência relativa dessas espécies faz aumentar o risco de perda de inserção de dentes naturais (SLOTS et al., 1986) parece se repetir em pacientes portadores de implantes, que apresentam o mesmo padrão bacteriano em seu biofilme subgingival e, assim, os níveis críticos e as combinações dos mesmos patógenos podem ter um papel importante na etiopatogenia da doença perimplantar.

De acordo com os resultados obtidos por Rams, Listgarten e Slots (1996), a detecção dessas três espécies bacterianas é um excelente preditor da ocorrência de destruições periodontais em pacientes sob controle periodontal.

Baseados nas conceituadas opiniões dessa dezena de autores, em nosso estudo resolvemos optar pela detecção apenas desses três patógenos, por serem altamente representativos do risco ou da presença de doença perimplantar.

Um dos fatores que reforça a importância do desempenho dessas e de outras espécies microbianas na doença perimplantar é o fato de os tecidos perimplantares apresentarem grande potencial de reparação após a supressão do biofilme patogênico por recursos mecânicos e químicos (comprovação da relação causa-efeito).

Uma observação importante é que os pacientes com histórico de doença periodontal podem vir a apresentar altas concentrações desses e outros patógenos periodontais na área perimplantar, ao contrário do que ocorre com a maioria dos pacientes periodontalmente saudáveis (RUTAR et al., 2001). Por outro lado, os biofilmes dentais dessas pessoas podem albergar patógenos em frequências compatíveis com a higidez tecidual, pois é extremamente importante levarmos em conta que eles fazem parte da chamada microbiota suplementar, pelo fato de ocorrerem mesmo em sítios subgingivais sadios, mas em proporções relativas (porcentagens da microbiota total cultivável) inferiores a 1,0%.

Essa assertiva, que guarda grande relação com vários resultados inesperados verificados nesta pesquisa, é devidamente suportada por vários estudos que demonstram que até mesmo os pacientes totalmente edêntulos são capazes de manter uma microbiota estável e em equilíbrio com as defesas do hospedeiro, desde que mantenham uma quantidade mínima de periodontopatógenos na sua

composição (APSE et al., 1989; QUIRYNEN e LISTGARTEN, 1990; GEORGE et al., 1994). Sabemos que a bolsa periodontal é uma rica fonte de microrganismos e como ocorre a translocação deles (transmissão entre nichos intra-bucais), assim fica explicada a colonização de implantes por espécies patogênicas em parcialmente edêntulos portadores de alterações periodontais (APSE et al., 1989; LEONHARDT et al., 1993). Quando essas lesões são severas e teoricamente irreversíveis, durante o plano de tratamento, algumas vezes é indicada a remoção de um ou mais elementos dentais assim comprometidos, para evitar a infecção dos futuros sítios perimplantares (DANSER et al., 1997).

A participação do biofilme dental fica clara quando se observa a sucessão bacteriana que ocorre na transição do estado de saúde para os estados evolutivos das doenças periodontal e perimplantar. Em artigo publicado em 1997, De Lorenzo, Simionato e De Lorenzo explicaram essas sucessões baseados nas alterações ecológicas que ocorrem tanto nos sítios periodontais como nos perimplantares. Em ambos os habitats clinicamente saudáveis existe um franco predomínio de bactérias Gram positivas facultativas dotadas de metabolismo predominantemente sacarolítico, dependente do aporte de carboidratos. Nas gengivites assim como nas mucosites, a alteração ambiental que ocorre principalmente em função da interferência do processo inflamatório e do aumento das condições de anaerobiose, possibilita o aumento do número de bactérias Gram negativas anaeróbias estritas dependentes de proteínas séricas extravasadas no exsudato sulcular. Como a tendência do exsudato é aumentar com o aumento da inflamação, esses microrganismos passam a encontrar um ambiente altamente favorável para seu desenvolvimento. Quanto maiores a profundidade da bolsa, a resposta imuno-inflamatória e a produção de fluido gengival, maiores as possibilidades de grande

aumento da frequência de bactérias Gram negativas anaeróbias obrigatórias e proteolíticas, chegando a cerca de 80 a 90% da microbiota cultivável. Resumindo, a importância da sucessão bacteriana na etiologia da perimplantite foi bem demonstrada por Mombelli, Buser e Lang (1988), que acompanharam as modificações da microbiota em sulcos perimplantares, conforme estes vão se aprofundando.

A avaliação de sinais clínicos como profundidade de sulco perimplantar e sangramento à sondagem constitui um parâmetro importante que muitos pesquisadores associam com a qualidade da microbiota perimplantar. Diversos trabalhos (MOMBELLI et al., 1987; PAPAIOANNOU et al., 1995; DE LORENZO, SIMIONATO, DE LORENZO, 1997; LEONHARDT et al., 2002) demonstraram que quando o sulco perimplantar apresenta profundidade maior que três milímetros, começa a ocorrer um nítido aumento numérico de espiroquetas e bacilos móveis Gram negativos traduzido clinicamente por sangramento à sondagem e, algumas vezes, por supuração.

Embora outros parâmetros clínicos tenham sido indicados por alguns pesquisadores na tentativa de estabelecer uma relação com a presença de microbiota compatível com a saúde ou de microbiota patogênica nos sítios perimplantares, no exame prévio dos pacientes nossa opção restringiu-se às análises da profundidade do sulco e do sangramento à sondagem. As bases desta escolha estão nas opiniões de gabaritados autores como Papaioannou et al. (1995) que defendem a utilização da sondagem como o melhor dos parâmetros para essa previsão e, mui recentemente, a de Rutar et al. (2001) que encontraram relação significativa entre profundidade da bolsa e contagem de anaeróbios em geral e particularmente de *P.gingivalis* e a de Leonhardt et al. (2002). Não nos pareceu

necessária a avaliação do nível ósseo, em função de nenhum dos pacientes deste estudo apresentar sinais clínicos de doença perimplantar instalada.

Quando ocorre perda óssea em torno do implante, é importante observar se existem evidências microbiológicas que possam suportar esse fato (relação causa e efeito entre a perda óssea e as condições microbianas específicas) ou se está havendo algum tipo de sobrecarga oclusal. O conhecimento desta necessidade originou-se na pesquisa de Rosenberg, Torosian e Slots (1991), que demonstrou diferenças significativas na composição bacteriana que pode ser isolada de implantes que apresentam problemas infecciosos e de implantes com sobrecarga oclusal.

A longevidade dos implantes em pacientes com doença periodontal prévia precisa ser constantemente averiguada. Com os exames de laboratório que visam determinar os microrganismos presentes nos sulcos gengivo-dentais (fontes de patógenos periodontais) e nos sulcos perimplantares, temos novas perspectivas de diagnóstico precoce, tratamento e melhor prognóstico da doença perimplantar (APSE et al., 1989; QUIRYNEN e LISTGARTEN, 1990; MEFFERT, 1992; PAPAIOANNOU, QUIRYNEN, e van STEENBERGHE, 1996).

Nos estudos longitudinais e no controle clínico, é importante levar-se em consideração que já no primeiro ano pode ocorrer cerca de 1,5 mm de perda óssea; com isso, as espiras mais coronárias do implante ficam expostas ao meio bucal e, conseqüentemente, há uma grande retenção de placa bacteriana, tornando o indivíduo mais predisposto à mucosite e posteriormente à perimplantite. Sem a análise microbiológica, o acúmulo de biofilme perimplantar é um sinal meramente quantitativo, contudo denota uma negligência do indivíduo em relação à higienização. Essa falta de cuidado geralmente conduz à inflamação gengival e, em

uma etapa evolutiva posterior, à perda óssea ao redor do implante, eventos que ocorrem na dependência da quantidade de microrganismos patogênicos que habitam a placa bacteriana (MENGEL, SCHRÖDER e FLORES-DE-JACOBY, 2001) e da qualidade da resposta defensiva do hospedeiro. Clinicamente se observa que a grande maioria dos casos de insucesso se concentra em pacientes com alto índice de placa (van STEENBERGHE et al., 1993).

A necessidade da análise microbiológica é especialmente defendida por Alcoforado et al. (1991), que demonstraram a presença de microrganismos não-buciais ou exógenos em sítios perimplantares com alterações severas; esses agentes podem não ser atingidos por um tratamento antimicrobiano instituído sem a base do isolamento, identificação e teste de suscetibilidade. Mombelli e Lang, em 1998, admitiram que, para que se consiga uma remissão da doença por um tratamento eficaz, é necessário que se conheça a microbiota presente na área doente, o que reforça a necessidade do diagnóstico microbiológico.

Os testes microbiológicos tornam-se necessários e válidos quando são detectados sinais clínicos e radiográficos de doença (PFAU, 2002). Com base no resultado, o profissional pode decidir pelo melhor tratamento da infecção que pode envolver além do tratamento convencional, a complementação com o antimicrobiano mais adequado. A identificação de sítios com risco de doença, tanto por presença de patógenos como por fatores auto-agressivos de resposta do hospedeiro, é fundamental para o sucesso do tratamento.

Na atualidade, têm sido mais utilizados os testes genéticos ou moleculares de identificação de DNA microbiano, considerados mais eficazes e com resultados mais rápidos do que os testes baseados em cultivos, no entanto é importante realçar que as sondas de DNA podem apresentar reação cruzada por exemplo no

gênero *P. intermedia* com *P. nigrescens*. De acordo com Becker et al., 1990, o teste de detecção molecular com sondas de DNA determina a relação específica entre a presença de DNA dos patógenos e os sinais clínicos de doença inclusive em amostras cujo cultivo foi negativo. Na escolha do teste a ser utilizado é importante uma criteriosa avaliação das vantagens e desvantagens dos vários testes disponíveis.

Esses pesquisadores (BECKER et al., 1990) utilizaram o teste com sondas de DNA para a detecção de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* em sítios perimplantares doentes. As amostras obtidas de sítios saudáveis apresentaram níveis indetectáveis do DNA destes patógenos. Com exceção da supuração, os outros parâmetros clínicos e microbiológicos foram semelhantes aos encontrados por Mombelli et al. em 1987. Mengel, Schröder e Flores-de-Jacoby (2001) fizeram uso dessa técnica para a detecção do DNA desses três patógenos, em um estudo com duração de cinco anos. O mesmo método de detecção molecular foi utilizado por Lee et al. (1999) para avaliar a microbiota de implantes saudáveis em pacientes com histórico de doença periodontal e perimplantar.

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) é altamente sensível (detecta a presença de números mínimos de DNA de microrganismos), específica (praticamente não apresenta reações cruzadas), reprodutível e relativamente fácil de ser realizada, prestando-se para a detecção do DNA de muitos patógenos periodontais. Além da grande vantagem de não requerer microrganismos viáveis, é um método particularmente valioso para aqueles que não podem ser cultivados ou difíceis de serem distinguidos no cultivo. É um método mais sensível que o cultivo e apresenta menor possibilidade de reação cruzada do que a sonda de DNA (SLOTS et al., 1995; ASHIMOTO et al., 1996; AVILA-CAMPOS et al., 1999). Em função

dessas vantagens inerentes a esse método, resolvemos adotá-lo em nossa metodologia de reconhecimento e identificação de expressivos patógenos de sítios perimplantares.

Sabemos que os implantes podem ser mantidos com sucesso em pacientes com histórico de doença periodontal, mesmo quando a microbiota perimplantar apresenta patógenos. O equilíbrio da resposta imunológica do hospedeiro pode algumas vezes ser afetado por mudanças na microbiota e tais mudanças estão diretamente relacionadas à presença de patógenos periodontais. Este fato é com maior frequência observado em pacientes parcialmente edêntulos. O mais importante é que nestas situações haja um controle rigoroso das bactérias presentes, levando-se em consideração que podem ocorrer mudanças na microbiota perimplantar com o passar do tempo e com o aumento da carga. Estas situações de risco de infecção podem ser minimizadas com um tratamento e controle periodontais prévios à instalação dos implantes (MOMBELLI et al., 1995; SBORDONE et al., 1999; LEE et al., 1999; van WINKELHOFF et al., 2000).

Como analisado no início deste capítulo a simples presença de patógenos não é obrigatoriamente um fator determinante do insucesso dos implantes, mas sim um indicador da necessidade do tratamento periodontal prévio à instalação dos implantes para controle da infecção ou da necessidade da instituição de medidas mais rigorosas quando o paciente já é portador de implante. Nos chamados pacientes periodontais estas bactérias muitas vezes estão presentes como parte da microbiota residente para aquele indivíduo (LEONHARDT et al., 2002). Pacientes que possuem microbiota similar podem apresentar manifestações clínicas diferentes, devido à resposta do hospedeiro ser individual. A concentração microbiana é um dos principais fatores para o início e progressão da doença e, às

vezes, mesmo que bactérias periodontopatogênicas estejam presentes em altas proporções, nem sempre os sinais clínicos estão presentes, fato relacionado ao hospedeiro.

O controle inadequado da placa bacteriana (biofilme dental) permite gradativamente a instalação de maior número de bactérias anaeróbias estritas patogênicas no sulco perimplantar, portanto a necessidade do controle e manutenção para a preservação da osseointegração é defendida por Gromatzky e Sendyk (2002). Como ocorre na doença periodontal, a colonização bacteriana progressiva traz como consequência maior elaboração de metabolitos citotóxicos e, assim, maior desenvolvimento da resposta imuno-inflamatória, que ao lado da agressão microbiana, é um dos prováveis fatores de perda tardia do implante, pois compromete tanto os tecidos moles como o tecido ósseo, necessários para a manutenção do implante.

As pesquisas processadas a partir da década de 1990 têm demonstrado que alterações genéticas, principalmente polimorfismos em genes que codificam a produção de citocinas mediadoras da inflamação, como as interleucinas 1 e 2 (IL-1 e IL-2) e o fator α de necrose tumoral (TNF- α), exercem forte impacto sobre a suscetibilidade individual à periodontite severa (KORNMAN e NEWMAN, 2002). Isto nos conduz a conjecturar que essas alterações também possam determinar maior risco de ocorrência de perimplantite, também dependente da interação entre a agressão microbiana e o nível da resposta do hospedeiro.

Leonhardt et al. (2002) concordaram que o aprofundamento das bolsas periodontais pode contribuir para uma mudança na microbiota subgengival, predispondo o sítio à doença. Mas ponderaram, por outro lado, que a profundidade de bolsa é um parâmetro difícil de se comparar, já que os tecidos moles que

circundam os dentes e os implantes apresentam diferenças anatômicas e histológicas. Segundo os autores, a simples presença de patógenos nos implantes não necessariamente influencia o resultado e a longevidade do tratamento, pois essas espécies bacterianas fazem parte da microbiota residente e, na maioria dos indivíduos, podem ser detectadas por acaso.

Alguns dos nossos resultados obtidos pelo método PCR parecem surpreendentes, pois contrariam os relatados por diversos autores (APSE et al., 1989; LEONHARDT et al., 1993; KOKA et al., 1993; GEORGE et al., 1994; MOMBELLI et al., 1995; PAPAIOANNOU, QUIRYNEN, van STEENBERGHE, 1996; DANSER, van WINKELHOFF, van der VELDEN, 1997; GOUVOUSSIS, SINDHUSAKE, YEUNG, 1997; ELLEN, 1998; RUTAR et al., 2001) em trabalhos realizados nos Estados Unidos da América do Norte e na Europa. Na tentativa de explicarmos esses resultados, podemos considerar as seguintes hipóteses:

1^a) É importante considerar que um exame microbiológico cujo resultado foi negativo não expressa de modo obrigatório a ausência de microrganismos, levando em consideração que falhas podem ocorrer na coleta, no transporte e no processamento laboratorial (ESTRELA, PIMENTA e ESTRELA, 2001), sendo algumas vezes necessária a repetição do exame.

2^a) O método PCR, adotado neste trabalho, apresenta grande sensibilidade, conseguindo detectar a presença de material genético de mínimas quantidades de microrganismos presentes no material clínico, inclusive de não viáveis. Além disso, foi desenvolvido de forma qualitativa em função de a forma quantitativa fornecer resultados subjetivos. Assim, os resultados obtidos neste trabalho expressam o estado atual ou progresso da presença do DNA das bactérias-alvo no material examinado em possíveis portadores.

3ª) De acordo com tópicos já analisados nesta Discussão, a detecção qualitativa de patógenos nem sempre pode ser interpretada como sinal de doença, notadamente na ausência de sinais clínicos denunciativos. Confirmando esta assertiva, ainda em fevereiro de 2003, Marsh publicou um artigo abordando as doenças dentais como catástrofes ecológicas, baseado na emergente “hipótese ecológica da placa dental”. Dentro do assunto de interesse deste trabalho, o autor afirma que “a microbiota do biofilme dental de sítios doentes é diferente da encontrada na saúde, embora patógenos possíveis freqüentemente sejam detectados em baixos números em sítios normais”.

4ª) Quando não acompanhado por sinais clínicos de doença, como é o caso dos pacientes analisados neste trabalho, o encontro de bactérias consideradas patogênicas, mesmo por metodologia de cultivo que requer células vivas em maior número que os testes moleculares, pode ser interpretado como sinal de risco para futuras patologias. Devemos, no entanto, sempre considerar, nesses casos, que existe a possibilidade de termos coletado, ao acaso, alguns clones ou estirpes desprovidas de patogenicidade, por lhes faltarem genes determinantes da produção de fatores de virulência. Mesmo dentre as amostras realmente patogênicas existem variações no grau de produção dos atributos de virulência, fazendo com que uma cepa seja mais virulenta que as demais. Para detectar as amostras avirulentas e as virulentas, são necessários exames especiais baseados na determinação da existência desses genes.

CONCLUSÕES

Os resultados verificados neste trabalho permitem que elaborem as seguintes conclusões:

1ª) O método PCR de identificação molecular de microrganismos, dotado de alta sensibilidade e grande especificidade, mostrou-se eficaz para detectar a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* em sulcos perimplantares, mesmo naqueles que se apresentam com reduzidas profundidades. Conseqüentemente, além de se prestar para a detecção de DNA dos patógenos responsáveis por lesões diagnosticadas inicialmente por parâmetros clínicos, ainda pode ser considerado um instrumento precioso de pesquisa para denunciar os casos de maior risco para a ocorrência de doença perimplantar.

2ª) Em função da inesperada presença – embora qualitativamente aferida - desses microrganismos nos sítios perimplantares de alguns pacientes que não apresentaram doença periodontal prévia à instalação de implantes e da ausência dos mesmos em alguns com histórico de periodontopatia, podemos admitir que, mesmo nos casos em que os tecidos perimplantares não apresentam sinais significantes de doença, a detecção desses microrganismos é importante, pois pode ser interpretada como indicadora de risco à doença, possibilitando a instituição de um controle mais rigoroso nesses pacientes.

3ª) Fica, assim, cada vez mais enfatizada a necessidade do criterioso controle periodontal pré-operatório e de freqüentes análises e manutenção pós-operatórios, fundamentais para o sucesso do tratamento com implantes.

REFERÊNCIAS *

- ALBREKTSSON, T. et al. The long term efficacy of currently used dental implants: A review and proposed criteria of success. **Int. J. Oral Maxillofac. Impl.**, v. 1, p.11-25, 1986.
- ALCOFORADO, G.A.P. et al. Microbial aspects of failing osseointegrated dental implants in humans. **J. Parodontol.**, v.10, p.11-18, 1991.
- APSE, P. et al. Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. **J. Periodont. Res.**, v.24, p.96-105, 1989.
- ASHIMOTO, A. et al. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.11, p. 266-273, 1996.
- AVILA-CAMPOS, M.J. et al. Specific primer for AP-PCR identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **J. Clin. Periodontol.**, v. 26, p. 699-704, 1999.
- AVILA-CAMPOS, M.J.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Prevalence of putative periodontopathogens from periodontal patients and healthy subjects in São Paulo, SP, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v.44, p.1-5, 2002.
- BAUMAN, G.R. et al. Plaque-induced inflammation around implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 7, p. 330-337, 1992.
- BECKER, W. et al. Clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v.5, p. 31-38, 1990.
- BRANEMARK, I. Introducción a la oseointegración. In: BRANEMARK, I.; ZARB, A.G.; ALBREKTSSON, T. **Protesis Tejido-integradas (La Oseointegracion en la Odontologia Clinica)**. 1 ed. Berlin: Quintessence Books, 1987.
- DANSER, M.M.; van WINKELHOFF A. J.; van der VELDEN U. Periodontal bacteria colonizing oral mucous membranes in edentulous patients wearing dental implants. **J. Periodontol.**, v.68, p. 209-216, 1997.
- DE LORENZO, J.L.; SIMIONATO, M.R.L.; DE LORENZO, A. Infecção: principal causa de insucessos em implantes dentários. **Rev. ABO Nac.**, v. 5, p.321-324, 1997.

*De acordo com ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002

- ELLEN, R.P. Microbial colonization of peri-implant environment and its relevance to long-term success of osseointegrated implants. **Int. J. Prosthodont.**, v. 11, p. 433-441, 1998.
- ESPOSITO, M. et al. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II) Etiopathogenesis. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 106, p.721-764, 1998.
- ESTRELA, C.; PIMENTA, F. C.; ESTRELA, C. R. A. Testes microbiológicos aplicados à pesquisa odontológica. In: ESTRELA, C., **Metodologia científica, Ensino e Pesquisa em Odontologia**, p. 196-221, São Paulo, 1ª. Edição, Editora Artes Médicas, 2001.
- GATEWOOD, R.R.; COBB, C.M.; KILLOY, W.J. Microbial colonization on natural tooth structure compared with smooth and plasma-sprayed dental implant surfaces. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 4, p.53-64, 1993.
- GEORGE, K., et al. Clinical and Microbial Status of Osseointegrated Implants. **J. Periodontol.**, v. 65, p. 766-770, 1994.
- GOUVOUSSIS, J.; SINDHUSAKE, D.; YEUNG, S. Cross-infection from periodontitis sites to failing implant sites in the same mouth. **Int. J. Maxillofac. Implants**, v.12, p.666-673, 1997.
- GROMATZKY, A., SENDYK W. R. Presevação da osseointegração através de um programa de controle e manutenção. **Periodontia Revista**, v. 13, p.11-16, 2002.
- HEYDENRIJK, K. et al. Microbiota around root-form endosseous implants: A review of the literature. **Int. J. Maxillofac. Implants**, v. 17, p. 829-838, 2002.
- KOKA, S. et al. Microbial colonization of dental implants in partially edentulous subjects. **J. Prosthet.Dent.**, v. 70, p. 141-144, 1993.
- KORNMAN, I.; NEWMAN M.G. Papel da genética na verificação do risco e na abordagem da periodontite do adulto. In: MEALEY R., COHEN G., **Medicina Periodontal**. 1 ed., São Paulo, , Editora Santos, 2002.
- LEE, K.H. et al. Microbiota of successful osseointegrated dental implants. **J. Periodontol.**, v. 70, p. 131-138, 1999.
- LEKHOLM, U. et al. The condition of soft tissues at tooth and fixture abutments supporting fixed bridges. **J. Clin. Periodontol.**, v. 13, p. 558-562, 1986.
- LEONHARDT, A. et al. Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. **Clin. Oral Impl. Res.**, v.13, p. 127-132, 2002.
- LEONHARDT, A.; RENVERT, S.; DAHLÉN, G. Microbial findings at failing implants. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 10, p. 339-345, 1999.

- LEONHARDT, A. et al. A longitudinal microbiological study on osseointegrated titanium implants in partially edentulous patients. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 4, p.113-120, 1993.
- LISTGARTEN, M.A.; LAI, C.H. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. **J. Periodontol.**, v. 70, p. 431-437, 1999.
- LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. **J Periodontol.**, v. 36, p. 177- 187, 1965.
- LOESCHE, W.J. Chemotherapy of dental plaque infections. **Oral Sci. Rev.**,v.9, p.63-107, 1976.
- MARSH, P.D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? **Microbiol.**, v. 149, p. 279-294, 2003.
- MEFFERT, D.M. What is peri-implantitis and how do we prevent and treat it? **J. Mich. Dent. Assoc.**, v. 74, p. 32-39, 1992.
- MENGEL, R.; SCHRÖDER, T.; FLORES-de-JACOBY., L. Osseointegrated implants in patients treated for generalized chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis: 3- and 5- year results of a prospective long-term study. **J. Periodontol.**, v. 72, p. 977-989, 2001.
- MOMBELLI, A. Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis. **Periodontol. 2000**, v. 28, p. 177-189, 2002.
- MOMBELLI, A. *In vitro* models of biological responses to implant microbiological models. **Adv. Dent. Res.**, v.13, p. 67-72, 1999.
- MOMBELLI, A. Aging and the periodontal and peri-implant microbiota. **Periodontol. 2000**, v. 16, p. 44-52, 1998.
- MOMBELLI, A. Etiology, diagnosis, and treatment considerations in peri-implantitis. **Curr. Opin. Periodontol.**, v. 4, p. 127-136, 1997.
- MOMBELLI, A.; LANG, N.P. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. **Periodontol. 2000**, v. 17, p. 63-76, 1998.
- MOMBELLI, A. et al. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, v.22, p. 124-130, 1995.
- MOMBELLI, A.; LANG, N.P. Microbial aspects of implant dentistry. **Periodontol. 2000**, v. 4, p. 74-80, 1994.
- MOMBELLI, A.; MERICKSE-STERM, R. Microbiological features of stable osseointegrated implants used as abutments for overdentures. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 1, p. 1-7, 1990.

MOMBELLI, A.; BUSER, D.; LANG, N.P. Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 3, p. 113-120, 1988.

MOMBELLI, A. et al. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 2, p. 145-151, 1987.

NEWMAN, M.G.; MARINHO, V.C. Assessing bacterial risk factors for periodontitis and peri-implantitis: using evidence to enhance outcomes. **Comp. Contin. Educ. Dent.**, v. 4, p. 958-972, 1994.

PAPAIOANNOU, W.; QUIRYNEN, M.; van STEENBERGHE, D. The influence of periodontitis on the subgingival flora around implants in partially edentulous patients. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 7, p. 405-409, 1996.

PAPAIOANNOU, W. et al. The effect of periodontal parameters on the subgingival microbiota around implants. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 6, p. 197-204, 1995.

PFAU, E. A. Incidência de espécies dos gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas* em pacientes submetidos a implantes dentais. Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Curso de Mestrado em Microbiologia. 2002.

PONTORIERO, R. et al. Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 5, p. 254-259, 1994.

QUIRYNEN, M.; DE SOETE, M.; van STEENBERGHE, D. Infectious risk for oral implants. **Clin. Oral Impl. Res.**, v.13, p. 1-19, 2002.

QUIRYNEN, M.; PAPAIOANNOU, W.; VAN STEENBERGHE, D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. **J. Periodontol.**, v. 67, p. 986-993, 1996.

QUIRYNEN, M.; LISTGARTEN, M.A. The distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Branemark. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 1, p. 8-12, 1990

RAMS, T.E.; LINK, C.C. Microbiology of failing dental implants in humans: electron microscopic observations. **J. Oral Implant.**, v. 11, p. 93-100, 1983.

RAMS, T.E.; LISTGARTEN, M.A.; SLOTS, J. Utility of major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. **J. Clin. Periodontol.**, v. 23, p. 346-354, 1996.

RAMS, T.E. et al. The subgingival microbial flora associated with human dental implants. **J. Posthet. Dent.**, v. 51, p.529-534, 1984.

ROSENBERG, E.S.; TOROSIAN, J.P.; SLOTS, J. Microbial differences in 2 clinically distinct types of failures of osseointegrated implants. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 2, p.135-144, 1991.

- RUTAR, A. et al. Retrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 12, p. 189-195, 2001.
- SBORDONE, L. et al. Longitudinal study of dental implants in a periodontally compromised population. **J. Periodontol.**, v. 70, p.1322-1329, 1999.
- SILVERSTEIN, L.H. et al. The microbiota of the peri-implant region in health and disease. **Implant. Dent.**, v. 3, p. 170-174, 1994.
- SLOTS, J. et al. Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the Polymerase Chain Reaction. **Clin. Infect. Dis.**, v. 20, p. s304-s307, 1995.
- SLOTS, J. et al. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive disease in adults. **J. Clin. Periodontol.**, v. 13, p. 570-577, 1986.
- SOCRANSKY, S.; HAFFAJJE, A.D. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. **Periodontol. 2000**, v. 28, p.12-55, 2002.
- SOCRANSKY, S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J. Clin. Periodontol.**, v. 25, p. 134-144, 1998
- SUMIDA, S. et al. Transmission of periodontal disease- associated bacteria from teeth to osseointegrated implant regions. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 17. p. 696-702, 2002.
- van STEENBERGHE, D. et al. Periodontal indices around natural and titanium abutments: a longitudinal multicenter study. **J. Periodontol.**, v. 64, p. 538-541, 1993.
- van WINKELHOFF, A.J. et al. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 11, p. 511-520, 2000.
- van WINKELHOFF, A.J.; WOLF, J.W.A. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated peri-implantitis in an edentulous patient. **J. Clin. Periodontol.**, v. 27, p. 531-535, 2000.

CARTA DE INFORMAÇÃO AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA DE PACIENTES IMPLANTADOS COM E SEM HISTÓRICO DE DOENÇA PERIODONTAL

Estas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária neste estudo que visa avaliar os microrganismos presentes nos sulcos perimplantares de pacientes com ou sem histórico de doença periodontal.

O procedimento realizado será:

- 1- para coleta do material serão colocados cones de papel absorvente no sulco perimplantar por 1 minuto, sendo removidos imediatamente após decorrido o tempo mencionado.
- 2- o examinador medirá a profundidade do sulco perimplantar e observará se há sangramento à sondagem.

Este procedimento não causa qualquer tipo de risco ou malefício paciente examinado. Não há benefício direto para o participante da pesquisa.

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimentos de eventuais dúvidas. O principal investigador é a C.D. Joely Ângela de Oliveira Leitão que pode ser encontrada na Universidade de Santo Amaro (Rua Prof. Enéas Siqueira Neto, 340 Telefone 5929.5477). Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) Rua Prof. Enéas Siqueira Neto, 340 Telefone 5929.5477 , Fax: 520.9160.

É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e a possibilidade de deixar de participar do estudo sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente participante.

Não há despesas pessoais para o participante do estudo em qualquer fase deste estudo, incluindo exames e consultas relativas à pesquisa. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na instituição, bem como indenizações legalmente estabelecidas.

O pesquisador se compromete a utilizar os dados e o material coletado somente *para esta pesquisa.*

Muito obrigada pela sua participação.

*Prof.ª Joely Ângela de Oliveira Leitão - Disciplina de Periodontia e Implantodontia
UNISA*



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP



UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
Comitê de Ética em Pesquisas
Registro CONEP n.º 386
Aprovado em 16/05/2000

PARECER N.º 66/2003

REGISTRO CEP UNISA N.º 88/2003 – Apresentado em 24/02//2003

Projeto de Pesquisa : “Avaliação da microbiota em pacientes implantados com doença periodontal controlada e em pacientes sem doença periodontal.”

Pesquisador Responsável : Profª. Joely Ângela de Oliveira Leitão

Área Temática Especial: Odontologia

Prezado Pesquisador:

Ao se proceder à análise do processo em questão, cabe a seguinte consideração:

As informações apresentadas atendem aos aspectos fundamentais das Resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas – CEP UNISA, de acordo com as atribuições da Resolução 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto a ser desenvolvido e conduzido no Departamento de Implantodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro.

Situação: Aprovado em 24/02/2003

São Paulo, 17 de Março de 2003

PROF. DR. LIBERATO JOHN ALPHONSE DI DIO
 Presidente do Comitê de Ética em Pesquisas
 UNISA - Universidade de Santo Amaro

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo" **ANÁLISE, POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR), DA PRESENÇA DE ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS, PORPHYROMONAS GINGIVALIS E PREVOTELLA INTERMEDIA EM SÍTIOS PERIMPLANTARES.**

Eu discuti com a Dra. Joely Ângela de Oliveira Leitão sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente / representante legal

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /