



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

FERNANDA FELIX CORDEIRO DIAS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SÍTIOS PERI-IMPLANTARES EM
PACIENTES COM HISTÓRICO DE DOENÇA PERIODONTAL AGRESSIVA E
CRÔNICA: ACOMPANHAMENTO LONGITUDINAL DE 36 MESES**

PIRACICABA

2017

FERNANDA FELIX CORDEIRO DIAS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SÍTIOS PERI-IMPLANTARES EM
PACIENTES COM HISTÓRICO DE DOENÇA PERIODONTAL AGRESSIVA E
CRÔNICA: ACOMPANHAMENTO LONGITUDINAL DE 36 MESES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestra em Clínica Odontológica na Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação defendida pela aluna Fernanda Felix Cordeiro Dias e orientada pelo Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

**PIRACICABA
2017**

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 133001/2015-6; FAPESP, 017/2010

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4318-3009>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marlene Girello - CRB 8/6159

D543a Dias, Fernanda Felix Cordeiro, 1984-
Avaliação microbiológica de sítios peri-implantares em pacientes com histórico de doença periodontal agressiva e crônica : acompanhamento longitudinal de 36 meses / Fernanda Felix Cordeiro Dias. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Márcio Zaffalon Casati.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Implantes dentários. 2. Doenças periodontais. 3. Microbiologia. I. Casati, Márcio Zaffalon, 1973-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Microbiological evaluation of peri-implant sites in patients with historical aggressive and chronic periodontal disease : longitudinal follow-up of 3 months

Palavras-chave em inglês:

Dental implants

Periodontal diseases

Microbiology

Área de concentração: Periodontia

Titulação: Mestra em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

Márcio Zaffalon Casati [Orientador]

Renato Corrêa Viana Casarin

Elizabeth Pimentel Rosetti

Data de defesa: 21-02-2017

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 21 de Fevereiro de 2017, considerou a candidata FERNANDA FELIX CORDEIRO DIAS aprovada.

PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

PROF^ª. DR^ª. ELIZABETH PIMENTEL ROSETTI

PROF. DR. RENATO CORRÊA VIANA CASARIN

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, sem Ele nada seria possível e com Ele tudo tem sentido pleno. Ao meu esposo Fábio e ao meu filho João Pedro, donos do que há de melhor no meu coração. Aos meus pais, Manoel e Fátima, e ao meu irmão Christian, pelo amor sincero e apoio que sempre me deram.

AGRADECIMENTOS

Meu profundo agradecimento a Deus, princípio e fim de todas as coisas. Agradeço-te Senhor, pela tua presença constante e fiel, por um amor tão grande que me faz sentir constrangida diante da minha pequenez, das minhas misérias e infidelidades. Ao final desta etapa, quero cantar suas misericórdias e entregar-te meu coração agradecido.

Agradeço à minha mãe, Maria Santíssima. A cada dia, a Senhora vem me ensinar a dizer a Deus “faça-se em mim”. Por muitos dias, durante este curso, a Senhora intercedeu pela minha família, acolheu o meu choro, ouviu as minhas preces e me amou profundamente, como toda mãe que ama o seu filho (a). Recebe meu singelo agradecimento e meu firme propósito de ter-te como exemplo de mulher.

Agradeço ao meu filho, João Pedro. Obrigada meu “pequeno-grande” por ser o motivo da minha alegria. Você colocou nos meus lábios sorrisos, todos os dias! Com você aprendi a sair de mim mesma, a cuidar do “outro”, descobri sentimentos tão bons e puros que ninguém, somente você, foi capaz de despertar em mim. Obrigada por me ensinar a vencer os desafios, ser persistente nos objetivos e a se levantar mesmo quando o passo vacila. Acredite meu filho, o maior título que eu poderia receber, eu já recebi, quando ouço você chamando ‘mamãe’. Eu te amo!

Agradeço ao meu esposo Fábio por ser meu amor, meu companheiro, meu amigo. Agradeço por sua compreensão, mas também por sua incompreensão, porque é exatamente diante das nossas diferenças que você mostra a sua fidelidade. E agora, ao final desta etapa, agradeço-te por tudo o que fez por nós. E como naquele lindo dia 29, reafirmo: “prometo ser fiel...todos os dias da nossa vida”.

Agradeço aos meus pais, Manoel e Fátima, por todo apoio e pelo amor incondicional que sempre me deram. Vocês são para mim saudável exemplo de vida conjugal e de pais virtuosos. Tudo que tenho e sou devo a vocês. É uma dívida que nunca poderei pagar, só consigo retribuir com o imenso amor que sinto por vocês.

Agradeço ao meu irmão, Christion por ser meu parceiro, um exemplo de perseverança e fidelidade às suas convicções. Tenho um enorme carinho e amor por você. Agradeço também à Tati, minha cunhada, por ser motivo de alegria na sua vida e da nossa família.

Agradeço aos meus familiares. À minha querida avó Ita, uma linda e sábia mulher. À Minha madrinha Maria José e meu padrinho Fernando, pelo cuidado e carinho. À minha tia Nilzete pelo incentivo de sempre. Ao meu primo-irmão Judi e a Jhenyfer, obrigada pelo otimismo e perseverança. Agradeço aos primos, primas, tios e tias por sempre torcerem por mim.

Agradeço ao meu querido sogro, Júlio Carlos e à minha querida sogra Olindete. Vocês me apresentaram com homem maravilhoso. Obrigada pelo grande apoio e oração. Um agradecimento especial ao Júlio Carlos, pelas correções de português deste trabalho. Agradeço, ainda, às minhas cunhadas Carla e Ione, tenho um enorme carinho por vocês.

Agradeço aos meus amigos. Vocês são preciosos para mim! Obrigada pelas orações, por cada palavra de incentivo e também pelas correções. Apesar da distância nesse tempo, nunca os senti longe, ao contrário, foram sustento para minha caminhada. Meu carinho especial para Daniel, Norma, Marina Torres, Renata e Fabrício, Deidilaura e Vanderson, Renata e Wayner, Sabrina e Rodrigo, Isabela e Leonardo, Raquel, Letícia (minha querida dupla), Thiéberon e Patrícia, Dóris e Pe. Júlio César.

Agradeço às “Perio Princesses” amigas que Piracicaba me presenteou: Ana Livia, Marcela, Elis, Amanda, Viviene, Samira, Mércia, Isabela, Manuela, Mabelle, Rahyza e Rafaella. Vocês são verdadeiras princesas: lindas, carinhosas e inteligentes! Os momentos de partilha de vida e as risadas ficarão gravadas no meu coração, para sempre!

Agradeço o companheirismo dos demais colegas de curso Mayra, Miki, João Paulo, Tiago Tarbes, Thiago Bueno e Tiago Taiete.

Agradeço de forma especial ao amigo Tiago Taiete. Este trabalho foi possível pela sua constante paciência para me ensinar. Sua educação, brilhante inteligência e tranquilidade definem você como pós-graduando, e não tenho dúvida, que essas qualidades farão de você um excelente professor. Agradeço também à Maria Alice Gatti. Com você aprendi que para fazer pesquisa é preciso ser criteriosa e organizada. Foi tendo o exemplo de sua competência que tive confiança para prosseguir.

Agradeço ao amigo Thiago Bueno. Obrigada Bueno, por sempre me transmitir a tranquilidade que eu precisava diante da minha ansiedade. Agradeço por sua paciência comigo e por estar sempre disposto a me ajudar.

Agradeço às alunas de iniciação científica Marina Moron e Wellis Garcia, a ajuda e o empenho de vocês foram fundamentais.

Agradeço às minhas queridas amigas da especialização Marília e Stephanie; por vocês, tenho grande admiração! Fico feliz por perceber que mesmo com o tempo e a distância nossa amizade permanece.

Agradeço aos meus vizinhos e amigos Jo, Claiton e Isabel. Vocês foram anjos que Deus colocou, literalmente ao meu lado, para cuidar de mim e do João Pedro. Sempre disponíveis para nos ajudar e atentos às nossas necessidades. Vocês me faziam sentir segurança, diante da insegurança que eu pensei que sentiria por estar longe da minha família. Muito Obrigada!

Agradeço aos professores da área de Periodontia Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum, Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior, Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati, Prof. Dr. Renato Corrêa Viana Casarin e Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz, pelos conhecimentos transmitidos e disponibilidade de sempre.

Meu profundo agradecimento ao Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati. Obrigada professor pela sua orientação. Muito aprendi com sua forma de realizar um planejamento, de executar uma cirurgia, de dar orientações diversas, sempre com excelência. Muito mais aprendi com o ser humano que você é. Sempre sensível às minhas necessidades, compreensível diante das minhas indecisões e dificuldades, e sempre com um sorriso no rosto dizendo “é o que temos pra hoje”, me ensinando que o hoje basta. Agradeço por ter confiado em mim, muito mais do que eu mesma confiava.

Agradeço de forma também especial ao Prof. Dr. Renato Corrêa Viana Casarin. No papel não é meu co-orientador, mas assim o classifico na prática. Sempre disponível, sempre presente, sempre transmitindo entusiasmo com a periodontia. Sou muito grata por tudo o que fez por esse trabalho e por mim!

Agradeço aos professores que participaram da minha banca de qualificação Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz, Profa. Dra. Denise Carleto Andia, Prof. Dr. Pedro Ricomini e Profa. Dra. Cristiane Ribeiro Salmon (suplente), pelos comentários, correções e sugestões para conclusão deste trabalho.

Agradeço aos professores da banca de Defesa Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati, Prof. Dr. Renato Corrêa Viana Casarin, Prof. Dra. Elizabeth Pimentel Rosetti, Profa

Mônica Grazieli Corrêa (suplente) e Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz (suplente) por aceitarem o convite prontamente, e com certeza, auxiliarem o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Profa. Dra. Fabrícia Ferreira Suaid. Com você tive aprendi amar a periodontia. Obrigada pelo incentivo, pelas conversas e pelo carinho de sempre.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Piracicaba FOP/UNICAMP, na pessoa do diretor Prof. Dr. Guilherme Elias Pessanha Henriques pela oportunidade de formar-me especialista e cursar o mestrado.

Agradeço a todos os funcionários da faculdade, de forma especial à Regina Caetano, Mariana Fugolin, Eliete Marim, Janaína Leite, Sr Luís e Reis. Obrigada pela atenção e por estarem sempre disponíveis para ajudar.

Agradeço à creche CECI – FOP. Agradeço a diretora Carla Iolanda Torete e à todas as professoras e funcionárias da creche. Obrigada por serem, na minha ausência, presença tão marcante para o João Pedro. Agradeço o carinho e o cuidado impecável.

Agradeço à FAPESP pelo apoio e pelo financiamento que possibilitou a realização de parte deste projeto e à CNPq pelo auxílio na forma de bolsa de mestrado.

A todos os pacientes que participam deste estudo. Agradeço a confiança depositada em mim e em toda equipe.

A todos, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Complicações biológicas associadas a implantes osseointegrados, como infecções peri-implantares, parecem ser mais frequentes em indivíduos com histórico de periodontite. Essa ocorrência pode estar associada ao perfil microbiológico dos pacientes periodontalmente comprometidos. O objetivo deste estudo foi avaliar as espécies bacterianas *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) e *Tannerella forsythia* (Tf) presentes ao redor de implantes dentais instalados em pacientes com histórico de periodontite agressiva e crônica. Para isso foram selecionados indivíduos com indicação de reabilitação protética implanto suportada com histórico de periodontite agressiva generalizada (HPAgG=12), histórico de periodontite crônica generalizada (HPCG = 18) e pacientes sem histórico de periodontite que perderam os dentes por cárie, trauma ou motivos endodônticos (HSP = 14). As coletas microbiológicas, obtidas por meio de cones de papel absorventes inseridos no interior do sulco peri-implantar, foram realizadas nos seguintes tempos: após 15 minutos da instalação do implante, após 7 dias da instalação das próteses e nos períodos de 6, 12, 24 e 36 meses após a instalação da prótese. Por meio de PCR em tempo real, os microrganismos Aa, Pg e Tf foram quantificados. Para Aa, foram observadas diferenças entre os grupos no período após a cirurgia de instalação dos implantes e 7 dias após a instalação das próteses ($p < 0,05$). Nesses períodos, o grupo HPAgG apresentou maiores níveis deste patógeno. Para Tf, a semelhança entre os grupos ocorreu em todos os períodos de acompanhamento, enquanto para Pg houve diferença após 7 dias da instalação das próteses entre os grupos HSP e HPAgG ($p < 0,05$). Portanto, pode-se concluir que o histórico de periodontite não influencia os níveis de Aa, Pg e Tf em longo prazo.

Palavras-chaves: implantes dentários, doenças periodontais, microbiologia

ABSTRACT

Biological complications associated with osseointegrated implants, such as peri-implant infections, appear to be more frequent in individuals with a history of periodontitis. This occurrence may be associated with the microbiological profile of periodontally compromised patients. The aim of this study was to evaluate the bacterial species *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) and *Tannerella forsythia* (Tf) present around dental implants installed in patients with a history of aggressive and chronic periodontitis. For this purpose, individuals with an indication of prosthetic rehabilitation supported with generalized aggressive periodontitis (HPAgG = 12), chronic chronic periodontitis (HPCG = 18) and patients with no history of periodontitis who lost teeth due to caries, trauma or motifs Endodontics (HSP = 14). The microbiological samples obtained through absorbent paper cones inserted inside the peri-implant groove were performed in the following times: after 15 minutes of implant installation, after 7 days of implant installation and in the 6, 12, 24 and 36 months after the installation of the prosthesis. Through real-time PCR, the microorganisms Aa, Pg and Tf were quantified. For Aa, differences were observed between groups in the period after implant surgery and 7 days after prosthesis installation ($p < 0.05$). In these periods, the HPAgG group presented higher levels of this pathogen. For Tf, the similarity between the groups occurred in all follow-up periods, while for Pg there was difference after 7 days of installation of the prosthesis between the HSP and HPAgG groups ($p < 0.05$), indicate the difference. Therefore, it can be concluded that the history of periodontitis does not influence the levels of Aa, Pg and Tf in the long term.

Key words: dental implants, periodontal diseases, microbiology

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
3 PROPOSIÇÃO.....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
5 RESULTADOS.....	33
6 DISCUSSÃO.....	36
7 CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	41
ANEXO 1 - Certificado do Comitê de Ética.....	48

1 INTRODUÇÃO

Implantes osseointegráveis são utilizados com sucesso na odontologia e se tornaram a principal indicação para reposição de elementos dentários perdidos, permitindo a reabilitação oral e o restabelecimento da estética e função. Alguns estudos, no entanto, mostram taxas de sucesso superior nessa modalidade de tratamento, quando realizada em pacientes periodontalmente saudáveis em comparação com pacientes com histórico de doença periodontal (Quirynen et al., 2007; Safii et al., 2010). As taxas de sobrevivência dos implantes em pacientes sem histórico de periodontite é de 96,5% a 100%, enquanto que, em pacientes com história de doença periodontal, é de 79,20% a 100% (Karoussis et al., 2003; Kim & Sung, 2012). Já em relação à taxa de sucesso, pacientes sem histórico de periodontite apresentam 79,1% a 100% de sucesso e pacientes com histórico de periodontite apresentam 52,4% a 100% (Karoussis et al., 2003; Rosenberg et al., 2004; Mengel & Flores-de-Jacoby, 2005). Essa diferença está relacionada ao fato desses pacientes serem mais suscetíveis a desenvolver mucosite peri-implantar e peri-implantite, e conseqüentemente, apresentam maior risco de perda óssea marginal (Safii et al., 2010).

Essa maior susceptibilidade de infecção peri-implantar pode ser explicada pelo perfil microbiológico dos pacientes periodontalmente comprometidos. Estudos têm demonstrado a associação de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Treponema denticola* (Td), *Tannerella forsythia* (Tf), e *Prevotella intermedia* (Pi) com doenças peri-implantares (Lee et al., 1999b; Cortelli et al., 2013). Uma das possíveis causas da colonização desses periodontopatógenos é a retenção de dentes sem esperança, ou com prognóstico duvidoso, podendo comprometer o resultado do tratamento. Contudo, a extração desses elementos parece não erradicar por completo a presença de patógenos, contudo parece reduzir significativamente a quantidade dessas populações de bactérias colonizando a cavidade oral (Van Assche et al., 2009). Assim, bolsas periodontais dos dentes adjacentes, além da língua, amígdalas e saliva podem ser reservatórios de microorganismos patogênicos (Quirynen et al., 2006; Aoki et al., 2012) que podem colonizar regiões peri-implantares.

A presença dessas bactérias, no entanto, é um fator determinante para o início da doença, mas existem outros também importantes, uma vez que patógenos também podem ser encontrados em condições peri-implantares saudáveis (Cortelli et al., 2013.).

Sendo assim, doenças peri-implantares não dependem apenas da presença bacteriana e da composição do biofilme associado a implantes dentais, mas dependem também dos fatores associados ao paciente, sejam eles modificáveis como a higienização ou não modificáveis, como suscetibilidade genética a infecções (Quirynen et al., 2014).

Desta forma, entendendo que a presença dos periodontopatógenos isoladamente não está necessariamente associada à presença de doença peri-implantar, mas sabendo que esta presença é fundamental para o início do processo, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil microbiológico de sítios peri-implantes em pacientes periodontalmente saudáveis e pacientes com história de periodontite agressiva ou crônica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Sucesso/Sobrevivência dos Implantes Dentários

O prognóstico de implantes dentários em indivíduos com periodontite agressiva e crônica, quando comparados com prognóstico em indivíduos periodontalmente saudáveis, parece ser menos previsível e predispor maiores complicações, como mucosite e peri-implantite. Por isso, torna-se necessária uma revisão referente ao sucesso/sobrevivência dos implantes em pacientes com doença periodontal prévia.

Buser et al., 2012 definiram sucesso como ausência de infecção peri-implantar com supuração, ausência de mobilidade e ausência de radiolucidez peri-implantar contínua ao redor do implante (demonstrando a perda óssea progressiva), enquanto sobrevivência é um termo utilizado para quando, mesmo na presença de sinais de inflamação peri-implantar, o implante atende às necessidades funcionais do paciente.

O Workshop Europeu de Periodontia em 2008 evidenciou os principais indicadores de risco para a sobrevivência do implante e a história de periodontite foi relacionada com o desenvolvimento da doença peri-implantar. Corroborando essa evidência, Levin et al. (2011) e Renvert et al. (2015) descreveram o histórico de doença periodontal como sendo um indicador de risco para o desenvolvimento de doenças peri-implantares.

Um estudo de Rosenberg et al. (2004) comparou a sobrevivência de implantes instalados em pacientes periodontalmente comprometidos (923 implantes) e pacientes periodontalmente saudáveis (588 implantes). A taxa de sobrevivência foi de 93,7% e 90,6% em pacientes comprometidos periodontalmente e saudáveis, respectivamente.

Mengel e Flores-de-Jacoby (2005) estudaram 39 pacientes, com um total de 150 implantes e com mais de 3 anos de acompanhamento, alocando-os em três grupos: HPAgG (n=15), HPCG (n=12) e HSP (n=12). Foram registrados os parâmetros clínicos para profundidade de sondagem, recessão gengival, nível de inserção, índice gengival, índice de placa e a composição da microflora subgengival. O resultado mostrou ligeiro aumento da profundidade das bolsas e da perda de inserção nos pacientes com histórico de periodontite agressiva; a distribuição dos microrganismos revelou condições praticamente saudáveis em todos os grupos, sendo que Aa foi detectada em dois pacientes com histórico de periodontite agressiva, enquanto que Pg e Pi foram encontradas tanto nos pacientes com HPAgG como nos pacientes com HPCG. A taxa de

sucesso dos implantes foi de 100% em HSP e HPCG, enquanto que em pacientes com HPAGG, a taxa foi de 95,7% na maxila e 100 na mandíbula.

Uma revisão sistemática (Schou et al., 2006) mostrou que a história de doença periodontal leva a um aumento significativo na incidência de peri-implantite e um aumento de perda óssea marginal peri-implantar em indivíduos com periodontite associada.

Ferreira et al. (2006) realizaram uma avaliação clínica e radiológica de 212 indivíduos através de uma análise de regressão múltipla a qual apontou a presença de periodontite como uma das variáveis associadas às doenças peri-implantares. Os resultados obtidos mostraram a prevalência de mucosite peri-implantar e peri-implantite de 64,6% e 8,9%, respectivamente.

Um estudo prospectivo de 10 anos de Mengel et al. (2007) foi realizado em indivíduos parcialmente edêntulos com HPAGG e HSP. Ao longo do período de acompanhamento, os parâmetros clínicos peri-implantares, como índice de sangramento gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção foram significativamente maiores em indivíduos com HPAGG do que em indivíduos com HSP. Tais fatores influenciaram as taxas de sobrevivência dos implantes, que foram de 100% em indivíduos com HSP versus 83,33% nos indivíduos com HPAGG.

Em 2008, Gatti et al. avaliaram o resultado de implantes dentários instalados em pacientes parcialmente edêntulos com HPCG grave, com HPCG moderada e HSP. Após 5 anos, os pacientes com HPCG grave e moderada perderam, em média, o dobro da quantidade de osso peri-implantar em comparação com pacientes saudáveis (2,6 mm vs 1,2 mm), sendo que essa diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0.05$). Os autores concluíram que, em pacientes com história de periodontite, esses podem estar relacionadas com maior risco de peri-implantite e falhas de implantes.

A revisão sistemática de Heitz-Mayfield et al. (2008) analisou o diagnóstico e os indicadores de risco para doenças peri-implantares e chegou a algumas conclusões: profundidade a sondagem, presença de sangramento e supuração devem ser avaliados regularmente para o diagnóstico de doenças peri-implantares, e ainda: que existe forte evidência de que a má higiene bucal e história de periodontite são indicadores para doenças peri-implantares.

De Boever et al. (2009) instalaram e acompanharam implantes em 110 pacientes, sendo que 68 desses pacientes tinham HPCG e 16 com HPAGG. Depois do período de acompanhamento de 100 meses, nos quais os pacientes foram inseridos no programa de

manutenção, houve uma significativa diferença na sobrevivência dos implantes entre os grupos de periodontite crônica e agressiva, sendo as taxas de sobrevivência de 96% e 80% respectivamente.

Em 2010, Simonis et al. avaliaram 162 implantes em 76 pacientes que apresentaram histórico de doença periodontal. Eles concluíram que a taxa de sobrevivência de implantes de longo prazo até 16 anos foi de 82,94%. A prevalência de complicações biológicas foi de 16,94%. Em conclusão ao estudo, foi descrito que os pacientes com história de periodontite podem ter menores taxas de sobrevivência de implantes do que pacientes sem história de periodontite. Além disso, os pacientes com doença periodontal prévia foram mais propensos a complicações biológicas como mucosite peri-implantar e peri-implantite.

A sobrevida de implantes foi avaliada por Pjetursson et al. (2012). Nesse estudo, foram instalados implantes em pacientes periodontalmente comprometidos, sendo investigada a influência de bolsas residuais na incidência de peri-implantite e perda de implantes. Dos 165 implantes, 6 foram perdidos, produzindo uma taxa de sobrevivência de 95,8%. O grupo com ocorrência de peri-implantite apresentou aumentado número de bolsas residuais em comparação com o grupo que não apresentou peri-implantite. A conclusão dos autores foi que nos pacientes suscetíveis à periodontite, as bolsas residuais ($PPD \geq 5$ mm) no final da terapia periodontal ativa, representam um risco significativo para o desenvolvimento de peri-implantite e perda de implantes.

Cho Yan Lee et al.(2012) avaliaram 117 implantes instalados em 30 pacientes comprometidos periodontalmente (56 implantes) e 30 pacientes periodontalmente saudáveis (61 implantes). Os pacientes com histórico de periodontite e que apresentavam pelo menos uma bolsa residual ≥ 6 mm foram alocados em um grupo denominado pelos autores de “periodontite residual” (PR); enquanto que os pacientes com histórico de periodontite e que não apresentavam bolsas residuais foram alocados em um grupo denominado “sem periodontite residual” (SPR); e o grupo de pacientes saudáveis (PS). Os resultados obtidos após um período mínimo de acompanhamento de 5 anos mostraram que a prevalência de implantes com bolsas ≥ 5 mm com sangramento foi maior no grupo de pacientes com histórico de periodontite (27% periodontite e 13% saúde). Além disso, a profundidade média do implante e a perda óssea foi significativamente maior no grupo de PR do que nos demais grupos SPR e PS. Os autores mostraram que é a manutenção da saúde periodontal em vez de uma história

prévia de periodontite que é o determinante crítico do risco aumentado de peri-implantite, destacando a importância da terapia periodontal de suporte em pacientes com história de doença periodontal.

A prevalência de mucosite, peri-implantite, sucesso e sobrevida de implantes em 35 pacientes com HPAGG e 18 pacientes HSP foram avaliados por Swierkotetal. (2012). Neste estudo prospectivo os autores obtiveram como resultado taxas de sobrevivência de 100% em indivíduos com HSP versus 96% em pacientes com HPAGG. A taxa de sucesso do implante foi de 33% nos pacientes com HPAGG e 50% nos indivíduos com HSP. Em pacientes com HPAGG, a mucosite estava presente em 56% e peri-implantite em 26% dos implantes. Em indivíduos com HSP, 40% dos implantes apresentaram mucosite e 10% de peri-implantite. Esses resultados sugerem que os pacientes com HPAGG são mais suscetíveis à mucosite e peri-implantite, com menores taxas de sobrevivência e sucesso do implante.

Casado et al. (2013) mostraram que as taxas de sucesso de implantes variaram significativamente entre os pacientes que apresentam antecedentes de periodontite. Para esse estudo, foram selecionados 250 indivíduos, sob manutenção periodontal, com 754 implantes osseointegráveis. Pacientes com histórico de periodontite tiveram 4 vezes mais chance de desenvolver peri-implantite do que pacientes com tecidos periodontais saudáveis. Além disso, os pacientes com periodontite prévia apresentaram maior sangramento na sondagem ($p = 0,002$) e perda óssea em torno do implante ($p = 0,004$) quando comparados aos pacientes com tecidos periodontais saudáveis. Em conclusão, a história de periodontite é um fator de alto risco para o desenvolvimento de doenças peri-implantares.

Em 2014, Rocuzzo et al. compararam os resultados a longo prazo de implantes em 149 pacientes, os quais foram alocados em três grupos de acordo com sua condição periodontal: pacientes saudáveis, pacientes com periodontite moderada e periodontite severa. No final do tratamento periodontal ativo, os pacientes foram inseridos num programa de terapia periodontal de suporte. A taxa de sobrevivência dos implantes foi de 100% para pacientes saudáveis, 96,9% para periodontite moderada e 97,1% para periodontite grave. Aos 10 anos, a porcentagem de implantes, com pelo menos um local que apresentou profundidade de sondagem ≥ 6 mm, foi, respectivamente, 0% para o grupo saúde, 9,4% para periodontite moderada e 10,8% para periodontite grave, com diferença estatisticamente significativa entre pacientes saudáveis e os grupos com periodontite. Este estudo concluiu que implantes, colocados sob controle periodontal

rigoroso oferecem resultados previsíveis em longo prazo. No entanto, pacientes com história de periodontite, que não aderiram totalmente ao tratamento periodontal de suporte, apresentaram um número estatisticamente maior de locais que necessitaram de tratamento adicional.

A partir dos estudos mencionados acima, acredita-se que pacientes com histórico de doença periodontal apresentam maior risco para desencadear uma resposta inflamatória peri-implantar comprometendo a sobrevivência e/ou sucesso do tratamento.

Aspectos Microbiológicos

Há consistentes evidências na literatura de que o acúmulo e especificidade de microrganismos atuam como fator etiológico de doenças peri-implantares, sendo sua presença indispensável para o desenvolvimento de infecções indesejáveis ao redor de implantes, assim como ocorre nas doenças periodontais.

Rams et al. (1983) foi um dos primeiros grupos de pesquisadores a investigar a microbiota do sulco peri-implantar. Eles coletaram amostras de 17 implantes instalados com, no mínimo, 6 meses de 13 pacientes, e observaram através de microscópio de contraste de fase, a presença de espiroquetas e bastonetes móveis ao redor de implantes, mostrando similaridade do tipo de patógenos que colonizam os sítios periodontais e peri-implantares.

Dentes com e sem saúde periodontal e implantes com e sem inflamação do tecido peri-implantar foram avaliados por Sanz et al. (1990). Os sítios doentes, de dentes e de implantes apresentaram um perfil microbiológico muito semelhante, com grandes quantidades de bastonetes anaeróbios gram-negativos; nos sítios sadios de ambos os grupos, a predominância era de cocos e bastonetes gram-positivos facultativos. Os autores afirmaram que a microbiota peri-implantar é semelhante à microbiota periodontal, tanto na condição de saúde como de doença.

Em 1994, Haffajee & Socransky mostraram que os tipos bacterianos mais comumente encontrados nos sítios comprometidos periodontalmente são Aa, Pg e Tf. Esses patógenos são peças-chaves para a ocorrência de periodontite e, provavelmente, também têm um papel significativo no desenvolvimento e na progressão de mucosite peri-implantar e peri-implantite.

George et al. (1994) avaliaram 24 pacientes com 98 implantes. Os sítios peri-implantares foram avaliados quanto à profundidade de sondagem, índice de placa,

índice de sangramento gengival, mobilidade e fluido crevicular. Aa, Pg e Pi foram identificados em 62,5% dos pacientes. Nesse estudo, houve uma correlação positiva entre a profundidade de sondagem e a presença dos microrganismos citados, sugerindo que esses patógenos microbianos associados com periodontite ocorrem mais comumente ao redor de implantes que exibem inflamação gengival e podem contribuir para a ocorrência de peri-implantite.

Patógenos periodontais na região peri-implantar de pacientes com histórico de doença periodontal também foram identificadas por Mombelli et al. (1995). As amostras foram obtidas 3 e 6 meses após a instalação dos implantes. A microbiota encontrada contendo as espécies Pg, Pi e espiroquetas demonstrou grande similaridade à microbiota típica das doenças periodontais.

Papaioannou et al. (1995) avaliaram a relação entre a flora subgengival ao redor de implantes e os parâmetros periodontias. Foram 561 implantes de 279 pacientes analisados por meio de microscopia de contraste de fase. A partir dos parâmetros clínicos, foi possível verificar que, quanto maior a profundidade de sondagem e o tempo de exposição dos implantes na cavidade intra-bucal, maior a quantidade de espiroquetas e microrganismos móveis nos sítios avaliados. Esse estudo enfatizou a importância da saúde periodontal dos dentes remanescentes, para que não se tornem reservatórios de organismos patogênicos.

Em 1996, Quirynen et al. examinaram 159 pacientes que possuíam implantes dentários. A primeira análise referia-se à influência da composição microbiana ao redor dos implantes. Os resultados mostraram que a flora subgengival ao redor dos implantes abrigava mais espiroquetas e bastonetes móveis quando os implantes estavam na mesma arcada ou redor de dentes que continham uma flora patogênica e essa correlação foi significativa ($p < 0,05$). Na segunda parte da análise, por sua vez, foi investigada a influência de dentes comprometidos periodontalmente ao redor de implantes dentários. Os resultados apontaram para a presença de bolsas mais profundas e maior proporção de espiroquetas e microrganismos móveis na região peri-implantar em pacientes com periodontite crônica (21%) e refratária (31,5%), em comparação aos pacientes saudáveis (1,2%). Os achados deste estudo confirmaram a transmissão de microrganismos de dentes para regiões de implantes.

Em relação à composição microbiana, Lee et al. (1999a) avaliaram 43 indivíduos com implantes osseointegráveis. As amostras foram analisadas por meio de sonda de DNA pelo teste de *checkerboard*. Os implantes foram colonizados principalmente por

estreptococos orais, capnocytophage, Veillonellaparvula, Peptostreptococcus micros e *Fusobacterium nucleatum* (Fn). As espécies periodontais, *P. gingivalis*, *B. Forsythus* (atualmente *Tannerella forsythia*), *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *Campylobacter reto* foram detectadas em alguns indivíduos. A colonização por patógenos periodontais, incluindo espécies do complexo vermelho, principalmente Pg e Tf foi maior em indivíduos com doença periodontal prévia.

Um estudo em cães, em que avaliaram a perda de inserção e os parâmetros microbiológicos em torno de dentes e implantes, foi realizado por Nociti et al. (2001). Os pré-molares de 5 cães foram extraídos e 3 meses depois foram instalados implantes na região. Foram, então, colocadas ligaduras ao redor dos dentes e implantes para induzir periodontite e peri-implantite. As amostras foram coletadas antes da colocação das ligaduras e 30 dias após. A presença de Pg, Aa, Pi, Pn, Bf foi avaliada por técnica de PCR em tempo real. Os resultados mostraram que nenhuma das bactérias avaliada foi detectada antes da colocação das ligaduras. No entanto, 30 dias após, Pg estava presente em 95% e 85% e Bf estava presente em 80% e 85% ao redor de implantes e dentes, respectivamente ($p < 0,05$). Os autores concluíram que Pg e Bf estão fortemente associadas à periodontite e à peri-implantite.

Paster et al. (2001) mostraram nesse estudo que a cavidade oral é colonizada por aproximadamente 500 diferentes espécies de bactérias, sendo que 400 dessas espécies podem ser encontradas nas bolsas subgingivais funcionando, por isso, como reservatório de patógenos periodontais.

Em 2006, Quirynen et al. realizaram um estudo em que coletaram biofilme subgingival de bolsas peri-implantares de implantes recém-instalados e de dentes dentro do mesmo quadrante nos quais os implantes foram inseridos. As amostras foram analisadas por meio de hibridização de DNA ou reação de PCR em tempo real. O resultado obtido mostrou que após 7 dias, a frequência de detecção para a maioria das espécies (incluindo as bactérias associadas à periodontite) já era quase idêntica nas amostras das bolsas peri-implantes (5% e 20% da microbiota pertencente ao complexo vermelho e laranja, respectivamente) em comparação com amostras dos dentes de referência. O estudo concluiu que a colonização inicial ao redor de implantes de bactérias associada à periodontite pode ocorrer em até 2 semanas após sua instalação.

Matuliene et al. (2008) indicam que um parâmetro clínico importante a ser analisado é a quantidade e a profundidade das bolsas residuais. Isso porque, quando estas são maiores que 6 mm após o tratamento, torna-se um fator de risco para

progressão da doença periodontal, além de funcionarem como nichos com considerável número de bactérias patogênicas.

Apesar de estudos anteriores (Danser et al., 1994) relatarem o desaparecimento de bactérias patogênicas na boca após extração de dentes comprometidos, podendo prevenir a recolonização de outros, outros estudos, no entanto, mostram que extração parece não erradicar por completo a presença de patógenos. Contudo, permite reduzir significativamente a quantidade dessas populações de bactérias.

Um relato de uma mulher de 45 anos foi descrito por Emrani et al. (2009). Essa paciente apresentava periodontite avançada. Foi avaliada sua microbiota antes e após a exodontia completa e reabilitação com implantes dentários. A cultura microbiológica de três sítios peri-implantes inflamados mostrou um espectro quase idêntico de patógenos, incluindo Pg e Tf e outras bactérias patogênicas importantes características da periodontite agressiva. Como os dentes naturais estavam ausentes por 8 meses, este relato de caso sugere que os patógenos periodontais podem ser mantidos por um período prolongado de tempo em locais não-dentários, de onde eles podem colonizar e comprometer a saúde dos implantes dentários.

Em 2009, Van Assche et al. realizaram uma extração de dentes da boca toda em 9 pacientes e coletaram amostras microbianas de placa subgingival, do dorso da língua e da saliva, antes da extração e amostras do dorso da língua e saliva 6 meses depois da extração. Por meio de análise de PCR quantitativo, os autores mostraram que, embora o resultado da extração dos dentes tenha resultado em redução significativa do número de periodontopatógenos, não foi possível eliminar espécies patogênicas da boca. Assim, a extração de dentes mostra não prevenir a colonização ao redor de outros dentes/implantes.

Quirynen & Van Assche (2011) recrutaram 10 pacientes com periodontite grave em que todos os dentes foram extraídos. Seis meses após a extração dos dentes, os implantes foram inseridos e amostras de placas foram coletadas do dorso da língua, saliva e área subgingival (dentes / implantes) antes da extração até 1 ano após a instalação da prótese. As análises foram realizadas através de cultura, PCR quantitativo e o método DNA *checkerboard*. Foi observada uma redução na quantidade total de bactérias aeróbica e anaeróbia / ml. A concentração de Pg e Tf na saliva e, em menor extensão, no dorso da língua diminuiu. Para Pi, as alterações foram desprezíveis e não foram detectadas alterações nos níveis de Aa. Os nichos subgingivais foram rapidamente colonizados por patógenos. A sua concentração final permaneceu baixa,

enquanto as frequências de detecção permaneceram muito elevadas ao longo do tempo. Os autores concluíram que o edentulismo completo resulta em uma redução significativa de bactérias relacionadas à periodontite e peri-implantite, com exceção de Aa, o que pode indicar que patógenos podem sobreviver sem bolsas periodontais.

A região peri-implantar é composta por uma infecção anaeróbia polimicrobiana, segundo mostrou o estudo de Mombelli e Décaillot (2011), e na maioria dos casos, essa composição é similar à flora subgengival de pacientes com periodontite crônica.

Em 2012 Aoki et al. realizaram um estudo com vinte e um pacientes com implantes dentários. As amostras de placa subgengival dos dentes naturais adjacentes e com dentes ocluindo nos implantes e contralaterais foram coletadas antes da cirurgia de instalação dos implantes. As amostras de sulco de implante foram então obtidas 2 semanas mais tarde. A detecção de bactérias periodontopatógenas foi realizada pela reação de PCR em tempo real. As taxas de detecção de Aa, Pi, Pg, Td, Tf, Fn em todas as amostras subgengivais de dentes naturais foram semelhantes às dos sulcos peri-implantares. Os presentes achados sugerem que a colonização por Aa, Pi, Pg, Td Tf e Fn no sulco do implante foi afetada por esses microorganismos, pelo sulco gengival dos dentes adjacentes e não nos dentes ocludentes e contralaterais.

Cortelli et al. (2012) relacionaram as cepas de Aa e a condição periodontal de 179 indivíduos e observaram que pode haver uma relação entre o tipo de condição periodontal instalada e as cepas de Aa que colonizam as regiões periodontais. Já em 2013 Cortelli et al. avaliaram os tecidos peri-implantares quanto à presença dos microrganismos Pg, Tf, Cr, Pi, Td, Aa. utilizando a técnica de DNA *Checkboarding*, e observaram que, com exceção da Pi, todos os outros tipos bacterianos foram identificados com mais intensidade nos sítios com peri-implantite que nos sítios saudáveis. E, ainda, Pg e bactérias do complexo vermelho são mais frequentes nos sítios com peri-implantite quando comparados aos sítios com mucosite peri-implantar.

Recentemente, a presença de bactérias periodontopatógenas foi considerada por Renvert et al. (2015) um indicador de risco para a ocorrência de mucosite peri-implantar e peri-implantite. A revisão relatou que indivíduos com história de doença periodontal têm um risco aumentado de desenvolver peri-implantite. Há também evidências nesse estudo de que os indivíduos em manutenção regular são menos propensos a desenvolver peri-implantite e que o tratamento bem sucedido da periodontite antes da colocação do implante diminui o risco de peri-implantite.

Os resultados microbiológicos dos estudos coletados na literatura demonstraram que a microbiota do periodonto e do tecido peri-implantar, tanto nas condições de saúde como na doença, parece ser, se não igual, ao menos semelhante. Além disso, bactérias patogênicas encontram reservatórios nas bolsas residuais de dentes e /ou língua, amídalas e saliva de pacientes com história de doença periodontal. Atualmente, a doença periodontal prévia é considerada um importante indicador de risco para o desenvolvimento de doenças peri-implantares; portanto, deve ser tratada cuidadosamente antes da instalação de implantes dentários, sendo esses, colocados em programa de manutenção rigoroso após a reabilitação.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo longitudinal foi avaliar as espécies bacterianas *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia* presentes ao redor de implantes dentários, instalados em pacientes saudáveis e parcialmente edêntulos, e aqueles com história de periodontite agressiva generalizada e crônica generalizada, no período de acompanhamento de 36 meses.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento da população e seleção dos pacientes

Esse estudo de COORTE PROSPECTIVO foi desenhado de acordo com a declaração STROBE e seguiu as normas do Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, sendo aprovado pelo processo 017/2010. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e foram selecionados na Clínica de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas.

Os critérios de inclusão foram: (1) pacientes com idade ≥ 18 anos; (2) ausência de dente unitário, com dentes adjacentes presentes, indicados para reabilitação implanto suportada; (3) pacientes com histórico de periodontite crônica generalizada, pacientes com periodontite agressiva generalizada (Armitage, 1999) e pacientes sem histórico de periodontite; (4) índice de placa (Ainamo&Bay 1975) e índice de sangramento a sondagem (ISS) (Mühlemann&Son 1971) $<20\%$; e (5) assinatura do consentimento informado.

Os critérios de exclusão foram: (1) presença de doenças sistêmicas que afetassem a prevalência das doenças e o processo de cicatrização (como por exemplo, diabetes e osteoporose); (2) fumantes; (3) antibioticoterapia no prazo de 6 meses antes da colocação do implante; (4) gravidez ou lactação; (5) ausência de tecido queratinizado no local do implante; (6) necessidade de enxerto ósseo ou enxerto de tecido mole; (7) periodontite não tratada; e (8) incapacidade ou falta de vontade de cumprir com os procedimentos de estudo e visitas de acompanhamento (não adesão à terapia periodontal de suporte - TPS).

Critérios de saída foram: (1) a retirada voluntária; (2) não-conformidade com os procedimentos do estudo ou visitas; (3) desenvolvimento de doenças sistêmicas ou orais que exigissem o uso de antibióticos.

Os pacientes com periodontite agressiva foram tratados em estudos anteriores (Casarin et al., 2012; do Vale et al., 2015). Na ocasião, receberam debridamento mecânico associado com medicação sistêmica (amoxicilina e metronidazol) ou local (iodopovidona) pelo menos um ano antes da cirurgia de implante. Todos eles foram mantidos em programa de manutenção e receberam raspagem e alisamento radicular nos sítios, apresentando profundidade de sondagem (PS) > 5 mm e sangramento à sondagem (SS) durante esta terapia de suporte. Os pacientes incluídos no grupo com periodontite

crônica também receberam raspagem e alisamento radicular como terapia principal e foram mantidos na TPS.

Alocação dos pacientes e preparo para cirurgia

Os pacientes incluídos foram alocados dentro dos seguintes grupos:

Grupo HPAGG (n=13) - aqueles que tinham histórico de periodontite agressiva generalizada;

Grupo HPCG (n=20) - aqueles que tinham histórico de periodontite crônica generalizada;

Grupo HSP (n=15) - aqueles que tinham um histórico de saúde periodontal e apresentaram perda de dentes devido à cárie, traumatismos ou razões endodônticas.

Após a seleção dos pacientes e verificação dos critérios estabelecidos, procedimentos e exames preparatórios para a cirurgia foram realizados (Figura 1). Concluída a obtenção dos modelos, foi confeccionado o enceramento diagnóstico de cada caso clínico. Exames tomográficos foram analisados, e um *stent* de acetato multifuncional feito foi fabricado para orientação cirúrgica e avaliações clínicas posteriores (Figura 2). Cada paciente recebeu um implante do tipo Tissue Level (Instituto Straumann AG, Basel, Switzerland) (Figuras 3, 4 e 5), sendo que coletas microbiológicas foram realizadas 15 minutos após a cirurgia (Figuras 6 e 7). Após 3 meses da colocação dos implantes, foram instaladas próteses parafusadas (Figura 8). Após a instalação da prótese, foram realizadas consultas semestrais para avaliação clínica, coletas microbiológicas e realização de terapia periodontal de suporte por meio de debridamento mecânico (Figura 9). De acordo com as necessidades do paciente, instrução de higiene oral, remoção de cálculo supragengival, profilaxia com taxas de borracha, e debridamento subgengival de bolsas apresentando PS \geq 5 mm e SS a sondagem foram realizados.

Figura 1 - Região edêntula



Figura 2 – Stent em posição



Figura 3 – Retalho rebatido



Figura 4 – Broca em posição



Figura 5 – Implante em posição



Figura 6 – Coleta microbiológica com cones de papel absorvente – 15 min após a cirurgia



Figura 7 – Cones de papel no tubo de eppendorf
com solução de Tris-EDTA (pH = 8,0)



Figura 8 – Instalação da prótese



Figura 9 – Coleta microbiológica com
cones de papel após a instalação da
prótese



Análise microbiológica

Coleta do biofilme subgingival

As coletas microbiológicas dos sítios peri-implantares foram obtidas nos seguintes tempos: (1) 15 minutos após a instalação dos implantes; (2) 7 dias da instalação da prótese; (3) 6 meses; (4) 12 meses; (5) 24 meses; (6) 36 meses após a instalação da prótese sobre implante.

A área da coleta peri-implantar foi devidamente isolada e seca com gazes estéreis. A porção supragengival do biofilme bacteriano foi removida, para então se obter amostras do biofilme subgingival. Foram colocados 4 cones de papel estéreis no interior do sulco peri-implantar, sendo que cada um dos 4 cones foi introduzido nas seguintes faces do sulco peri-implantar: méso-vestibular, disto-vestibular, méso-lingual, disto-lingual. Após 30 segundos, os cones de papel foram removidos e colocados em tubos para microcentrifugação (eppendorf) com solução de 300 microlitros (μ l) de Tris-EDTA, codificados para cada paciente. Os eppendorfs foram mantidos em temperatura de -20° C até a realização do ensaio.

Extração do DNA

Inicialmente, os tubos foram vortexados e os cones de papel removidos com auxílio de pinça clínica. As amostras foram, então, centrifugadas para remoção do sobrenadante (solução transporte – TE: 10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA, pH 8.0). Depois disso, foram adicionados 700 μ L de tampão de extração, feita nova vortexação das amostras e então deixadas em banho-maria por 30 minutos à 65° C (a cada 10 minutos homogeneizou-se 20 vezes, suavemente).

A próxima etapa foi adicionar 650 μ L de clorofórmio (CIA), homogeneizar até formar uma emulsão (20 vezes) e centrifugar à 12.000-15.000 rpm, durante 7 minutos. A fase aquosa foi transferida para tubo novo de 1,5 mL, ao qual foi adicionado 200 μ L de tampão de extração sem proteinase K. Foram realizadas homogeneização para adição de 650 μ L de CIA. Seguiu-se uma nova homogeneização e centrifugação à 12.000-15.000 rpm, durante 7 minutos.

A fase aquosa foi transferida para outro tubo novo, ao qual foi adicionado 650 µL de CIA, seguindo-se a centrifugação à 12.000-15.000 rpm, durante 7 minutos. O DNA foi precipitado com 1 volume de isopropanol à temperatura ambiente para então ser feita homogeneização (20 vezes), e depois disso, foi colocado no freezer -20°C por 20 minutos. Posteriormente, seguiu-se a centrifugação à 12.000-15.000 rpm, durante 7 minutos. O precipitado foi lavado com 300 µL de etanol 70% e então centrifugado por 7 minutos. Após a secagem do precipitado, foi feita a ressuspensão de TE. Após, foi feita ressuspensão em 30 µL de TE. A concentração do DNA de cada amostra foi estimada utilizando dois µL da amostra no aparelho NanoDrop (NanoDrop2000 UV-Vis Spectrophotometer)

Avaliação microbiológica quantitativa – Reação em cadeia de polimerase em tempo real (PCR)

As análises microbiológicas foram realizadas por um examinador cego que não conhecia o grupo dos pacientes. A avaliação microbiológica foi realizada por meio da reação de polimerase em cadeia (PCR) em tempo real. Esse teste foi utilizado com o objetivo de detecção quantitativa dos periodontopatógenos Aa, Pg e Tf.

Foram utilizados primers específicos para as bactérias que foram avaliadas (Tabela 1). Todos os primers foram verificados quanto a sua especificidade através da verificação da curva de Melting (obtida depois de corrida no LightCycler) e correndo gel para verificação dos produtos. A determinação do teor de DNA nos controles foi baseada no tamanho do genoma de cada bactéria e o peso médio de um par de nucleótidos.

As reações de PCR em tempo real foram realizadas com o sistema Light Cycler (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), utilizando-se o kit Fast Start DNA Master SYBR Green I (Roche Diagnostics Co.). O perfil das reações foi determinado seguindo as recomendações do fabricante do equipamento. Para cada uma das “corridas”, a água foi utilizada como controle negativo, e o produto das reações foi quantificado utilizando-se o programa do próprio fabricante (Light Cycler Relative Quantification Software - Roche Diagnostics GmbH).

A concentração de DNA utilizada em cada “corrida” foi de 10 ng/ µl. Os perfis de amplificação foram como se segue: 95/10, 55/5, 72/4 [temperatura (1 ° C) / tempo

(s)], e 40 ciclos para o Pg; 95/10, 55/5, 72/6, e 45 ciclos para Tf; e 95/10, 55/5, 72/3, e 40 ciclos para Aa (Tabela 2). Os picos de fusão foram usados para determinar a especificidade da PCR.

Tabela 1: Primers utilizados na reação de PCR quantitativo

BACTÉRIA	Primer 5'-3'	Primer 3'- 5'
<i>P. gingivalis</i>	CATAGATATCACGAGGAACTCCGATT	AAACTGTTAGCAACTACCGATGTGG
<i>T. forsythia</i>	CGTTTCCGAAGAGTATAACCACA	CATGCAGCTTGATATTCTGAGG
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	GAACCTTACCTACTCTTGACATCCGAA	TGCAGCACCTGTCTCAAAGC

Tabela 2: Temperatura de anelamento e ciclos de cada espécie bacteriana

BACTÉRIA	Temperatura de anelamento – Ciclos
<i>P. gingivalis</i>	95/10, 55/5, 72/4 – 40
<i>T. Forsythia</i>	95/10, 55/5, 72/6 – 45
<i>A. Actinomycetemcomitans</i>	95/10, 55/5, 72/3 – 40

Análise Estatística

Apenas os dados de pacientes que estiveram presentes em todas as consultas para as coletas de biofilme foram usados na análise estatística. As análises foram realizadas com o SAS 9.1 (SAS Software; SAS Institute, Cary, NC, EUA) para os dados demográficos e Bioestat 5.0 (Instituto Mamirauá, Belém, PA, Brasil) para análise dos dados obtidos por meio do PCR, com um nível de significância de 0,05.

Os dados foram avaliados quanto à normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Aqueles que apresentaram um valor de p Shapiro-Wilk $> 0,05$ foram analisados por ANOVA seguido de Tukey. Aqueles que apresentam um valor de p Shapiro-Wilk $\leq 0,05$ foram analisados pelo teste de Friedman (comparações intragrupos) e Teste Kruskal-Wallis (comparação intergrupos).

5 RESULTADOS

O estudo iniciou com 48 pacientes, sendo 13 pacientes do grupo HPAGG, 20 pacientes do grupo HPCG e 15 pacientes do grupo HSP. Do total de 48 pacientes, 44 concluíram os 36 meses de acompanhamento. Isso porque 1 indivíduo do grupo HPAGG saiu do estudo; 2 do grupo HPCG e 1 do HSP fizeram uso de antibiótico nesse período e suas coletas foram excluídas da análise microbiológica (Figura 1).

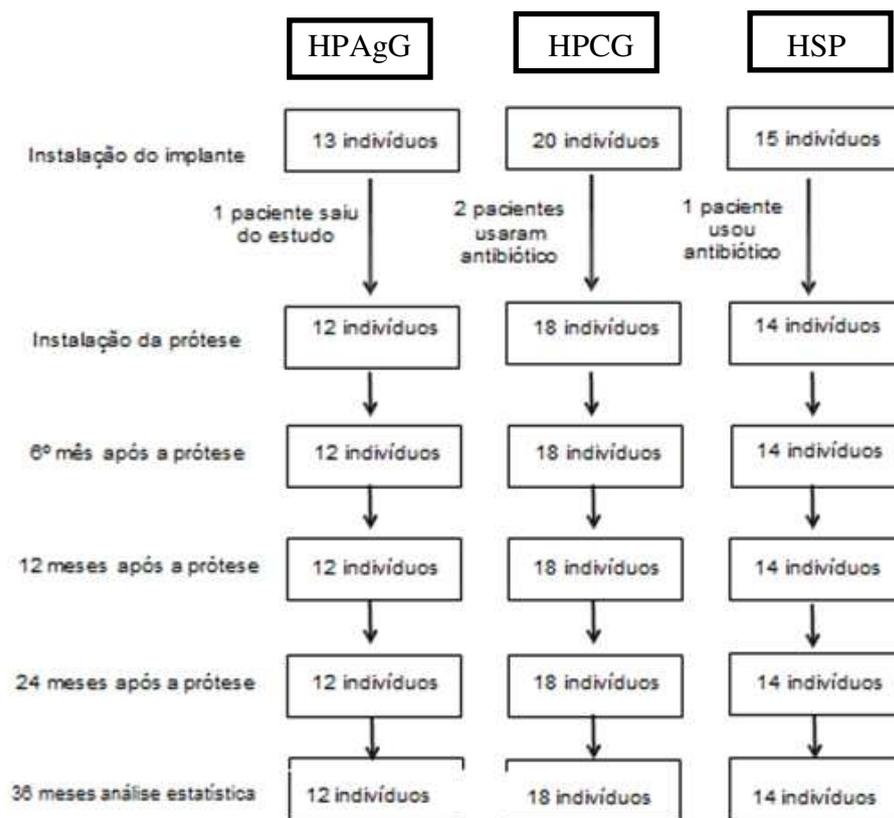


Figura 10 - Alocação dos pacientes nos diferentes grupos e evolução da permanência no estudo ao longo do tempo.

Em relação aos dados demográficos às diferenças de idade foram significantes entre os grupos HPAGG ($31 \pm 3,5$ A) e HPCG ($49,5 \pm 6,8$ B), assim como entre os grupos HPAGG ($31 \pm 3,5$ A) e HSP ($64,2 \pm 13,7$ B). Em relação à idade, o gênero feminino foi predominante nos três grupos do estudo, apresentando 91,2%, 72,2% e 64,2%, nos grupo HPAGG, HPCG e HSP, respectivamente. A distribuição entre os arcos maxilares foi similar entre os grupos.

Tabela 3 - Distribuição dos dados demográficos em relação à idade, gênero e distribuição dos implantes no arco dental.

Parâmetro	HPAgG	HPCG	HSP
Idade (média±dp)	31±3,5 A	49,5±6,8 B	64,2±13,7 B
Gênero (% feminino)	91,2	72,2	64,2
Arco dental (%Mandíbula)	50,0	50,0	64,3
Região (Anterior)	50,0	11,1	7,14

Tabela 4 - Quantidades de Aa, Pg e Tf (concentrações apresentadas em logaritmo na base 10) em biofilme peri-implantar subgingival, em pacientes sem histórico de doença periodontal ou com história de periodontite agressiva generalizada ou periodontite crônica generalizada, no momento de instalação do implante (baseline), 7 dias após a instalação da prótese (Prótese), e nos acompanhamentos de 6 meses, 12 meses, 24 meses e 36 meses após a instalação da prótese.

Bactéria	Baseline	Prótese	6m	12m	24m	36m
Aa						
HPAgG	3.8 ± 2.4 Aa	2.9 ± 2.7 Aab	2.4 ± 2.9 Aab	2.5 ± 2.7 Aab	1.4 ± 2.4 Ab	2.3 ± 1.9 Aab
HPCG	1.9 ± 3.0 Ba	2.1 ± 2.5 Aba	1.8 ± 2.6 Aa	1.5 ± 2.0 Aa	2.9 ± 1.9 Aa	3.0 ± 1.9 Aa
HSP	1.2 ± 2.7 Bb	1.7 ± 2.1 Ba	1.8 ± 2.6 Aa	1.9 ± 2.2 Aa	1.7 ± 2.1 Aa	3.2 ± 1.8 Ab
Tf						
HPAgG	3.3 ± 3.1 Aa	4.2 ± 2.3 Aa	2.9 ± 3.3 Aa	2.5 ± 2.7 Aa	5.0 ± 0.2 Aa	2.4 ± 2.8 Aa
HPCG	3.1 ± 3.2 Aa	2.6 ± 2.8 Aa	2.0 ± 2.8 Aa	3.6 ± 2.8 Aa	4.0 ± 2.2 Aa	3.7 ± 2.4 Aa
HSP	2.4 ± 3.1 Aa	4.0 ± 2.3 Aa	2.9 ± 2.9 Aa	3.3 ± 2.6 Aa	3.7 ± 2.5 Aa	4.8 ± 1.8 Aa
Pg						
HPAgG	1.9 ± 1.8 Aa	1.4 ± 2.1 Ba	1.1 ± 2.0 Aa	2.3 ± 2.2 Aa	2.9 ± 2.5 Aa	1.0 ± 1.9 Aa
HPCG	1.5 ± 1.9 Aa	2.6 ± 2.1 Aba	0.8 ± 1.5 Aa	1.1 ± 1.9 Aa	3.1 ± 2.0 Aa	1.9 ± 2.2 Aa
HSP	1.5 ± 2.0 Aa	3.2 ± 1.9 Aa	1.4 ± 2.0 Aa	0.8 ± 1.7 Aa	3.7 ± 1.6 Aa	1.9 ± 2.3 Aa

As letras maiúsculas distintas na coluna indicam diferença estatisticamente significativa através de testes de Kruskal Wallis ($p < 0,05$), e as letras minúsculas distintas na linha indicam diferença estatisticamente significativa pelo teste de Friedman ($p < 0,05$).

Foram observadas diferenças intergrupos nos níveis desse de Aa nos dois períodos iniciais de coletas ($p < 0,05$). No baseline, o grupo HPAgG apresentou concentração de Aa (3.8 ± 2.4) maior que nos grupos HPCG (1.9 ± 3.0) e HS (1.2 ± 2.7). Sete dias após a instalação da prótese, o grupo HPAgG obteve maior concentração

(2.9 ± 2.7) quando comparado com o grupo HSP (1.7 ± 2.1), sem diferença estatística nesse período em relação ao grupo HPCG. Não foram observadas diferenças intergrupos nos níveis de Tf em nenhum período do estudo. Quanto ao Pg, foram observadas diferenças intergrupos ao serem comparados o grupo HPAGG (1.4 ± 2.1) e HSP (3.2 ± 1.9) na coleta realizada após a instalação da prótese ($p < 0,05$). No entanto, em todos os outros períodos não foram observadas diferenças estatisticamente significantes.

Nas comparações intragrupos, diferenças foram observadas nas concentrações de Aa ao longo do tempo. No grupo HPAGG, a concentração dessa bactéria diminuiu de forma significativa aos 24 meses em comparação com aos meses iniciais. Todavia, sua concentração voltou a aumentar aos 36 meses de acompanhamento. Já no grupo de HPCG, no período de instalação da prótese, houve um aumento significativo, tendo diminuído sua concentração nos meses subsequentes. Em relação ao grupo HSP, a concentração de Aa no período de instalação da prótese foi maior em relação ao baseline, manteve-se similar até os 24 meses de acompanhamento; e, aos 36 meses, ocorreu um aumento significativo. Não foram observadas diferenças intragrupo nos níveis de Tf. Em relação à Pg, houve uma diferença entre os tempos de baseline e a instalação da prótese no grupo HPCG. Contudo, nos outros períodos de acompanhamento não foram obtidas diferenças significativas.

6 DISCUSSÃO

Embora estudos prévios tenham indicado que complicações biológicas como infecções peri-implantares parecem ser mais frequentes em indivíduos com histórico de periodontite, e que o perfil microbiológico destes pacientes possa ser um dos fatores associados a este fato (Schou et al., 2006; Levin et al., 2011; Cortelli et al., 2013; Renvert et al., 2015), o presente estudo, no acompanhamento de longo prazo, não demonstrou diferenças significativas entre pacientes com diferentes perfis periodontais, no que se refere à presença de três periodontopatógenos Aa, Pg e Tf.

Os três patógenos periodontais Aa, Pg e Tf estavam presentes no sulco peri-implantar de pacientes saudáveis e com história de doença periodontal crônica e agressiva. Os achados corroboram os trabalhos de Casado et al., 2011 e Cortelli et al., 2013 que também detectaram esses patógenos em implantes de indivíduos saudáveis e com histórico de doença.

A presença de Aa, Pg e Tf foi correlacionada com maior profundidade de sondagem, maior sangramento e maior taxa de fluido do sulco gengival (George et al., 1994; Mombelli et al., 1995; Lee et al., 1999a). Mas, Casado et al. (2011) indicaram que a presença desses patógenos periodontais por si só nos sulcos peri-implantes não leva necessariamente à destruição ou mesmo a sintomas inflamatórios, porém é a combinação de fatores, incluindo genética, resposta inflamatória e sobrecarga oclusal que poderá desencadear doenças peri-implantares.

Foi observada maior concentração de Aa no período pós-cirúrgico nos pacientes com HPAgG em relação aos pacientes do grupo HPCG e HS. Além disso, após 7 dias da instalação da prótese houve maior concentração de Aa no grupo HPAgG em relação ao grupo HS. Aa é um anaeróbio facultativo e tem sido associado à etiologia de doenças periodontais. Estudos relatados na literatura mostraram níveis mais altos de Aa em pacientes com periodontite agressiva comparado aos pacientes com periodontite crônica (Schacher et al., 2007, Casarin et al., 2010), o que poderia justificar essa diferença entre os grupos após a instalação dos implantes.

Após a instalação dos cicatrizadores e da prótese implanto-suportada, os níveis de Aa nos grupos HPCG e HSP tiveram um aumento significativo. Uma possível justificativa para esse fato é a interface existente entre o implante e a prótese que pode funcionar como nicho para colonização de microrganismos (Broggini et al., 2006).

Contudo, a manutenção periódica dos implantes foi importante para que os níveis de Aa sofresse redução e voltasse aos níveis iniciais nos demais períodos de acompanhamento.

Outra discussão importante é em relação ao sorotipo de Aa. Segundo Cortelli et al., 2012, as cepas de Aa são classificadas em seis sorotipos (a-f). Nesse estudo foram relacionadas as cepas de Aa e condição periodontal de 179 indivíduos positivos para pelo menos um sorotipo de Aa. Os autores concluíram que existem sorotipos associados à condição periodontal saudável ou doente, sendo o sorotipo 'a' ligado a um diagnóstico sem periodontite ($p < 0,05$), o sorotipo 'b' para periodontite agressiva ($p < 0,05$) e sorotipo 'c' para periodontite crônica leve ($p < 0,05$). Os diferentes tipos de sorotipos, no entanto, são muito variáveis nas diferentes populações em todo o mundo. No presente trabalho, com a reabilitação por implantes, observamos maior presença de Aa nos meses iniciais de acompanhamento. Porém, nos demais períodos não houve diferença significativa da concentração de Aa, podendo sugerir inatividade da doença nesses indivíduos. Essa inatividade pode estar relacionada ao sorotipo de Aa que está colonizando as regiões peri-implantares, o que deverá ser confirmado em estudos futuros realizando a determinação do sorotipo.

Em relação à bactéria Tf, o estudo de Tomita et al. (2013) mostrou prevalência relativamente alta dessa bactéria nos grupos com periodontite crônica e agressiva, e ainda, a proporção de Tf foi 4 vezes maior no grupo que apresentava periodontite crônica do que no grupo com periodontite agressiva. O seu mecanismo de ação na participação da destruição dos tecidos periodontais ainda não foi totalmente elucidado. O estudo de Hockensmith et al. (2016) sugeriu que seu efeito patogênico esteja ligado a fatores de virulência que incluem proteínas de superfície associadas à invasão de células epiteliais com destruição do colágeno tipo I e pelo fato de possuir uma camada superficial glicosilada que suprime a imunidade do hospedeiro. Os resultados de uma revisão sistemática realizada por Pérez-Chaparro et al. (2016) sugerem evidências moderadas da associação de Tf com doença peri-implantar. Já um estudo em animais realizado por Nociti et al. (2001) mostra uma forte relação de Tf e doenças peri-implantares. Cortelli et al. (2013), Mombelli e Décaillet (2011) e Aoki et al., 2012 também mostram que a presença desse patógeno é frequente nas infecções peri-implantares. No presente estudo, no entanto, a diferença entre os grupos e em todo período de acompanhamento para concentrações de Tf não foi significativa, podendo indicar que a terapia de suporte foi importante para manter Tf em níveis estáveis. Retornando ao estudo de Tomita et al. (2013), também foi relatada correlação positiva

entre o número de bactérias totais, Pg e Tf e os parâmetros periodontais (profundidade de sondagem e nível de inserção clínica), podendo indicar que se os níveis dessas bactérias permanecerem estáveis, como neste estudo, pode haver um impacto positivo sobre os parâmetros clínicos.

A prevalência de Pg é maior em indivíduos com periodontite crônica do que em indivíduos periodontalmente saudáveis (Cortelli et al., 2013), assim como pacientes com periodontite agressiva parecem possuir maior quantidade de Pg comparados aos pacientes com periodontite crônica (Casarin et al., 2010). Esta bactéria segundo Cugini et al. (2013) tem sido considerada como um membro natural da microbiota humana. Porém, diante de certas perturbações ao hospedeiro e/ou à microflora pode causar patologias por ser uma bactéria altamente proteolítica, podendo por isso, causar destruição periodontal. De acordo com esses autores, a Pg é encontrada em maior quantidade em pacientes com doença periodontal ativa e pode ser capaz de modificar a comunidade microbiana (que é composta predominantemente de organismos comensais) de uma condição de saúde, para organismos anaeróbios gram-negativos responsáveis pela progressão da doença. Os resultados do presente estudo relacionados à Pg revelaram similaridade na concentração desta bactéria entre os grupos ao longo de quase todo o tempo de acompanhamento, indicando não haver perturbações ao hospedeiro e/ou à microflora que fossem capazes de permitir que os níveis de Pg sofressem aumento e alterassem a microbiota, o que poderia promover recidiva das doenças periodontais.

Ainda com relação à Pg, os resultados mostraram que aos 7 dias após da instalação da prótese implanto-suportada, os pacientes do grupo HSP apresentaram maiores níveis de Pg do que os pacientes do grupo HPAGG. Uma possível explicação é o perfil dos pacientes do grupo saúde, uma vez que, apesar desses indivíduos não apresentarem histórico de periodontite, são pacientes que têm em seu histórico perda dental ocasionada por diversas complicações oriundas da presença de biofilme. Seja devido ao insuficiente controle da higiene oral, como cárie e infecção endodôntica, seja devido a uma condição causada por trauma.

O controle adequado da higiene oral é um importante e imprescindível fator para manter a saúde dos tecidos peri-implantares em pacientes com ou sem histórico de periodontite. É possível perceber na prática clínica, contudo, que pacientes com histórico de periodontite, em especial periodontite agressiva, quando bem instruídos e elucidados de sua condição periodontal, mostram-se mais comprometidos com o

tratamento e com o controle do biofilme do que os demais pacientes. Isso pelo fato desses pacientes serem vítimas de perda dental de forma muito mais precoce, ocasionando impacto na qualidade de vida. Assim sendo, a manutenção em níveis baixos dessas bactérias patogênicas neste estudo ao longo de 36 meses de acompanhamento pode ser explicada pela adesão dos pacientes à terapia periodontal de suporte, sendo essa periódica e rigorosa.

O efeito esperado da terapia periodontal de suporte, no que se refere aos níveis microbiológicos, não é a eliminação por completo dos patógenos periodontais, sua eficácia é devido a sua capacidade de reduzir os níveis desses patógenos na cavidade oral, como forma de evitar a recidiva ou progressão da doença periodontal, como mostra o estudo de Cugini et al. (2000). Nesse estudo, os autores observaram mudança do perfil microbiológico após terapia de manutenção. Isso porque as espécies patogênicas foram substituídas por outros tipos bacterianos, o que proporcionou melhora no quadro clínico e estabilidade em longo prazo dos resultados obtidos no tratamento inicial.

Uma revisão sistemática recente de Gay et al. (2016) investigou o impacto das consultas de manutenção periodontal em pacientes que receberam implantes por meio de uma análise de regressão múltipla, em que incluíram diferentes variáveis, dentre elas terapia de manutenção periodontal. Os resultados mostraram que indivíduos em manutenção regular têm a taxa de perda de implantes reduzida em até 90% quando comparados com indivíduos sem manutenção ($p < 0,001\%$). E ainda: que se pacientes têm ao menos uma consulta de manutenção anual, a taxa de perda de implantes sofre uma redução de até 60% em relação aos pacientes sem manutenção periodontal. Em outro estudo, Cho-Yan Lee et al. (2012) avaliaram 117 implantes instalados em pacientes com periodontite prévia e pacientes saudáveis. Concluíram que é a manutenção da saúde periodontal em vez de uma história prévia de periodontite o determinante crítico do risco aumentado de peri-implantite, destacando a importância da terapia de suporte em pacientes com história de periodontite.

Pacientes reabilitados com implantes osseointegrados devem estar introduzidos em rigorosa manutenção para sobrepor os demais fatores responsáveis pelo desencadeamento de processos inflamatórios, como os fatores microbianos ou ligados à resposta inflamatória característica de cada indivíduo. Não sendo o histórico de doença, *per se*, determinante para uma colonização microbiana patogênica.

7 CONCLUSÃO

Os níveis das espécies bacterianas *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia* mantiveram-se constantes ao redor de implantes dentários osseointegrados instalados em diferentes perfis de paciente; sejam eles sem histórico de periodontite ou com histórico de periodontite, agressiva e crônica, após um período de 36 meses de acompanhamento.

REFERÊNCIAS

Aoki M, Takanashi K, Matsukubo T, Yajima Y, Okuda K, Sato T, Ishihara K. Transmission of periodontopathic bacteria from natural teeth to implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012 Jun; 14(3):406-11.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Northwest Dent*. 2000 Nov-Dec; 79(6):31-5.

Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D et al. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res* 2006 May; 85 (5) : 473-478.

Buser D, Janner SF, Wittneben JG, Brägger U, Ramseier CA, Salvi GE. 10-year survival and success rates of 511 titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a retrospective study in 303 partially edentulous patients. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012 Dec;14(6):839-51.

Casado PL, Otazu IB, Balduino A, de Mello W, Barboza EP, Duarte ME. Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Implant Dent*. 2011 Jun;20(3):226-35.

Casado PL, Pereira MC, Duarte ME, Granjeiro JM. History of chronic periodontitis is a high risk indicator for peri-implant disease. *Braz Dent J*. 2013; 24(2):136-41.

Casarin RC, Ribeiro Edel P, Mariano FS, Nociti FH Jr, Casati MZ, Gonçalves RB. Levels of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, inflammatory cytokines and species-specific immunoglobulin G in generalized aggressive and chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2010 Oct;45(5):635-42.

Cho-Yan Lee J, Mattheos N, Nixon KC, Ivanovski S. Residual periodontal pockets are a risk indicator for peri-implantitis in patients treated for periodontitis. *Clin Oral Implants Res*. 2012 Mar; 23(3):325-33.

Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Roman-Torres CV, Franco GC, Gomez RS, Batista LH, Costa FO. Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotypes infections and periodontal conditions: a two-way assessment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 Jul;31(7):1311-8.

Cortelli SC, Cortelli JR, Romeiro RL, Costa FO, Aquino DR, Orzechowski PR, Araújo VC, Duarte PM. Frequency of periodontal pathogens in equivalent peri-implant and periodontal clinical statuses. *Arch Oral Biol*. 2013 Jan; 58(1):67-74.

Cugini C, Klepac-Ceraj V, Rackaityte E, Riggs JE, Davey ME. Porphyromonas gingivalis: keeping the pathos out of the biont. *J Oral Microbiol*. 2013; 5.

Cugini MA, Haffajee AD, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol*. 2000 Jan; 27(1):30-6

Danser MM, van Winkelhoff AJ, de Graaff J, Loos BG, van der Velden U. Short-term effect of full-mouth extraction on periodontal pathogens colonizing the oral mucous membranes. *J Clin Periodontol*. 1994 Aug; 21(7):484-9.

De Boever AL, Quirynen M, Coucke W, Theuniers G, De Boever JA. Clinical and radiographic study of implant treatment outcome in periodontally susceptible and non-susceptible patients: a prospective long-term study. *Clin Oral Implants Res* 2009; 20: 1341-1350.

Emrani J, Chee W, Slots J. Bacterial colonization of oral implants from nondental sources. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009; 11(2):106–12.

Ferreira SD, Silva GLM, Cortelli JR, Costa JE, Costa FO. Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 929-935.

Gatti C, Gatti F, Chiapasco M, Esposito M. Outcome of dental implants in partially edentulous patients with and without a history of periodontitis: a 5-year interim analysis of a cohort study. *Eur J Oral Implantol*. 2008 Spring; 1(1):45-51.

Gay IC, Tran DT, Weltman R, Parthasarathy K, Diaz-Rodriguez J, Walji M, Fu Y, Friedman L. Role of supportive maintenance therapy on implant survival: a university-based 17 years retrospective analysis. *Int J Dent Hyg.* 2016 Nov;14(4):267-27.

George K, Zafiroopoulos G G, Murat Y, Hubertus S, Nisengard RJ. Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. *J Periodontol.* 1994; 65:766-70. 72.

Heitz-Mayfield LJ. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol.* 2008 Sep; 35(8 Suppl):292-304.

Hockensmith K, Dillard K, Sanders B, Harville BA. Identification and characterization of a chymotrypsin-like serine protease from periodontal pathogen, *Tannerella forsythia*. *Microb Pathog.* 2016 Nov; 100:37-42.

Karoussis IK, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Brägger U, Hämmerle CH, Lang NP. Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10-year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Jun; 14(3):329-39.

Kim KK, Sung HM. Outcomes of dental implant treatment in patients with generalized aggressive periodontitis: a systematic review. *J Adv Prosthodont.* 2012 Nov; 4(4):210-7.

Lee KH, Maiden MF, Tanner AC, Weber HP. Microbiota of successful osseointegrated dental implants. *J Periodontol* 1999; 70(2): 131-8. (a)

Lee KH, Tanner AC, Maiden MF, Weber HP. Pre- and post-implantation microbiota of the tongue, teeth, and newly placed implants. *J Clin Periodontol* 1999; 26(12): 822-32. (b)

Levin L, Ofec R, Grossmann Y, Anner R. Periodontal disease as a risk for dental implant failure over time: a long-term historical cohort study. *J Clin Periodontol* 2011; 38(8): 732-7.

Mengel R, Behle M, Flores-de-Jacoby L. Osseointegrated implants in subjectstreated for generalized aggressive periodontitis: 10-year results of a prospective, long-term cohort study. *J Periodontol*. 2007 Dec; 78(12):2229-37

Mengel R, Flores-de-Jacoby L. Implants in patients treated for generalized aggressive and chronic periodontitis: a 3-year prospective longitudinal study. *J Periodontol* 2005; 76: 534-43.

Mombelli A, Marxer M, Gaberthüel T, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1995 Feb; 22(2):124-30.

Mombelli A, Décaillot F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol*. 2011 Mar; 38 Suppl 11:203-13.

Nociti JR. FH, Toledo RC, Machado MAN, Stefani CM, Line SRP, Gonçalves RB. Clinical and microbiological evaluation of ligature-induced peri-implantitis and periodontitis in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2001; 12:295-300.

Papaioannou W, Quirynen M, Nys M, van Steenberghe D. The effect of periodontal parameters on the subgingival microbiota around implants. *Clin Oral Implants Res*. 1995; 6:197-204.

Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol*. 2001 Jun; 183(12):3770-83.

Pérez-Chaparro PJ, Duarte PM, Shibli JA, Montenegro S, Lacerda Heluy S, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. The Current Weight of Evidence of the

Microbiologic Profile Associated With Peri-Implantitis: A Systematic Review. *J Periodontol*. 2016 Nov; 87(11):1295-1304.

Pjetursson BE, Helbling C, Weber HP, Matuliene G, Salvi GE, Brägger U, Schmidlin K, Zwahlen M, Lang NP. Peri-implantitis susceptibility as it relates to periodontal therapy and supportive care. *Clin Oral Implants Res*. 2012 Jul; 23(7):888-94.

Quirynen M, Abarca M, Van Assche N, Nevins M, van Steenberghe D. Impact of supportive periodontal therapy and implant surface roughness on implant outcome in patients with a history of periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007; 34(9): 805-15.

Quirynen M, Herrera D, Teughels W, Sanz M. Implant therapy: 40 years of experience. *Periodontol 2000*. 2014 Oct; 66(1):7-12.

Quirynen M, Van Assche N. Microbial changes after full-mouth tooth extraction, followed by 2-stage implant placement. *J Clin Periodontol*. 2011 Jun; 38(6):581-9.

Quirynen M, Vogels R, Peeters W, et al. Dynamics of initial subgingival colonization of pristine peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17(1):25–37.

Rams TE, Roberts TW, Tatum H, Keyes PH. The subgingival microbial flora associated with human dental implants. *J Prosthetic Dent*. 1984; 51:529-34.

Renvert S, Quirynen M. Risk indicators for peri-implantitis. A narrative review. *Clin Oral Implants Res*. 2015 Sep; 26 Suppl 11:15-44.

Roccuzzo M, Bonino L, Dalmaso P, Aglietta M. Long-term results of a three arms prospective cohort study on implants in periodontally compromised patients: 10-year data around sandblasted and acid-etched (SLA) surface. *Clin Oral Implants Res*. 2014 Oct; 25(10):1105-12.

Rosenberg ES, Cho SC, Elian N, Jalbout ZN, Froum S, Evian CI. A comparison of characteristics of implant failure and survival in periodontally compromised and periodontally healthy patients: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004 Nov-Dec; 19(6):873-9.

Safii SH, Palmer RM, Wilson RF. Risk of implant failure and marginal bone loss in subjects with a history of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2010 Sep; 12(3):165-74.

Sanz M, Newman MG, Nachnami S, Holt R, Stewart R, Flemmig T. Characterization of the subgingival microbial flora around endosteal sapphire dental implants in partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1990; 5: 247-53.

Schacher B, Baron F, Rossberg M, Wohlfeil M, Arndt R, Eickholz P. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as indicator for aggressive periodontitis by two analysing strategies. *J Clin Periodontol*. 2007 Jul; 34(7): 566-73.

Schou S, Holmstrup P, Worthington HV, Esposito M. Outcome of implant therapy in patients with previous tooth loss due to periodontitis. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Oct; 17 Suppl 2:104-23.

ShoYan Lee J, Mattheos N, Nixon KC, Ivanovski S. Residual periodontal pockets are a risk indicator for periimplantitis in patients treated for periodontitis. *Clin Oral Implants Res*. 2012; 23(3):325-33.

Simonis P, Dufour T, Tenenbaum H. Long-term implant survival and success: a 10-16-year follow-up of non-submerged dental implants. *Clin Oral Implants Res*. 2010 Jul; 21(7):772-7.

Swierkot K, Lottholz P, Flores-de-Jacoby L, Mengel R. Mucositis, peri-implantitis, implant success, and survival of implants in patients with treated generalized aggressive periodontitis: 3- to 16-year results of a prospective long-term cohort study. *J Periodontol*. 2012 Oct; 83(10):1213-25.

Tomita S, Komiya-Ito A, Imamura K, Kita D, Ota K, Takayama S, Makino-Oi A, Kinumatsu T, Ota M, Saito A. Prevalence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* in Japanese patients with generalized chronic and aggressive periodontitis. *Microb Pathog*. 2013 Aug-Sep; 61-62:11-5.

Van Assche N, Van Essche M, Pauwels M, Teughels W, Quirynen M. Do periodontopathogens disappear after full-mouth tooth extraction? *J Clin Periodontol*. 2009 Dec; 36(12):1043-7.

ANEXO 1




COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Implantes dentais osseointegrados em pacientes com histórico de periodontite agressiva e crônica. Avaliação clínica, microbiológica e imunocenzimática", protocolo nº 017/2010, CAEE-0015.0.167.0000-10, dos pesquisadores **RENATO CORRÊA VIANA CASARIN, FERNANDA FELIX CORDEIRO DIAS, HUGO FELIPE DO VALE, MÁRCIO ZAFFALLON CASATI, THIAGO OZI BUENO, TIAGO TAIETE e TIAGO TARDES VIANNA**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 05/03/2010, com alterações em 30/10/2010, e 15/01/2017.

The Ethics Committee in Research of the Piracicaba Dental School, University of Campinas, certify that the project "Osseointegrated implants in patients with history of aggressive and chronic periodontitis. Clinical, microbiological and immunoenzymatic analysis", register number **017/2010, CAEE-0015.0.167.0000-10**, of **RENATO CORRÊA VIANA CASARIN, FERNANDA FELIX CORDEIRO DIAS, HUGO FELIPE DO VALE, MÁRCIO ZAFFALLON CASATI, THIAGO OZI BUENO, TIAGO TAIETE** and **TIAGO TARDES VIANNA**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee on Mar 05, 2010, with alterations on Oct 30, 2010, and Jan 16, 2017.


 Prof. Jacques Jorge Junior
 Coordenador
 CEP/FOF/UNICAMP