

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Daniela Susin

**ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DURANTE O
PROCESSO DE REABILITAÇÃO COM IMPLANTES
OSSEOINTEGRADOS E PRÓTESE TIPO PROTOCOLO**

**Taubaté – SP
2019**

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Daniela Susin

**ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DURANTE O
PROCESSO DE REABILITAÇÃO COM IMPLANTES
OSSEOINTEGRADOS E PRÓTESE TIPO PROTOCOLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Odontologia, nível mestrado, da Universidade de Taubaté

Área de Concentração: Periodontia

Orientadora: Prof.^a Dra. Sheila Cavalca Cortelli

Coorientador: Prof. Dr. Davi Romeiro Aquino

Taubaté – SP
2019

Comissão Julgadora

Data: 23 de agosto de 2019

Resultado: Aprovada

Profa. Dra. Sheila Cavalca Cortelli

Assinatura: Sheila C. Cortelli

Prof. Dr. Davi Romeiro Aquino

Assinatura: [Assinatura]

Prof. Dr. Marcos Vinicius Moreira de Castro

Assinatura: [Assinatura]

Dedico este trabalho à minha família que com muito carinho, paciência, compreensão, acompanhou, estimulou e ajudou a superar mais essa etapa me incentivando a seguir em frente tornando um sonho em realidade.

*Em especial aos meus pais, **Beth e Valter**, pelo estímulo e exemplo de vida que sempre me deram.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar e abençoar desde sempre em minha vida.

À Universidade de Taubaté, em nome da Coordenação do Programa de Pós-graduação em Odontologia, representada pela Prof.^a Dra. Laís Regiane da Silva Concílio.

Aos professores e doutores do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade de Taubaté Alexandre Prado Scherma, Anderson Catelan, Cristiane Aparecida de Assis Claro, Denise Pontes Raldi, Flávia Goulart da Rosa Cardoso, Luis Felipe das Chagas e Silva de Carvalho, Mariella Vieira Pereira Leão, Marina Amaral, Priscila Christiane Suzy Liporoni, Rafael Pino Vitti, Rayssa Ferreira Zanatta, Sandra Márcia Habitante e Silvana Soléo Ferreira dos Santos por terem sido muito mais que ministradores ao longo deste curso, mas sim incentivadores e exemplo de profissionalismo.

Ao professor e doutor José Roberto Cortelli pelas orientações em epidemiologia, desenho do estudo e sempre disponível e disposto a ajudar.

Em especial ao professor e doutor Davi Romeiro Aquino pela coorientação, análise estatística, apoio e todo o conhecimento compartilhado.

Com relevância a professora e doutora Sheila Cavalca Cortelli pela orientação, profissionalismo e dedicação tão importante que muito contribuiu para a realização deste trabalho com toda a paciência e empenho.

Ao meu namorado, Marcos Vinícius Moreira de Castro, por ser tão importante. Seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria, sempre incentivando e me fazendo acreditar que posso mais do que imagino. Por causa dela é que esta dissertação se concretizou.

Aos meus colegas de mestrado, Daniella Varzea Gracindo Marques, Flávia de Moura Pereira, Janaina Galvão Benzi, Paula Barbosa Alves, Victor Felipe Ferreira Catapreta e Taís Browne de Miranda que compartilharam de tantos momentos importantes. Obrigada pela amizade durante esses dois anos de convivência. Muitos tornaram meus amigos.

Especial para a Taís Browne de Miranda que participou espontaneamente deste trabalho na etapa laboratorial.

Aos colaboradores do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade de Taubaté, especialmente à Danielle Duarte, pela disponibilidade, simpatia e gentileza.

A Thaís Mara Manfrin Coradazzi, Luis Francisco Coradazzi, Marcelo Monteiro Bruno e Paulo Henrique de Souza Pereira pelo convívio desde a especialização em Implantodontia e hoje são incentivadores e motivadores para o meu aperfeiçoamento e crescimento profissional na docência.

Aos participantes da pesquisa que participaram com paciência, boa vontade e confiança contribuíram para que concluíssemos este estudo.

A bibliotecária Elisabete Novaes de Souza pelos ajustes metodológicos.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a realização de mais essa conquista.

Muito obrigada!

Que Deus abençoe a todos.

*Todos os nossos sonhos podem tornar-se realidade se
tivermos a coragem de persegui-los.*

Walt Disney

Susin D. Alterações microbiológicas durante o processo de reabilitação com implantes osseointegrados e prótese tipo protocolo. Dissertação. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2019. 62f.

RESUMO

Objetivos: Comparar longitudinalmente os níveis de periodontopatógenos observados antes das extrações dos dentes remanescentes, durante o período de osseointegração e após a reabilitação por prótese implantossuportada tipo protocolo.

Metodologia: Foram incluídos no presente estudo vinte participantes parcialmente dentados submetidos a reabilitação total com sistema de implantes osseointegrados e prótese fixa tipo protocolo com carga imediata. Todos os participantes incluídos no presente estudo foram triados nas clínicas de graduação e/ou pós-graduação da UNITAU e se submeteram a tratamento cirúrgico-protético com implantes dentários osseointegrados. De todos os indivíduos foram coletadas: a) amostras subgingivais do sítio periodontal mais profundo de cada dente; b) amostras do sítio peri-implantar mais profundo de cada implante; c) amostras salivares. As amostras dentárias foram coletadas uma vez, no dia da exodontia e instalação dos implantes osseointegrados (Dia 0), enquanto as amostras implantares foram coletadas noventa dias após a colocação da prótese tipo protocolo carga imediata (Dia 90). As amostras de saliva foram obtidas no dia da exodontia e instalação dos implantes osseointegrados (Dia 0), no dia do pós-operatório (Dia 7) e noventa dias após a colocação da prótese tipo protocolo com carga imediata (Dia 90), sempre pela manhã, entre 09:00 e 11:00 horas com os participantes sentados com a cabeça ligeiramente inclinada. As amostras de biofilme e saliva foram processadas no centro de pesquisas em Odontologia (CEPEO) da UNITAU, empregando detecção e quantificação microbiana de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Streptococcus oralis* por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real. A análise estatística foi conduzida com auxílio dos softwares BioEstat 5.0 e SPSS 13.0. **Resultados:** Ocorreu efeito significativo do método para os resultados de: carga total ($p < 0,001$), *Treponema denticola* ($p = 0,035$), *Tannerella forsythia* ($p < 0,001$) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ($p = 0,032$). Apenas para carga total a média do biofilme foi menor que a da saliva, com médias de 467.789.686 e 530.578.210, respectivamente. Em outras bactérias, a média foi maior no biofilme, por exemplo, em *Tannerella forsythia*, onde obtivemos médias de 615.812 para biofilme e 938 para saliva. **Conclusões:** Os resultados do presente estudo indicaram que pouco tempo após a reabilitação com prótese tipo protocolo os níveis de micro-organismos são menores do que os observados nos dentes condenados e indicados a exodontia.

Palavras-chave: Implante; Peri-implantite; Periodontite; Prótese; Reação em cadeia da polimerase em tempo real; Saliva.

Susin D. Microbiological changes during the rehabilitation process with osseointegrated implants and protocol type prosthesis. Master dissertation. Taubaté: University of Taubaté, Department of Dentistry, 2019. 62f.

ABSTRACT

Objectives: To longitudinally compare the levels of periodontopathogens observed before extractions of the remaining teeth, during the period of osseointegration and after the rehabilitation by fixed prosthesis with immediate load protocol. **Methodology:** Were included in the present study twenty partially toothed participants submitted to total rehabilitation with osseointegrated implant system and fixed prosthesis with immediate load protocol. All participants included in the present study were screened at UNITAU undergraduate and / or graduate clinics and underwent surgical-prosthetic treatment with osseointegrated dental implants. Of all the individuals were collected: a) subgingival samples of the deepest periodontal site of each tooth; b) samples of the deepest peri-implant site of each implant; c) salivary samples. The dental samples were collected once, on the day of the extraction and installation of the osseointegrated implants (Day 0), while the implant samples were collected ninety days after placement of the fixed prosthesis with immediate load protocol (Day 90). Saliva samples were obtained on the day of the extraction and installation of osseointegrated implants (Day 0), on postoperative day (Day 7) and ninety days after colocation of fixed prosthesis with immediate load protocol (Day 90), always by the morning, between 09:00 and 11:00 am with participants sitting with their heads tilted slightly. The biofilm and saliva samples were processed at the UNITAU Dentistry Research Center (CEPEO), using microbial detection and quantification of *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Streptococcus oralis* by means of polymerase chain reaction in time real. The statistical analysis was carried out with the help of BioEstat 5.0 and SPSS 13.0 software. **Results:** Significant effect of the method occurred for the results of: Total load ($p < 0.001$), *Treponema denticola* ($p = 0.035$), *Tannerella forsythia* ($p < 0.001$) and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ($p = 0.032$). Only under full load was the biofilm mean lower than the saliva, with averages of 467,789,686 and 530,578,210, respectively. In other bacteria the average was higher in biofilm, for example in *Tannerella forsythia*, where we had averages of 615,812 for biofilm and 938 for saliva. **Conclusions:** The results of the present study indicated that shortly after rehabilitation with protocol type prosthesis, the levels of microorganisms are minores than those observed in the condemned teeth and indicated for extraction.

Keywords: Implant; Peri-implantitis; Periodontitis; Prosthesis; Real-time polymerase chain reaction; Saliva.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Descrição dos micro-organismos, primers e sonda de DNA	38
Tabela 2 -	Significância estatística para os fatores principais	42
Tabela 3 -	Efeito dos fatores principais e interação nas quantidades de bactérias	42
Tabela 4 -	Comparação múltipla de Tukey para <i>Tannerella forsythia</i> para interação entre os fatores (biofilme e saliva)	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma do estudo	39
------------	----------------------	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
3. PROPOSIÇÃO	30
4. METODOLOGIA	31
4.1 População de estudo	31
4.2 Cálculo amostral	31
4.3 Critérios de elegibilidade	32
4.4 Tratamento cirúrgico-protético	32
4.5 Exame periodontal e coleta de biofilme	33
4.6 Coleta salivar	35
4.7 Análise microbiológica	36
4.7.1 Análise dos biofilmes periodontais e peri-implantares	36
4.7.2 Análise das amostras salivares	37
4.7.3 Detecção e quantificação microbiana (real time)	37
4.8 Planejamento estatístico	38
5. RESULTADOS	40
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	52
APÊNDICE	58
ANEXO	59

1 INTRODUÇÃO

A microbiota bucal compreende uma diversidade imensa de micro-organismos, contendo mais de setecentas espécies (Dewhirst et al., 2010; Kodukula et al., 2017). É evidente a associação desses patógenos com doenças e condições bucais e sistêmicas, como partos prematuros, doenças respiratórias, diabetes mellitus e doenças cardiovasculares (Martelli et al., 2017; Zhang et al., 2019). O projeto microbioma humano procurou caracterizar completamente a microbiota humana e abordar o seu papel na saúde e na doença (Gomez et al., 2017).

Zhou et al. (2013) classificaram os micro-organismos bucais provenientes da saliva, mucosa bucal, palato duro, amígdala palatina, sulco gengival e dorso da língua, evidenciando que os locais saudáveis foram os colonizados por gêneros como *Streptococcus*, *Prevotella*, *Haemophilus*, *Fusobacterium* e *Veillonella*. A composição microbiana e as quantidades se mostraram diferentes em cada um dos locais avaliados. Dos habitats do corpo, o bucal possuiu a microbiota mais estável e com maior diversidade, sugerindo um ambiente complexo.

Não está esclarecido o momento exato em que a colonização por periodontopatógenos se inicia na cavidade bucal. Foram encontradas diferenças nas colonizações por *Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Tannerella forsythia* em amostras bacterianas do sulco gengival, do dorso da língua e da mucosa bucal de recém-nascidos até idosos. Níveis elevados de *Campylobacter rectus* foram encontrados (língua e bochecha) em recém-nascidos de zero a quatro meses e em indivíduos idosos, independentemente da presença de dentes. A colonização inicial por *Prevotella intermedia* e *Tannerella forsythia* no sulco subgengival se deu no grupo de

crianças (seis a 12 anos), enquanto *Porphyromonas gingivalis* foi detectado em níveis elevados em indivíduos adultos (19 a 44 anos). A presença de dentes se mostrou um fator permissivo na colonização pelos patógenos periodontais pesquisados. A compreensão dos grupos relacionados à idade forneceu uma ferramenta potencialmente útil na detecção precoce e na prevenção da doença periodontal em indivíduos saudáveis (Cortelli et al., 2008).

Payne et al. (2017) revelaram que pouco se sabe sobre o desenvolvimento longitudinal do microbioma subgengival peri-implantar e a produção de citocinas como um novo sulco após a colocação do implante dentário. Os autores avaliaram as alterações longitudinais simultâneas no microbioma bucal e a produção de citocinas no sulco peri-implantar em desenvolvimento, em comparação com o controle de dentes naturais. No entanto, pouco se sabe sobre a colonização inicial do microbioma subgengival e a produção simultânea de citocinas em seres humanos durante a fase inicial de cicatrização após a colocação do implante. Os estudiosos ainda relataram achados de um estudo in vivo, que avaliou a colonização inicial do microbioma subgengival e a concomitante produção precoce de citocinas em um espaço anatômico recém-formado, o sulco peri-implantar. Se evidenciou que o microbioma subgengival e o perfil de citocinas foram similares para o controle de dentes naturais e implantes dentários, tanto nas quatro como nas 12 semanas após a colocação do implante. Esses dados sugerem que esses perfis são dirigidos pelo paciente e não pela localização anatômica.

Lafaurie et al. (2017) avaliaram os perfis microbiológicos de peri-implantite, periodontite e implantes saudáveis. Dentes com periodontite, implantes saudáveis ou implantes com peri-implantite foram colonizados por micro-organismos periodontais. *Porphyromonas gingivalis* e, especialmente, *Prevotella intermedia/nigrescens* foram

frequentemente identificados em locais de peri-implantite. Os sítios de peri-implantite também foram colonizados por bastonetes Gram-positivos anaeróbios assacarolíticos não cultiváveis e bastonetes Gram-negativos anaeróbios, que não foram frequentemente identificados em dentes com periodontite ou implantes saudáveis.

Os micro-organismos oportunistas não foram encontrados com muita frequência nos locais de peri-implantite. A peri-implantite representa uma infecção mista heterogênea, que inclui micro-organismos periodontopatogênicos, bacilos Gram-positivos anaeróbios assacarolíticos não cultiváveis e outros bastonetes Gram-negativos não cultiváveis e raramente, micro-organismos oportunistas, como bastonetes entéricos e *Staphylococcus aureus*. Métodos de sequenciamento que avaliam todo o microbioma melhoram a identificação de micro-organismos associados à peri-implantite.

Estudos mostraram a presença de micro-organismos periodontopatogênicos, no biofilme dental, como: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* e facultativas/microaeróbias, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Campylobacter rectus* na saliva total (Asikainen et al., 1991; Umeda et al., 1998; Saygun et al., 2011; Takeuchi et al., 2012; Zhang et al., 2019), que permaneceram mesmo após a instalação de implantes dentários. Os autores determinaram a composição do microbioma dos sítios com peri-implantite e os correspondentes locais dentários em indivíduos com história de periodontite.

Os microbiomas de amostras saudáveis foram mais diversificados do que os encontrados na doença, embora a doença tenha sido associada a uma maior abundância de taxa em relação à saúde. Os gêneros *Actinobacillus* e *Streptococcus* estavam mais intimamente relacionados à saúde, enquanto *Prevotellas* e *Porphyromonas* foram mais discriminativos para a doença. Os *Synergistetes* foram

bastante associados a peri-implantite. Em pacientes com história de periodontite, os patógenos periodontais putativos prevaleceram no microbioma dos implantes doentes. Os implantes doentes e os locais saudáveis correspondentes parecem ter ecossistemas microbiológicos distintos (Apatzidou et al., 2017). Isso sugere que o emprego da saliva na detecção de periodontopatógenos foi uma ferramenta fácil para o diagnóstico e o tratamento de periodontites e peri-implantites (Egawa et al., 2013; Ito et al., 2013; Eick et al., 2016).

A peri-implantite é uma condição patológica que ocorre nos tecidos ao redor dos implantes dentários, caracterizada por inflamação na mucosa peri-implantar e pela perda progressiva do osso de suporte (Schwarz et al., 2018).

A peri-implantite se tornou uma crescente preocupação, porque vários estudos sugeriram que os pacientes com história de periodontite são susceptíveis à doença peri-implantar (Machtei et al., 2007; Zhang et al., 2015). Existe um risco aumentado de desenvolvimento de peri-implantite em pacientes com história de periodontite crônica, falta de controle de biofilme dental e irregularidade na terapia periodontal de suporte após a reabilitação com implantes (Berglundh et al., 2018; Schwarz et al., 2018). As doenças peri-implantares são condições frequentes que afetam mais de 70% dos pacientes. Vários fatores relacionados ao paciente/implante podem influenciar o risco de peri-implantite (Vignoletti et al., 2019).

De maneira global, o tratamento ainda foi controverso e realizado com similaridade com a periodontite e pôde apresentar resultados mais demorados em pacientes com história de periodontite (Dierens et al., 2013; Schwarz et al., 2018).

Nesse contexto ficou evidente a necessidade de análise das modificações que ocorrem na microbiota de indivíduos portadores de periodontites que vão se submeter à prótese protocolo antes, durante e após a instalação definitiva. Assim, a justificativa

do presente estudo consistiu numa análise por meio da avaliação da saliva, biofilme dental e peri-implantar em tempos variados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A chegada da Implantodontia revelou a importância do conhecimento das doenças peri-implantares e a avaliação da sua semelhança com doenças periodontais, tanto clinicamente como na evidência de que ocorre alteração biológica, colonização bacteriana na forma de biofilme dental, afetando tecidos de sustentação, com edema, sangramento, supuração, perda óssea ou o comprometimento da estabilidade implantar. O desenvolvimento de doenças periodontais e/ou peri-implantares pode propiciar perda dentária ou de implantes. Branemark et al. (1969) estudaram implantes dentários para a reabilitação de pacientes totalmente edêntulos. Os autores estabeleceram um protocolo de seis a oito meses de espera após as extrações para posterior instalação de implantes. Progressivamente, a osseointegração obtida ampliou as oportunidades para substituir dentes perdidos, restabelecendo a estética e a função.

As reabilitações empregando implantes foram bastante utilizadas. Suas taxas de sobrevivência em longo prazo (≥ 10 anos) foram altas quando comparadas com as próteses convencionais (totais, parciais fixas ou removíveis). As estimativas indicaram que mais de dois milhões de implantes foram instalados por ano para a substituição de dentes ausentes ou perdidos (Karoussis et al., 2003).

Heydecke et al. (2012) definiram a prótese protocolo como uma prótese total fixa implantossuportada, com estrutura interna em metal e coberta com dentes em acrílico ou cerâmica. O número de implantes varia de caso a caso, de quatro a seis. São indicadas para a reabilitação total de um arco, confeccionadas sobre os implantes osseointegrados, podendo ser parafusadas ou cimentadas. Representam a melhor opção de tratamento para pacientes que, embora parcialmente edêntulos, apresentam

indicação de exodontia dos dentes remanescentes. Para os periodontopatas, houve uma melhora na qualidade de vida, bem como se aumentou a estabilidade da prótese, promovendo uma maior amplitude de movimentos, com um melhor desempenho na mastigação, propiciando conforto, segurança na fala, preservando o tecido ósseo.

Nessa direção, Carames et al. (2015), após avaliarem essas próteses nos quesitos estética, função, fonética e satisfação do paciente, denotaram que as próteses protocolo apresentaram altas taxas de sucesso. Muitas combinações de materiais foram utilizadas, como a liga de metal e acrílico e liga de metalocerâmica. No entanto, ocorreram complicações, incluindo a fratura na resina acrílica ou soltura do dente da prótese, desgaste de superfícies opostas, dificuldade em combinar tons de cerâmica acrílica e rosa, falta de ajuste passivo e trabalho extensivo para a reparação após a ruptura da estrutura incentivaram a procura por outros materiais, como a zircônia. Ainda, Tartaglia et al. (2016) avaliaram complicações e falhas das próteses protocolo. Arcos maxilares e gênero masculino representaram as mais complicações em relação aos arcos mandibulares e ao gênero feminino. De maneira geral, se evidenciou que as próteses protocolo, reabilitadas com carga imediata se apresentaram como clinicamente bem-sucedidas.

Preethanath et al. (2017) denotaram alta taxa de sucesso, cerca de 90%, na utilização de implantes osseointegrados para a reabilitação bucal em indivíduos que tiveram os dentes perdidos. A baixa taxa de insucesso, cerca de 10%, ocorreu pela falha da osseointegração na interface implante/osso remanescente, que foi atribuída à peri-implantite, que contaminou os tecidos. Para tentar minimizar esse processo inflamatório os autores realizaram tratamentos que incluíram a administração de antibioticoterapia, laserterapia, remoção de tecidos moles contaminados, descontaminação da superfície dos implantes, técnicas regenerativas ósseas,

técnicas de explantação e reinstalação de implantes. É necessário mais estudo analisando os fatores de risco e a associação da peri-implantite na indicação de próteses dentárias sobre implantes em indivíduos.

Os implantes dentários continuaram a crescer em popularidade, porque representaram um tratamento previsível para substituir dentes perdidos. Foi apresentada uma alta taxa de sucesso, no entanto, ainda estão associados a algumas complicações clínicas. Especialmente complicações estéticas foram comuns na terapia com implantes. Essas complicações puderam incluir problemas de sombreamento, contorno, recessão, posicionamento da margem do pilar e posicionamento tridimensional do implante (De Kok et al., 2019).

A doença periodontal foi caracterizada pela relação com o biofilme dental, composto principalmente pelos micro-organismos do complexo vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*) presentes na periodontite crônica. Socransky et al. (1998), empregando a hibridização com sondas de DNA, revelaram cinco complexos microbianos, avaliando amostras subgingivais de 185 indivíduos adultos. O complexo vermelho foi fortemente relacionado com a progressão da profundidade de sondagem, sendo essas bactérias consideradas como principais agentes etiológicos da periodontite crônica.

Do et al. (2009) evidenciaram o *Streptococcus oralis* como um membro da microbiota bucal humana indígena e a sua patogenicidade oportunista como os demais estreptococos bucais, uma população bastante diversificada. *Streptococcus oralis* é um colonizador primário na formação do biofilme dental, Gram-positivo, com crescimento em cadeias, possuindo uma variação fenotípica e genotípica considerável e relacionada, como agentes etiológicos importantes da endocardite infecciosa em indivíduos que apresentaram imunossupressão.

Larsen & Fiehn (2017) ressaltaram que o excesso de carboidratos formou um biofilme dental composto principalmente por bactérias Gram-positivas, causando desmineralização dos dentes, cárie dentária, podendo levar à inflamação e à necrose na polpa e na região periapical, ou seja, pulpíte e periodontite periapical. Em biofilmes supra e subgingivais, as bactérias proteolíticas anaeróbias predominantemente Gram-negativas colonizaram e causaram inflamação gengival e ruptura das fibras e ossos periodontais de suporte, ocasionando a perda dentária, ou seja, gengivite, periodontite e, ao redor de implantes dentários, peri-implantite. Além disso, as bactérias do biofilme dental podem se espalhar para outras partes do corpo por bacteriemia e causar doença sistêmica.

Vilarrasa et al. (2018) desenvolveram estratégias antibacterianas, tais como superfícies de titânio revestidas com antibióticos, o que pode ser uma estratégia promissora para prevenir o aparecimento e a progressão da peri-implantite. Os autores quantificaram a aderência do biofilme dental e a viabilidade de células bacterianas sobre a superfície de titânio, com ou sem tratamento antibacteriano de superfície. Cinco cepas bacterianas foram usadas para desenvolver um biofilme dental de múltiplas espécies. As espécies selecionadas representaram colonizadores iniciais (*Streptococcus oralis* e *Actinomyces viscosus*), precoces (*Veillonella parvula*), secundárias (*Fusobacterium nucleatum*) e tardias (*Porphyromonas gingivalis*). As bactérias foram inoculadas sequencialmente em sete diferentes tipos de superfícies de titânio, combinando diferentes níveis de rugosidade e revestimentos antibacterianos: nanopartículas de prata e silanização de TESPSA (silano anidrido succínico trietoxissililpropílico). A formação do biofilme dental, a viabilidade celular e a quantificação bacteriana sobre cada superfície foram analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura, microscopia confocal e reação em cadeia da

polimerase em tempo real. A formação de biofilme dental sobre superfícies de titânio com diferentes morfologias bacterianas pôde ser observada. O TESPSA (silano anidrido succínico trietoxissililpropílico) foi capaz de reduzir significativamente a viabilidade celular quando comparado a todas as superfícies ($p < 0,05$). A deposição de prata na superfície de titânio não apresentou melhores resultados em termos de adesão do biofilme dental e viabilidade celular quando comparada à sua superfície não revestida correspondente. A quantidade total de biofilme dental não diferiu significativamente entre os grupos ($p > 0,05$). O TESPSA (silano anidrido succínico trietoxissililpropílico) foi capaz de reduzir a adesão do biofilme dental e a viabilidade celular. No entanto, a deposição de prata na superfície de titânio parecia não conferir essas propriedades antibacterianas.

A periodontite continua a ser uma das doenças mais prevalentes da humanidade. No 11º Workshop Europeu de Periodontologia essa evidência foi avaliada por Tonetti et al. (2015), que elucidaram que apesar do notável sucesso dos atuais, esforços preventivos continuam a valer essa premissa. O objetivo foi revisar evidências científicas críticas e desenvolver recomendações para melhorar: o controle do biofilme dental individual e populacional (higiene bucal), controlar os fatores de risco e aprimorar intervenções preventivas pelos profissionais. As discussões foram elaboradas com base em quatro revisões sistemáticas que abrangeram aspectos do controle mecânico profissional do biofilme, intervenções de mudança comportamental para melhorar a higiene bucal pelo paciente, controlar fatores de risco e avaliação do perfil de risco individual do paciente. Estabeleceu-se que: 1) é necessário um diagnóstico periodontal adequado antes da submissão de indivíduos a medidas preventivas profissionais, bem como determinar a seleção do tipo de cuidados preventivos; 2) as medidas preventivas não foram suficientes para o tratamento de

periodontite; 3) a instrução de higiene bucal repetida e individualizada e a remoção mecânica do biofilme dental e cálculo foram componentes importantes de programas preventivos; 4) intervenções comportamentais para melhorar a higiene bucal individual precisaram estabelecer metas específicas, incorporar planejamento e automonitoramento; 5) intervenções breves para o controle de fatores de risco foram componentes-chave da prevenção periodontal primária e secundária; 6) a abordagem, *Ask, Advise, Refer - AAR* (Pergunte, Aconselhe, Consulte) foi o padrão mínimo a ser usado em tratamentos odontológicos para todos os indivíduos que consomem tabaco; 7) ferramentas de avaliação de risco periodontal validadas estratificaram pacientes em termos de risco de progressão da doença e uma perda dentária. Tonetti et al. (2015) concluíram que o consenso foi alcançado sobre as recomendações específicas para o público, pacientes individuais e profissionais de saúde bucal, no que diz respeito à melhor ação para melhorar a eficácia das medidas preventivas primárias e secundárias.

Os níveis de citocinas no fluido crevicular peri-implantar e gengival de uma seleção de bactérias do biofilme subgengival de locais clinicamente saudáveis ou doentes nos mesmos indivíduos foram observados por Gürlek et al. (2017). Os autores avaliaram que os níveis de *Actinomyces naeslundii* e *Streptococcus oralis* foram significativamente maiores no grupo de implantes saudáveis do que em dentes saudáveis ($p < 0,05$). Os níveis de *Prevotella intermedia* e *Treponema denticola* foram menores no grupo da mucosite peri-implantar do que o grupo gengivite ($p < 0,05$). Os níveis de *Prevotella oralis* e *Streptococcus oralis* foram significativamente maiores no grupo da periodontite ($p < 0,05$) e os níveis de *Treponema denticola* foram significativamente maiores no grupo peri-implantite ($p < 0,05$). Os autores encontraram muitas semelhanças, mas, fundamentalmente, algumas diferenças nos níveis de

biomarcadores (IL-1 β e sRANKL) e espécies bacterianas entre os locais peri-implantares e periodontais nos mesmos indivíduos, sugerindo mecanismos patogênicos semelhantes.

Uma nova classificação das doenças periodontais e peri-implantares foi apresentada pela Academia Americana de Periodontologia e Federação Europeia de Periodontologia, incluindo indivíduos especialistas de todo o mundo (Caton et al., 2018). Definiu-se que as doenças periodontais são condições infecciosas multifatoriais, que têm no biofilme dental seu fator etiológico determinante e acometem o periodonto de proteção (gingivites) e de inserção (periodontites - profundidade de sondagem real maior que 3 mm) dos dentes e podem ocorrer em todas as idades, classificadas de estágios I a IV. As periodontites representaram causa relevante de edentulismo e foram classificadas como doenças periodontais necrosantes, periodontites como manifestação de doenças sistêmicas e periodontites.

Com relação às doenças peri-implantares, essas representaram condições patológicas que ocorrerem nos tecidos ao redor dos implantes dentários, caracterizadas por inflamação na mucosa peri-implantar e perda progressiva do osso de suporte. Tais enfermidades foram classificadas como mucosite peri-implantar e peri-implantite e a sua prevalência aumentou consideravelmente (Berglundh et al., 2018; Schwarz et al., 2018).

A relação da mudança microbiana antes, durante e após a instalação de próteses protocolo foi evidenciada por Devides & Franco (2006). Empregando reação em cadeia da polimerase, os autores analisaram a presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* nos arcos mandibulares edêntulos antes, após a instalação dos implantes mandibulares e depois da colocação das próteses fixas protocolo. Observou-se que quanto maior o tempo de

permanência que os implantes estavam na cavidade bucal, maior seria a ocorrência de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* nos sulcos peri-implantares de pacientes completamente edêntulos reabilitados com próteses fixas protocolo no arco mandibular, radiograficamente. Clinicamente não apresentou qualquer comprovação de peri-implantite.

A peri-implantite foi considerada uma infecção ainda sem parâmetros absolutos de diagnóstico, tratamento e prognóstico, com sintomas clínicos semelhantes aos da periodontite. No entanto, como a dor foi infrequente na peri-implantite, os pacientes não reconhecem que existe um problema até haver a mobilidade do implante, o que indicou o estágio final da doença (Mombelli & Lang, 1998). A progressão da peri-implantite pode desencadear a perda de implantes, sinusite maxilar, fratura mandibular, infecção de outros implantes ou dentes naturais (Costa et al., 2007; Sahin et al., 2012; De Kok et al., 2019).

Um protocolo de tratamento para as doenças peri-implantares ainda não foi estabelecido, existindo, assim, um uso empírico de modalidades terapêuticas, com resultados moderadamente eficazes (Derks et al., 2015). Resultados terapêuticos semelhantes ao tratamento das periodontites não podem ser obtidos para peri-implantites, devido à dificuldade em descontaminar as superfícies rugosas e rosqueadas dos implantes osseointegrados (Stein et al., 2017).

A relação da contaminação bacteriana com a evolução da mucosite peri-implantar e peri-implantite pode ser influenciada por fatores locais, como cimento residual, rugosidade da superfície do implante, ausência de gengiva, espaços entre o implante e o pilar protético ou fatores sistêmicos como o uso de tabaco e diabetes mellitus. Existe uma relação da complexidade da microbiota presente na peri-implantite e o seu tratamento. Um tratamento mais conservador de remoção dos

fatores locais de retenção de biofilme foi o mais importante para a prevenção e para a terapia das doenças peri-implantares, porém com taxas de sucesso limitadas em detrimento do desenho rosqueado e da superfície rugosa dos implantes. Uma combinação de diferentes métodos de debridamento mecânico, curetagem dos tecidos moles adjacentes, terapia antisséptica com aplicação de polivinilpirrolidona-iodo, antimicrobianos e antibióticos locais, bem como outros métodos alternativos para descontaminação da superfície do implante em conjunto com uso de terapia fotodinâmica antimicrobiana, vêm sendo utilizados (Stein et al., 2017; Schwarz et al., 2018).

O sucesso em longo prazo dos implantes dentários não foi o mesmo ou tão alto quanto a sua sobrevivência, já que os implantes funcionais e as suas restaurações puderam estar sujeitos a complicações mecânicas e biológicas (Derks et al., 2016).

Foi de fundamental importância a terapia periodontal e peri-implantar de suporte após a conclusão da terapia periodontal ativa e contínua em intervalos variáveis, em torno de três meses. Os procedimentos de manutenção periodontal são supervisionados pelo periodontista e incluem uma atualização das histórias médicas e dentárias, revisão radiográfica, exames de tecidos moles extraoral e intraoral, exame odontológico, exame periodontal, revisão da eficácia do controle de biofilme dental do paciente, remoção de biofilme sulcular em bolsas periodontais ou peri-implantares, raspagem e alisamento radicular e peri-implantar quando indicado e polimento coronário. Esses procedimentos foram realizados em intervalos selecionados para auxiliar o paciente periodontopata na manutenção da saúde bucal. Na fase da terapia periodontal durante a qual as doenças e as condições periodontais foram monitoradas e os fatores etiológicos foram reduzidos ou eliminados. Tal etapa foi distinta, mas integrada com terapia ativa. O paciente pôde passar da terapia ativa para a terapia

periodontal de suporte e de volta ao cuidado ativo se a doença se repetisse (American Academy of Periodontology, 2000).

A terapia de suporte peri-implantar regular após cuidados iniciais, resultou em alta sobrevida ao paciente e no nível do implante em médio e longo prazo. Resultados favoráveis foram relatados, com melhoras clínicas e níveis ósseos peri-implantares estáveis na maioria dos pacientes (Roccuzzo et al., 2018).

O cuidado de manutenção foi obrigatório para o sucesso em longo prazo do tratamento periodontal e peri-implantar. Como foi frequentemente necessário tratar doenças recorrentes ou persistentes, a terapia de manutenção foi além de uma verdadeira profilaxia. Durante essa terapia ao longo da vida, tanto o paciente quanto a equipe profissional precisaram trabalhar em conjunto. Foi imperativo combinar esforços para manter sob controle o acúmulo de biofilme durante a manutenção e reduzir, tanto quanto possível, a influência que os fatores de risco puderam ter no acúmulo de biofilme dental, bem como na resposta inflamatória tecidual (Mombelli, 2019).

A utilização do fluido salivar para diagnóstico, substituindo o sangue, apresentou diversas vantagens como a coleta não invasiva e de fácil acesso. A evolução dos métodos que empregaram saliva como meio biológico tem evidenciado resultados promissores, indicando que podem tornar-se um exame de rotina (Giannobile et al., 2009; Kim et al., 2013; Javaid et al., 2016).

Quando comparada a outros fluidos corporais, a saliva está prontamente disponível, pode ser coletada de forma não invasiva, sem risco de infecção cruzada. Além disso, a análise salivar pode detectar mudanças que refletem as condições tanto bucais quanto sistêmicas. Apesar das suas vantagens como fluido de diagnóstico, a falta de informações adequadas e acuradas sobre os métodos de coleta e

armazenamento de amostras, antes da análise, dificulta o uso frequente da saliva. A medição bem-sucedida de parâmetros salivares requer procedimentos de coleta ideais, o que é uma das etapas pré-analíticas mais importantes. Com técnicas mais sensíveis e padronizadas e valores de referência padrão, os diagnósticos salivares estão se tornando promissores, como uma técnica de escolha atualmente. Avanços recentes em métodos de coleta salivar e uso de ensaios multiplex versáteis, sensíveis, específicos, rápidos, econômicos para uma ampla implementação em programas de diagnóstico fizeram com que o futuro dos diagnósticos salivares parecesse muito promissor (Yamuna Priya & Muthu Prathibha, 2017).

A saliva fisiológica é um fluido corporal único, que lava constantemente às membranas mucosas da boca, garganta e laringe. A saliva é uma secreção mucosa e serosa clara, levemente ácida, composta de vários eletrólitos, pequenas substâncias orgânicas, proteínas, peptídeos e polinucleotídeos. Há muitas maneiras de usar a saliva como um fluido biológico (biofluido). As vantagens significativas da saliva como material diagnóstico único são a sua disponibilidade e o método não invasivo de coleta. Enfatizaram o valor diagnóstico da saliva como material de pesquisa na configuração da sua estrutura e distúrbios de secreção. O uso diagnóstico da saliva tem atraído a atenção de muitos pesquisadores devido à sua natureza não invasiva e relativa simplicidade de coleta. Além disso, deve-se notar que a determinação dos parâmetros de saliva química e física pode ser efetivamente realizada na presença do paciente no consultório odontológico (Kubala et al., 2018).

Por meio da coleta de saliva, pode-se obter, de forma não invasiva, amostras contendo micro-organismos de diversas superfícies bucais, como os periodontopatógenos (Könönen et al., 2007). A análise dos perfis salivares bacterianos em amostras de saliva não estimuladas e estimuladas coletadas de um

mesmo indivíduo mostrou resultados comparáveis. Assim, os resultados verificaram que a saliva estimulada é um substituto adequado da saliva não estimulada para estudos relacionados ao microbioma (Belstrøm et al., 2016).

A saliva desempenha um papel importante na determinação da composição e atividade da microbiota bucal, por meio de uma variedade de mecanismos. As moléculas, principalmente da saliva, formam uma película condicionadora nas superfícies bucais, fornecendo, assim, receptores para a fixação bacteriana. As células anexas usam componentes da saliva, como as glicoproteínas, como sua principal fonte de nutrientes para o crescimento. As bactérias bucais trabalham sequencialmente e de forma concertada para catabolizar estas moléculas estruturalmente complexas. A saliva tampona o pH do biofilme dental em torno da neutralidade, criando um ambiente propício ao crescimento de muitas bactérias bucais que fornecem benefícios importantes para o hospedeiro. Os componentes das defesas adaptativas e inatas do hospedeiro são liberados pela saliva e frequentemente funcionam sinergicamente, em concentrações subletais, de modo que uma relação complexa se desenvolve entre o hospedeiro e a microbiota residente. A disbiose pode ocorrer rapidamente se o fluxo de saliva for alterado (Marsh et al., 2016).

Estudos epidemiológicos utilizaram regularmente a saliva como uma amostra não invasiva, de fácil coleta e representante do ecossistema microbiano da cavidade bucal. No entanto, estudos comparativos entre diferentes tipos de amostras de saliva normalmente utilizados em amostras microbianas foram escassos. Compararam a composição microbiana bucal entre duas amostras de saliva coletadas simultaneamente: saliva não estimulada com pontas de papel e saliva estimulada coletada após a mastigação da goma de parafina. O DNA foi extraído de amostras de

saliva de dez indivíduos e depois analisado por pirosequenciamento 16S rRNA para descrever a diversidade bacteriana. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre a microbiota desses dois tipos de saliva. Na saliva estimulada foram encontrados um número estimado de espécies mais de três vezes maior do que a saliva não estimulada. Além disso, a composição bacteriana no nível de classe e gênero foi radicalmente diferente entre os dois tipos de amostras. Quando comparados a outros nichos bucais, ambos os tipos de saliva apresentaram alguma semelhança com a mucosa lingual e vestibular, mas não se correlacionaram de forma alguma com a composição bacteriana descrita no biofilme dental supragengival ou subgengival, questionando o seu uso em estudos etiológicos e epidemiológicos de doenças bucais de origem microbiana (Gomar-Vercher et al., 2018).

Nesse diapasão, a coleta de saliva total (três glândulas salivares maiores 90%, glândulas salivares menores 10%, restos alimentares, micro-organismos e fluido crevicular gengival complementam) não estimulada e estimulada, pode ser efetuada por diversos métodos com validade e reprodutibilidade (Navazesh & Kumar, 2008).

Um diagnóstico preciso foi fundamental para o sucesso de qualquer tratamento periodontal. Os métodos de diagnóstico existentes foram suficientes para avaliarem os locais com doenças ativas. Grande quantidade de atividade de pesquisa está sendo realizada para investigar o papel dos fluidos bucais como um meio diagnóstico em vários campos. Embora os desafios permaneçam à frente, o uso de saliva e fluido crevicular são promissores no diagnóstico de doenças periodontais e preveem os resultados do tratamento periodontal (Srivastava et al., 2017).

3 PROPOSIÇÃO

A proposta do presente estudo foi comparar longitudinalmente os níveis de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Streptococcus oralis* antes das extrações dos dentes remanescentes, durante o período de osseointegração dos implantes e após a reabilitação por prótese protocolo com carga imediata.

4 METODOLOGIA

4.1 População de estudo

Adultos, candidatos ao tratamento com implantes osseointegrados e prótese fixa protocolo com carga imediata em boas condições de saúde geral provenientes do serviço de triagem do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté – UNITAU, puderam fazer parte do presente estudo. Indivíduos considerados elegíveis para o estudo receberam explicações verbais e escritas sobre os procedimentos, riscos e benefícios do trabalho, descritos na Carta de informação e aqueles que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE. Os dados sociodemográficos e a condição de saúde geral foram obtidos por meio de entrevista.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté, em reunião realizada no dia 13/04/2018, e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 466/12, considerou o Projeto de Pesquisa aprovado, número 2.600.059 (ANEXO A).

4.2 Cálculo amostral

Para a realização do cálculo amostral foram utilizados dados previamente publicados na literatura (Pahwa et al., 2011). Adotou-se um nível de significância estatística de 95% ($p < 0,05$) e poder de 90%. Foram aplicados os softwares estatísticos BioEstat 5.0 (Mamirauá Institute, Belém, Pará, Brasil) e SPSS 13.0. O

teste *t* de Student foi empregado e se determinou o número de vinte indivíduos a sem incluídos.

4.3 Critérios de elegibilidade

Foram selecionados para este estudo indivíduos com faixa etária entre quarenta e oitenta anos, edêntulos parciais com quantidade variável de elementos dentais presentes, portadores ou não de próteses parciais fixas e/ou removíveis, periodontopatas, pacientes com indicação de exodontia de remanescentes dentais e que foram submetidos à reabilitação total com sistema de implantes osseointegrados e prótese fixa protocolo com carga imediata. No arco oposto, os indivíduos foram reabilitados seguindo a necessidade de cada caso.

Os indivíduos foram triados, selecionados e declarados aptos para a realização das cirurgias de exodontia e a instalação dos implantes osseointegrados posterior a uma criteriosa anamnese, exames clínicos e complementares solicitados, de acordo com cada planejamento. Tudo isso foi realizado em clínicas particulares com os custos assumidos pelo paciente (exames de imagem, modelos de estudo, fotografias) e plano de tratamento.

Foram excluídos os indivíduos que apresentaram: diabetes mellitus descompensado, outra doença ou condição imunossupressora, gestantes e lactantes, portadores de alterações hormonais, antibioticoterapia local e/ou sistêmica nos três meses que antecederam o início do estudo.

4.4 Tratamento cirúrgico-protético

Os indivíduos foram reabilitados com quatro a oito implantes osseointegrados do tipo hexágono externo e/ou cone morse Neodent® (Curitiba, Paraná, Brasil) e/ou SIN® (São Paulo, São Paulo, Brasil). O número e o tipo de implantes foram selecionados de acordo com as exigências de cada caso. As conexões protéticas (intermediários ou *abutment*) para próteses múltiplas foram parafusadas e os minipilares, com altura de cinta, foram selecionados de acordo com a profundidade do sulco peri-implantar. As próteses protocolo foram confeccionadas em acrílico termopolimerizável por um laboratório terceirizado, seguindo as etapas padrão de confecção.

Previamente às cirurgias, os indivíduos foram medicados por via oral, com Amoxicilina 500 mg de oito em oito horas durante sete dias, Nimesulida 100 mg de 12 em 12 horas durante cinco dias e Dipirona sódica 1 g de oito em oito horas durante três dias. Nos casos de reação alérgica a qualquer um dos medicamentos, os mesmos, foram substituídos por um equivalente. A medicação foi iniciada uma hora antes do procedimento cirúrgico de instalação dos implantes osseointegrados.

Todos os indivíduos incluídos no presente estudo receberam tratamento odontológico segundo as necessidades individuais dos dentes que não tiveram indicação de exodontia, além de orientação sobre higiene bucal e hábitos de saúde.

4.5 Exame periodontal e coleta de biofilme

Foram realizadas mensurações periodontais em quatro pontos (mésio-vestibular; médio-vestibular; disto-vestibular; médio-palatina/lingual) para cada dente presente, com o auxílio de uma sonda periodontal manual (PCPUNC 15 Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL). Os parâmetros clínicos avaliados foram: profundidade de

sondagem (PS); índice de placa - Turesky et al. (1970) e índice gengival - Løe & Silness (1963). Um único examinador treinado e calibrado realizou os exames periodontais. Adicionalmente, a altura da crista óssea alveolar foi avaliada nos exames de imagens disponíveis para o planejamento cirúrgico-protético.

Similarmente, as mensurações da profundidade de sondagem para os implantes foram obtidas em quatro pontos (mésio-vestibular; disto-vestibular; médio-vestibular e médio-palatino/lingual) para cada implante instalado com auxílio de uma sonda periodontal manual (PCPUNC 15 Hu-friedy Mfg Co Inc. Chicago IL).

As amostras subgengivais foram coletadas de todos os indivíduos que apresentaram os cinco sítios periodontais mais profundos (maior medida de profundidade de sondagem) dos dentes com indicação de exodontia imediatamente antes da exodontia seguida da instalação dos implantes osseointegrados (Dia 0). Inicialmente, o biofilme supragengival foi removido com gaze estéril e os sítios então isolados com roletes de algodão e secos delicadamente com jatos de ar. Cones de papel absorvente estéril nº 30 (Tanari®, Presidente Figueredo, Manaus, Brasil) foram introduzidos no sulco/bolsa gengival e mantidos em posição por sessenta segundos (Quirynen & Van Assche, 2011).

Por outro lado, as amostras dos implantes foram coletadas de todos os indivíduos já submetidos ao tratamento reabilitador com prótese protocolo com carga imediata noventa dias após a sua instalação (Dia 90), sempre nos sítios que apresentaram maior profundidade de sondagem peri-implantar.

Nos sítios com implantes, após noventa dias de instalação (Dia 90), a prótese foi desaparafusada, retirada e o biofilme supragengival removido com algodão estéril. Os sítios foram então isolados com roletes de algodão e secos delicadamente com jatos de ar. Cones de papel absorvente estéril nº 30 (Tanari®, Presidente Figueredo,

Manaus, Brasil) foram introduzidos no sulco peri-implantar e mantidos em posição por sessenta segundos (Quirynen & Van Assche, 2011).

Para cada indivíduo, os cones de papel foram colocados no mesmo minitubo seco (pool para dentes e/ou pool para implantes) e congelados a -80° até o momento do processamento.

4.6 Coleta salivar

Amostras de saliva estimulada foram coletadas entre nove e 11 horas da manhã para evitar efeitos do ciclo circadiano. Os indivíduos foram orientados para não ingerirem alimentos líquidos ou sólidos duas horas antes das coletas. Durante a coleta de saliva, realizada em ambiente tranquilo, ventilado e privativo, os voluntários permaneceram sentados com a cabeça ligeiramente inclinada a 45° . Inicialmente, o pesquisador instruiu cada indivíduo a coletar a saliva estimulada com Parafilm® (Bemis NA, Neenah, Wisconsin, USA), película flexível, semitransparente, inodora, incolor e resistente à água. Os indivíduos mascaram Parafilm® (Bemis NA, Neenah, Wisconsin, USA) por um período de cinco minutos, subsequente foram instruídos a expelirem uma primeira amostra de saliva produzida nos dois primeiros minutos que foi desprezada, uma segunda amostra então realizada nos três minutos subsequentes foi coletada em tubo de plástico tipo Falcon estéril. As amostras de saliva foram centrifugadas (10min x $15,000 \times g$ / 4°C) e o sobrenadante foi imediatamente armazenado a -80°C .

As amostras de saliva foram coletadas no dia da exodontia e instalação dos implantes osseointegrados (Baseline – Dia 0), no dia do período pós-operatório (Dia 7) e noventa dias após a instalação da prótese protocolo carga imediata (Dia 90).

4.7 Análise microbiológica

4.7.1 Análise do biofilme subgingival e peri-implantar

Os minitubos secos (pool) foram retirados do freezer -80°C e as amostras ressuspendidas em tampão TE. A extração do DNA genômico das amostras foi realizada empregando o kit PureLink™ Genomic DNA Purification Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante.

O material previamente homogeneizado em agitador mecânico por sessenta segundos e 500 μL da amostra foram centrifugados (3 min x 12.000 rpm). Após a remoção do sobrenadante foram adicionados 180 μl de tampão de digestão com lisozima e homogeneizado por 15 segundos. Em seguida, as amostras foram incubadas a 37°C por trinta minutos. Foi adicionado 20 μl de Proteinase K, seguido de homogeneização por 15 segundos, se adicionou 200 μl de Purelink Genomic Lysis/Binding Buffer e se realizou uma nova homogeneização por 15 segundos.

Cada minitubo foi incubado a 55°C por cento e vinte minutos. Foram adicionados 200 μl de etanol absoluto homogeneizados por 15 segundos.

Ao término desse processo, todo o conteúdo lisado (aproximadamente 640 μl) foi transferido para uma coluna (contendo membrana de sílica - “PureLink™ Spin Column”) acoplada a um tubo coletor e esse conjunto foi centrifugado a 12.000 rpm por um minuto. Em seguida, foram realizadas duas lavagens da membrana com 500 μl de *Wash Buffer 1* (12.000 rpm por um minuto) e *Wash Buffer 2* (12.000 rpm por três minutos). Finalmente, 30 μl de PureLink™ Genomic Elution Buffer foram utilizados na eluição do DNA fixado na membrana de sílica, deixando incubado por um minuto a

temperatura ambiente, centrifugado por um minuto a temperatura ambiente e armazenado a -20°C.

4.7.2 Análise das amostras salivares

Previamente à análise, as amostras de saliva foram centrifugadas (12.000 rpm x 5 min/4°C). Após esse procedimento o sobrenadante (500 µl) foi coletado e transferido para um minitubo tipo Eppendorf. A esse sobrenadante foi adicionado solução salina tamponada com fosfato (PBS) (relação de 1:1), contendo 0,05% de Tween 20 (PBST), PMSF (1 mM) e coquetel inibidor de protease (1:1000).

4.7.3 Detecção e quantificação microbiana (Real Time PCR - qPCR)

Os primers empregados no presente estudo foram desenhados de acordo com a sequência específica de cada micro-organismo envolvido (Tabela 1). Empregando NCBI Nucleotide Search (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) foi feita a procura das sequências-alvo desejadas. O software Primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/>) foi utilizado para a sua confecção. Após esse procedimento, os primers foram testados em relação à especificidade, empregando o programa NCBI BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

A reação em cadeia da polimerase em tempo real foi empregada com o sistema de detecção TaqMan®. A concentração dos primers, bem como as condições ideais do processo de amplificação (concentrações dos reagentes/determinação das temperaturas envolvidas) foram previamente estabelecidas para cada conjunto de primers incluído no estudo. A quantificação absoluta dos micro-organismos em análise

foi realizada pela comparação do Ct (ciclo no qual a fluorescência se torna detectável acima da fluorescência de fundo (background) e foi inversamente proporcional ao logaritmo do número de moléculas iniciais alvo) obtido das amostras com os valores de Ct determinados de uma curva padrão (10^1 - 10^8 ufc/ml, a partir de cepas ATCC fornecidas gentilmente pelo Instituto Fio Cruz – RJ (INCQS)). Controles positivo e negativo foram empregados nas reações.

Tabela 1 – Descrição dos microrganismos, primers e sonda de DNA

Micro-organismos	Primers e sondas de DNA	Referências utilizadas
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	(F) GAA CCT TAC CTA CTC TTG ACA TCC GAA (R) TGC AGC ACC TGT CTC AAA GC (P) 6FAM-AGA ACT CAG AGA TGG GTT TGT GCC TTA GGG	(Boutaga et al., 2005)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	(F) ACCTTACCCGGGATTGAAATG (R) CAACCATGCAGCACCTACATAGAA (P) ATGACTGATGGTGAAAACCGTCTTCCCTTC	(Saito et al., 2011)
<i>Streptococcus oralis</i>	(F) TTGGCTCAATTCCCTTTGAC (R) GTCCAAACAAGCCACCACTT (P) ACAACATATCAACAGGCGCA	(Park et al., 2010)
<i>Tannerella forsythia</i>	(F) AGC GAT GGT AGC AAT ACC TGTC (R) TTC GCC GGG TTA TCC CTC (P) 6FAMCAC GGG TGA GTA ACGTAMRA	Desenho próprio
<i>Treponema denticola</i>	(F) CCG AAT GTG CTC AAT TAC ATA AAGGT (R) GAT ACC CAT CGT TGC CTT GGT (P) 6FAMATG GGC CCG CGT CCC ATT AGC TAMRA	Desenho próprio
<i>Universal</i>	(F) TGG AGC ATG TGG TTT AAT TCG A (R) TGC GGG ACT TAA CCC AAC A (P) VICCAC GAG CTG ACG ACA AGC CAT GCATAMRA	Desenho próprio

F: Forward primer – iniciador 5' / R: Reverse primer – iniciador 3' / P: Probe - Sonda

4.8 Planejamento estatístico

A análise estatística foi conduzida com o auxílio dos softwares BioEstat 5.0 e SPSS 13.0. Inicialmente foi verificada a homogeneidade dos resultados dos diferentes grupos e variáveis, em seguida, foi escolhido o teste estatístico mais apropriado. Foram comparadas as contagens bacterianas salivares observadas no dia da cirurgia para a instalação dos implantes (Baseline – Dia 0), no período pós-operatório, sete dias (Tempo 1 – Dia 7) e noventa dias após a instalação da prótese protocolo carga

imediate (Tempo 2 – Dia 90). Já a coleta de biofilme dental foi realizada no dia da exodontia e da instalação dos implantes (Baseline – Dia 0), no período pós-operatório. A coleta de fluido crevicular peri-implantar foi realizada noventa dias após a instalação da prótese protocolo carga imediata (Tempo 2 – Dia 90) (Figura 1) (APÊNDICE A).

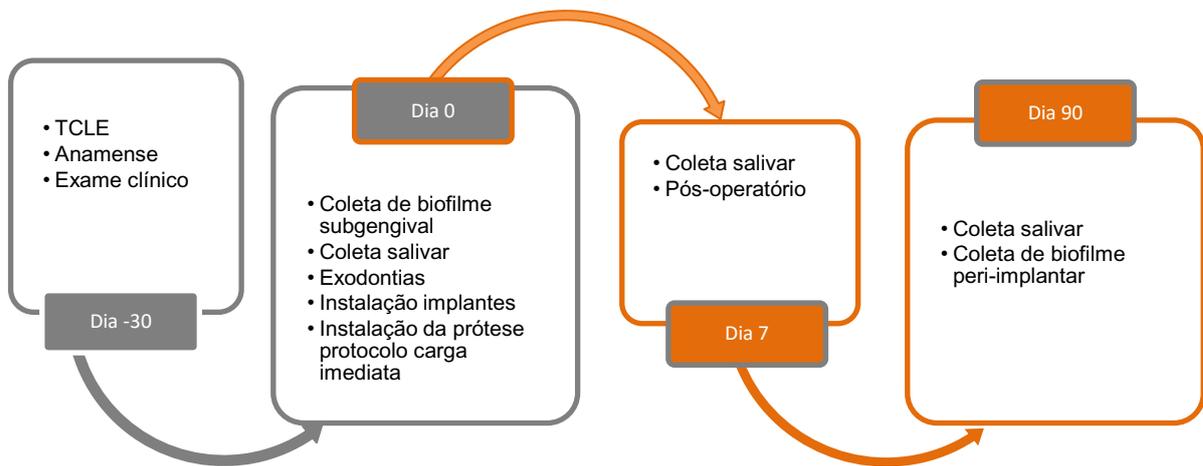


Figura 1 – Fluxograma do estudo

5 RESULTADOS

O presente estudo foi conduzido com vinte indivíduos, sendo 13 do gênero feminino e sete do masculino, com idade média de 61,0 anos.

Os parâmetros clínicos foram utilizados para avaliar se os indivíduos eram portadores de periodontopatias ou doença peri-implantar. Foi observada a presença de profundidade de sondagem elevada associada à perda de inserção clínica, caracterizando periodontite crônica generalizada avançada. No momento da instalação das próteses e após noventa dias não ocorreu peri-implantite.

Os dados microbiológicos se referem à análise de amostras de biofilme subgengival, biofilme peri-implantar e saliva comparando, estatisticamente, a evolução da quantificação da carga bacteriana total, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Streptococcus oralis* antes da exodontia dos dentes comprometidos periodontalmente (Baseline – Dia 0) e noventa dias (Dia 90) após a instalação de implantes osseointegrados e prótese protocolo carga imediata.

Para responder aos objetivos do estudo foi utilizado o teste ANOVA, com medidas repetidas de dois fatores, sempre seguida das comparações múltiplas de Tukey quando identificado o efeito estatisticamente significativo da interação entre os fatores (pois somente nessa situação temos mais de dois grupos). Isso foi realizado para avaliar estatisticamente o efeito do método (biofilme subgengival e/ou peri-implantar e saliva) e do tempo (Baseline – Dia 0 e Dia 90) e da interação de método com tempo na quantificação das bactérias. Foram desenvolvidos seis modelos distintos de ANOVA.

Foram consideradas como variáveis dependentes os valores de carga bacteriana total e os níveis de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Streptococcus oralis*. Como variáveis independentes foi utilizado o método (biofilme subgengival e/ou peri-implantar e saliva) e o tempo (Baseline – Dia 0, Dia 7 e Dia 90), ambos os fatores de medidas repetidas e a interação do método com o tempo.

Esse modelo nos permitiu avaliar, estatisticamente, o efeito do método (biofilme subgengival e/ou peri-implantar e saliva) independente do tempo (Baseline – Dia 0 e Dia 90), o efeito do tempo (Baseline – Dia 0 e Dia 90) independente do método (biofilme subgengival e/ou peri-implantar e saliva) e o efeito do tempo (Baseline – Dia 0 e Dia 90), dentro de cada grupo (interação de método com tempo).

Como foi trabalhado com dados pareados, o tempo (Dia 7) foi avaliado somente para o método de saliva e teve que ser suprimido. Assim, ambos os métodos (biofilme subgengival e/ou peri-implantar e saliva) foram avaliados com os tempos (Baseline – Dia 0 e Dia 90).

Todos os testes de hipóteses desenvolvidos nesse trabalho consideraram uma significância de 5%, ou seja, a hipótese nula foi rejeitada quando p-valor foi menor ou igual a 0,05. O software utilizado nas análises foi o SPSS V20.

Para o efeito do método (biofilme subgengival e/ou peri-implantar e saliva) houve significância estatística ($p \leq 0,05$) para: carga total ($p < 0,001$), *Treponema denticola* ($p = 0,035$), *Tannerella forsythia* ($p < 0,001$) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ($p = 0,032$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Significância estatística para os fatores principais

Bactéria	Fatores principais	p-valor
Carga total	Método (biofilme e saliva)	<0,001 (*)
	Tempo (Dias 0 e 90)	0,225
	Interação dos fatores (método e tempo)	0,374
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Método (biofilme e saliva)	0,079
	Tempo (Dias 0 e 90)	0,155
	Interação dos fatores (método e tempo)	0,161
<i>Treponema denticola</i>	Método (biofilme e saliva)	0,035 (*)
	Tempo (Dias 0 e 90)	0,101
	Interação dos fatores (método e tempo)	0,104
<i>Tannerella forsythia</i>	Método (biofilme e saliva)	<0,001 (*)
	Tempo (Dias 0 e 90)	0,003 (*)
	Interação dos fatores (método e tempo)	0,004 (*)
<i>Streptococcus oralis</i>	Método (biofilme e saliva)	0,070
	Tempo (Dias 0 e 90)	0,519
	Interação dos fatores (método e tempo)	0,537
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Método (biofilme e saliva)	0,032 (*)
	Tempo (Dias 0 e 90)	0,072
	Interação dos fatores (método e tempo)	0,070

* Diferença estatisticamente significativa (Teste ANOVA, $p \leq 0,05$)

Notamos que somente para a carga total, a média do biofilme foi menor do que o da saliva, com médias de 467.789.686 e 530.578.210, respectivamente. Nas demais bactérias observamos que a média foi maior para o biofilme ($p < 0,05$). Por exemplo, a média de *Tannerella forsythia* foi de 615.812 no biofilme comparativamente a 938 na saliva (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito dos fatores principais (método e tempo) e interação nas quantidades de bactérias

Bactéria	Tempo	Método				Total	
		Biofilme (N=20)		Saliva (N=20)		Média	Desvio Padrão
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão		
Ct	Dia 0	458.986.851	32.690.749	528.135.853	38.079.837	493.561.352	49.529.133
	Dia 90	476.592.522	26.817.187	533.020.567	51.503.525	504.806.544	49.589.329
Pg	Dia 0	257.271	681.570	2.427	7.106	129.849	492.941
	Dia 90	27.008	106.497	223	770	13.615	75.562
Td	Dia 0	277.459	610.251	2.201	6.535	139.830	448.193
	Dia 90	32.973	128.719	6	15	16.489	91.382

Tabela 3 – Efeito dos fatores principais (método e tempo) e interação nas quantidades de bactérias

Bactéria	Tempo	Método				Total	
		Biofilme (N=20)		Saliva (N=20)		Média	Desvio Padrão
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão		
Tf	Dia 0	1.149.128	1.355.070	1.857	6.673	575.493	1.109.992
	Dia 90	82.495	214.178	18	32	41.257	155.217
So	Dia 90	82.495	214.178	18	32	41.257	155.217
	Dia 90	135.408	414.579	3.870	16.835	69.639	297.168
Aa	Dia 0	222.915	450.120	2.960	4.817	112.938	333.351
	Dia 90	49.200	116.194	2.647	9.233	25.923	84.703
Total	Ct	467.789.686	30.829.840	530.578.210	44.775.697	499.183.948	49.568.558
	Pg	142.140	495.413	1.325	5.112	71.732	355.241
	Td	155.216	452.579	1.104	4.695	78.160	327.324
	Tf	615.812	1.099.379	938	4.750	308.375	832.101
	So	209.545	695.688	5.892	19.313	107.719	499.612
	Aa	136.057	336.187	2.804	7.271	69.431	245.595

Aa: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* / Pg: *Porphyromonas gingivalis* / Tf: *Tannerella forsythia* / Td: *Treponema denticola* / So: *Streptococcus oralis* / Ct: Carga total

Já para o fator tempo (Baseline – Dia 0 e Dia 90), somente encontramos significância estatística para a bactéria *Tannerella forsythia* (Tabela 2), que apresentou reduções nas médias observadas tanto no biofilme quanto na saliva. No biofilme, a média caiu de 1.149.128 para 82.495 enquanto na saliva a média caiu de 1.857 para 18. No total (considerando o biofilme e a saliva), a média reduziu de 575.493 para 41.257, indicando maior quantidade de bactérias nos dentes do que nos implantes aos 90 dias (Tabela 3).

Por fim, na interação entre os fatores (método e tempo) encontramos significância estatística apenas na bactéria *Tannerella forsythia* (um resultado de certa forma esperado, dado que tivemos significância em cada um dos fatores principais) (Tabela 2).

Na tabela abaixo teremos os p-valores da Comparação Múltipla de Tukey para a interação entre os fatores (Tabela 4).

Tabela 4 – Comparação múltipla de Tukey para *Tannerella forsythia* para interação entre os fatores (biofilme e saliva)

Comparação				p-valor
Método	Tempo	Método	Tempo	
Biofilme	Dia 0	Biofilme	Dia 90	0,004 (*)
Biofilme	Dia 0	Saliva	Dia 0	0,001 (*)
Biofilme	Dia 0	Saliva	Dia 90	0,001 (*)
Biofilme	Dia 90	Saliva	Dia 0	0,109
Biofilme	Dia 90	Saliva	Dia 90	0,101
Saliva	Dia 0	Saliva	Dia 90	0,231

* Diferença estatisticamente significativa (Teste múltipla de Tukey, $p \leq 0,05$)

Concluimos que, basicamente, a diferença ocorreu entre a média do biofilme subgingival no dia da exodontia e a instalação dos implantes contra todas as demais situações, ou seja, contra o biofilme peri-implantar isso aconteceu noventa dias após a instalação das prótese protocolo carga imediata, contra a saliva ocorreu tanto no dia da exodontia e na instalação dos implantes quanto em noventa dias após a instalação das prótese protocolo carga imediata (Tabela 4).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo hipotetizou que a presença de importantes patógenos periodontais em casos de periodontite severa poderia colaborar na colonização de futuros implantes osseointegrados, o que poderia contribuir para o desenvolvimento de casos de peri-implantite. Dessa maneira, o monitoramento do perfil de periodontopatógenos durante a transição para uma reabilitação com implantes poderia fornecer importantes achados para a compreensão dessa interação.

No biofilme subgengival e na saliva total as espécies *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* permaneceram mesmo após a instalação de implantes osseointegrados e próteses. Similarmente, estudos prévios demonstraram que o microbioma dos sítios com história de periodontite continuaram nos mesmos locais onde posteriormente ocorreu peri-implantite (Asikainen et al., 1991; Umeda et al., 1998; Saygun et al., 2011; Takeuchi et al., 2012; Zhang et al., 2019).

Deve-se lembrar que no presente estudo os dentes indicados para a exodontia estavam periodontalmente acometidos por periodontite. Nesse sentido, *Prevotella* e *Porphyromonas* foram mais discriminativas entre as condições de doença – periodontites e peri-implantites – e saúde periodontal. Com a história de periodontite, patógenos periodontais putativos prevaleceram em implantes doentes (Apatzidou et al., 2017). Ainda, ocorreu evidência de peri-implantite em pacientes que tiveram periodontite crônica, falta de controle de biofilme dental e terapia periodontal de suporte irregular ou ausente após a reabilitação com implantes e próteses diversas:

removíveis, fixas parafusadas e cimentadas acompanhados pelo menos por um ano (Berglundh et al., 2018; Schwarz et al., 2018; Vignoletti et al., 2019).

A detecção de micro-organismos bucais se tornou uma linha de pesquisa importante para avaliar a saúde ou a doença, a progressão ou a estabilização da doença periodontal. Sobremaneira, a utilização de técnicas moleculares permitiu a resolução de falsos negativos no diagnóstico microbiológico da doença periodontal. A sensibilidade dos métodos moleculares é extremamente elevada e segura. Principalmente a técnica de qPCR, além de pautar toda a detecção no DNA do micro-organismo alvo, também quantifica, em tempo real, a amplificação do material genético e possibilita não só a detecção do patógeno, mas também a contagem da sua expressão ao longo da transição clínica proposta no presente estudo.

Com relação à transição acima mencionada, raros são os estudos que se propuseram a realizar essa avaliação. Observamos no presente estudo, no mesmo indivíduo, o perfil microbiológico de um portador de periodontite crônica generalizada, seguimos para a avaliação após a instalação dos implantes e, ainda, a instalação da reabilitação protética. Dessa forma, pudemos acompanhar toda a mudança desse perfil microbiológico.

Algumas avaliações isoladas contribuíram para o desenho metodológico do presente estudo. *Streptococcus oralis* pertencem à microbiota bucal humana indígena, com patogenicidade oportunista, colonizador primário do biofilme dental, Gram-positivo, com crescimento em cadeias (Do et al., 2009).

Avaliando os níveis de citocinas no fluido crevicular gengival e peri-implantar de locais clinicamente saudáveis ou doentes nos mesmos indivíduos, os níveis de *Actinomyces naeslundii* e *Streptococcus oralis* foram significativamente maiores no grupo de implantes saudáveis do que em dentes saudáveis. *Prevotella intermedia* e

Treponema denticola se apresentam menores no grupo da mucosite peri-implantar do que o grupo gengivite. Os níveis de *Prevotella oralis* e *Streptococcus oralis* foram significativamente maiores no grupo da periodontite e os níveis de *Treponema denticola* foram significativamente maiores no grupo peri-implantite. Os achados denotaram uma maior presença de micro-organismos em dentes do que em implantes (Gürlek et al., 2017), o que vai ao encontro do nosso trabalho.

A presença de micro-organismos do complexo vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*) foi fortemente relacionada com a periodontite crônica. (Socransky et al., 1998). A periodontite, especialmente a crônica, representa uma das doenças mais prevalentes da humanidade (Tonetti et al., 2015). Nessa evolução, a nova classificação das doenças periodontais e peri-implantares foi apresentada pela Academia Americana de Periodontologia e Federação Europeia de Periodontologia.

As doenças periodontais foram definidas como condições infecciosas multifatoriais, com biofilme dental como fator etiológico determinante. Periodontites apresentam uma profundidade de sondagem real maior que 3 mm e foram classificadas como estádios I a IV (Caton et al., 2018). Complementando, ainda de acordo com Academia Americana de Periodontologia e Federação Europeia de Periodontologia, as doenças peri-implantares acometem tecidos ao redor dos implantes dentários, com inflamação da mucosa peri-implantar e perda óssea progressiva, classificadas como mucosite peri-implantar e peri-implantite (Berglundh et al., 2018; Schwarz et al., 2018).

O emprego da saliva para o diagnóstico, substituindo sangue, denotou vantagens como coleta não invasiva e de acesso fácil (Giannobile et al., 2009; Kim et al., 2013; Javaid et al., 2016). Nessa direção, o emprego da saliva na detecção de

periodontopatógenos apresentou ser uma ferramenta fácil para análise de periodontites e peri-implantites (Egawa et al., 2013; Ito et al., 2013; Eick et al., 2016). Ainda, a determinação dos parâmetros pôde ser realizada no consultório odontológico em programas de diagnóstico que pareceram promissores (Yamuna Priya & Muthu Prathibha, 2017; Gomar-Vercher et al., 2018; Kubala et al., 2018). Neste trabalho, amostras de saliva estimulada foram coletadas entre nove e 11 horas da manhã para evitar os efeitos do ciclo circadiano.

A reabilitação de pacientes totalmente edêntulos se tornou possível com a implementação da Implantodontia. Um protocolo de seis a oito meses após as extrações para instalação de implantes foi proposto, empregando de quatro a seis implantes entre os forames mentuais (Branemark et al., 1969). Nessa sequência, próteses protocolo implantossuportadas foram utilizadas, com o número de implantes variando de caso a caso (Heydecke et al., 2012).

Nesse diapasão, próteses implantossuportadas foram avaliadas nos quesitos estética, função, fonética e satisfação do paciente. Diversos materiais foram empregados, como liga de metal e acrílico e liga de metalocerâmica, concluindo que próteses protocolo obtiveram altas taxas de sucesso (Carames et al., 2015; Tartaglia et al., 2016; Preethanath et al., 2017). Complicações estéticas podem ocorrer com o emprego de implantes: sombreamento, contorno, recessão, posicionamento da margem do pilar e posicionamento tridimensional do implante (De Kok et al., 2019).

Quanto maior o tempo de permanência dos implantes na cavidade bucal, maior foi a presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* nos sulcos peri-implantares de pacientes completamente edêntulos reabilitados com próteses fixas tipo protocolo no arco inferior, sem a presença clínica e radiográfica de peri-implantite (Devides & Franco, 2006).

No nosso estudo foram selecionados indivíduos com faixa etária entre quarenta e oitenta anos, edêntulos parciais com quantidade variável de elementos dentais presentes, portadores ou não de próteses parciais fixas e/ou removíveis, periodontopatas, com indicação de exodontia de remanescentes dentais que foram submetidos à reabilitação total com sistema de implantes osseointegrados e prótese fixa tipo protocolo com carga imediata.

Os indivíduos da pesquisa foram reabilitados com quatro a oito implantes osseointegrados do tipo hexágono externo e/ou cone morse. O número e o tipo de implantes foram selecionados de acordo com as exigências de cada caso. As conexões protéticas para próteses múltiplas foram parafusadas. As próteses protocolo foram confeccionadas em acrílico termopolimerizável.

Amostras subgingivais foram coletadas de cinco sítios periodontais mais profundos dos dentes antes da exodontia seguida da instalação dos implantes osseointegrados (Baseline - Dia 0). Amostras dos implantes foram coletadas após o tratamento reabilitador com prótese protocolo com carga imediata nos sítios que apresentaram maior profundidade de sondagem peri-implantar noventa dias após a sua instalação (Dia 90), os cones de papel foram colocados no mesmo minitubo seco (pool para dentes e/ou implantes). Amostras de saliva foram coletadas no dia da exodontia e instalação dos implantes osseointegrados (Baseline - Dia 0), no dia do período pós-operatório (Dia 7) e noventa dias após a instalação da prótese protocolo carga imediata (Dia 90). Variáveis dependentes: carga total, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Streptococcus oralis*.

Somente em carga total, a média do método biofilme foi menor do que saliva, nas demais bactérias com significância estatística superior para o método biofilme. Na

interação entre os fatores encontramos significância estatística apenas para bactéria *Tannerella forsythia*.

A terapia de suporte peri-implantar regular após os cuidados iniciais, possibilitou em médio e longo prazo sobrevida da reabilitação com qualidade (Roccuzzo et al., 2018). Esse cuidado de manutenção se tornou obrigatório para o sucesso em longo prazo do tratamento periodontal e peri-implantar (Mombelli, 2019).

Após a condução do presente estudo, fica muito evidente a necessidade da realização de outros estudos para monitorar a evolução dos parâmetros microbiológicos em função de importantes mudanças clínicas nos indivíduos. Isso ocorre, principalmente, com relação à transição de uma oclusão dentária para uma implantossuportada. No entanto, os achados atuais servem de importante ponto de partida para a compreensão dessa complexa discussão.

7 CONCLUSÕES

Após a realização do presente estudo podemos concluir que:

- A carga total bacteriana foi maior na saliva do que no biofilme enquanto os níveis de espécies específicas foram maiores no biofilme do que na saliva;

- Os níveis de bactérias foram maiores nas amostras de biofilme dental do que nas amostras peri-implantares;

- A saliva revelou uma maior quantidade de bactérias no dia da exodontia e na instalação dos implantes do que após a instalação das próteses protocolo carga imediata;

- Pouco tempo após a reabilitação, os níveis de micro-organismos são menores do que os observados nos dentes condenados e indicados à exodontia.

REFERÊNCIAS

1. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, Lakshmanan A, Wade WG. The human oral microbiome. *J Bacteriol* 2010; 192(19):5002-17.
2. Kodukula K, Faller DV, Harpp DN, Kanara, Pernokas J, Pernokas M, Powers WR, Soukos NS, Steliou K, Moos WH. Gut microbiota and salivary diagnostics: The Mouth Is Salivating to Tell Us Something. *Biores Open Access* 2017; 6(1):123-32.
3. Martelli ML, Brandi ML, Martelli M, Nobili P, Medico E, Martelli F. Periodontal disease and women's health. *Curr Med Res Opin* 2017; 33(6):1005-15.
4. Zhang Y, Shi W, Song Y, Wang J. Metatranscriptomic analysis of an in vitro biofilm model reveals strain-specific interactions among multiple bacterial species. *J Oral Microbiol* 2019; 11(1):1599670. Disponível em: <<https://tandfonline.com/toc/zjom20/current>>. Acesso em: 29 set 2019.
5. Gomez A, Espinoza JL, Harkins DM, Leong P, Saffery R, Bockmann M, Torralba M, Kuelbs C, Kodukula R, Inman J, Hughes T, Craig JM, Highlander SK, Jones MB, Dupont CL, Nelson KE. Host genetic control of the oral microbiome in health and disease. *Cell Host Microbe* 2017; 22(3):269-78.
6. Zhou Y, Gao H, Mihindukulasuriya KA, La Rosa PS, Wylie KM, Vishnivetskaya T, Podar M, Warner B, Tarr PI, Nelson DE, Fortenberry JD, Holland MJ, Burr SE, Shannon WD, Sodergren E, Weinstock GM. Biogeography of the ecosystems of the healthy human body. *Genome Biol* 2013;14(1):R1. Disponível em: <<https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2013-14-1-r1>>. Acesso em: 29 set 2019.
7. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Fernandes CB, de Carvalho-Filho J, Franco GC, Costa FO, Kawai T. Etiological analysis of initial colonization of periodontal pathogens in oral cavity. *J Clin Microbiol* 2008; 46(4):1322-9.
8. Payne JB, Johnson PG, Kok CR, Gomes-Neto JC, Ramer-Tait AE, Schmid MJ, Hutkins RW. Subgingival microbiome colonization and cytokine production during early dental implant healing. *mSphere* 2017; 2(6). pii: e00527-17. Disponível em: <<https://msphere.asm.org/content/2/6/e00527-17>>. Acesso em: 29 set 2019.
9. Lafaurie GI, Sabogal MA, Castillo DM, Rincón MV, Gómez LA, Lesmes YA, Chambrone L. Microbiome and microbial biofilm profiles of peri-implantitis: A systematic review. *J Periodontol* 2017; 88(10):1066-1089.
10. Asikainen S, Alaluusua S, Saxen L. Recovery of *A. actinomycetemcomitans* from teeth, tongue and saliva. *J Periodontol* 1991; 62(3):203-6.
11. Umeda M, Contreeas A, Chen C, Bakker I, Slots J. The utility of whole saliva to detect the oral presence of periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1998; 69(7): 828-33.

12. Saygun I, Nizam N, Keskiner I, Bal V, Kubar A, Açikel C, Serdar M, Slots J. Salivary infectious agents and periodontal disease status. *J Periodontol* 2011; 46(2):235-9.
13. Takeuchi Y, Nagasawa T, Katagiri S, Kitagawara S, Kobayashi H, Koyanagi T, Izumi Y. Salivary levels of antibacterial peptide (LL-37/hCAP-18) and cotinine in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2012; 83(6):766-72.
14. Apatzidou D, Lappin DF, Hamilton G, Papadopoulos CA, Konstantinidis A, Riggio MP. Microbiome of peri-implantitis affected and healthy dental sites in patients with a history of chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2017; 83:145-52. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996917302194?via%3Dihub>>. Acesso em: 29 set 2019.
15. Egawa M, Miura T, Kato T, Saito A, Yoshinari M. In vitro adherence of periodontopathic bacteria to zirconia and titanium surfaces. *Dent Mater J* 2013; 32(1):101-6.
16. Ito T, Yasuda M, Kaneko H, Sasaki H, Kato T, Yajima Y. Clinical evaluation of salivary periodontal pathogen levels by real-time polymerase chain reaction in patients before dental implant treatment. *Clin Oral Implants Res* 2013; 9. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/clr.12198>>. Acesso em: 29 set 2019.
17. Eick S, Ramseier CA, Rothenberger K, Brägger U, Buser D, Salvi GE. Microbiota at teeth and implants in partially edentulous patients. A 10-year retrospective study. *Clin Oral Implants Res* 2016; 27(2):218-25.
18. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *J Periodontol* 2018; 89 Suppl 1:S267-S290.
19. Machtei EE, Frankenthal S, Blumenfeld I, Gutmacher Z, Horwitz J. Dental implants for immediate fixed restoration of partially edentulous patients: A 1-year prospective pilot clinical trial in periodontally susceptible patients. *J Periodontol* 2007; 78(7):1188-94.
20. Zhang Q, Qin XY, Jiang WP, Zheng H, Xu XL, Chen F. Comparison of subgingival and peri-implant microbiome in chronic periodontitis. *Chin J Dent Res* 2015; 18(3):155-62.
21. Berglundh, T. et al. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of periodontal and Peri-implant Diseases and Conditions. *J Periodontol* 2018; 89 Suppl 1:S313-S318.
22. Vignoletti F, Di Domenico GL, Di Martino M, Montero E, de Sanctis M. Prevalence and risk indicators of peri-implantitis in a sample of university-based

- dental patients in Italy: A cross-sectional study. *J Clin Periodontol* 2019; 12. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jcpe.13111>>. Acesso em: 29 set 2019.
23. Dierens M, Vandeweghe S, Kisch J, Persson GR, Cosyn J, De Bruyn H. Long-term follow-up of turned single implants placed in periodontally healthy patients after 16 to 22 years: Microbiologic outcome. *J Periodontol* 2013; 84(7):880-94.
24. Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intraosseous anchorage of dental prostheses. I. experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1969; 3(2):81-100.
25. 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; 14(3):329-39.
26. Heydecke G, Zwahlen M, Nicol A, Nisand D, Payer M, Renouard F, Grohmann P, Mühlemann S, Joda T. What is the optimal number of implants for fixed reconstructions: A systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23 Suppl 6:217-28.
27. Carames J, Tovar Suinaga L, Yu YC, Pérez A, Kang M. clinical advantages and limitations of monolithic zirconia restorations full arch implant supported reconstruction: Case series. *Int J Dent* 2015. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ijd/2015/392496/>>. Acesso em: 29 set 2019.
28. Tartaglia GM, Maiorana C, Gallo M, Codari M, Sforza C. Implant-Supported Immediately Loaded Full-Arch Rehabilitations: Comparison of resin and zirconia clinical outcomes in a 5-year retrospective follow-up study. *Implant Dent* 2016; 25(1):74-82.
29. Preethanath RS, AlNahas NW, Bin Huraib SM, Al-Balbeesi HO, Almalik NK, Dalati MHN, Divakar DD. Microbiome of dental implants and its clinical aspect. *Microb Pathog* 2017; 106:20-4.
30. De Kok IJ, Duqum IS, Katz LH, Cooper LF. Management of implant/prosthetic complications. *Dent Clin North Am* 2019; 63(2):217-231.
31. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25(2):134-44.
32. Do T, Jolley KA, Maiden MC, Gilbert SC, Clark D, Wade WG, Beighton D. Population structure of *Streptococcus oralis*. *Microbiology* 2009; 155(Pt 8):2593-602.
33. Larsen T, Fiehn NE. Dental biofilm infections - an update. *APMIS* 2017; 125(4):376-384.

34. Vilarrasa J, Delgado LM, Galofré M, Álvarez G, Violant D, Manero JM, Blanc V, Gil FJ, Nart J. In vitro evaluation of a multispecies oral biofilm over antibacterial coated titanium surfaces. *J Mater Sci Mater Med* 2018; 29(11):164. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10856-018-6168-8>>. Acesso em: 29 set 2019.
35. Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, van der Velden U, Armitage G, Bouchard P, Deinzer R, Dietrich T, Hughes F, Kocher T, Lang NP, Lopez R, Needleman I, Newton T, Nibali L, Pretzl B, Ramseier C, Sanz-Sanchez I, Schlegelhauf U, Suvan JE. Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol* 2015; 42 Suppl 16:S5-11.
36. Gürlek Ö, Gümüş P, Nile CJ, Lappin DF, Buduneli N. Biomarkers and bacteria around implants and natural teeth in the same individuals. *J Periodontol* 2017; 88(8):752-61.
37. Caton, J. et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol* 2018; 89 Suppl 1:S1–S8.
38. Devides SL, Franco AT. Evaluation of peri-implant microbiota using the polymerase chain reaction in completely edentulous patients before and after placement of implant-supported prostheses submitted to immediate load. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 21(2):262-9.
39. Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontol* 2000 1998; 17:63-76.
40. Costa F, Emanuelli E, Robiony M, Zerman N, Polini F, Politi M. Endoscopic surgical treatment of chronic maxillary sinusitis of dental origin. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65(2):223-8.
41. Sahin YF, Muderris T, Bercin S, Sevil E, Kırıs M. Chronic maxillary sinusitis associated with an unusual foreign body: a case report. *Case rep otolaryngol* 2012. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/criot/2012/903714/>>. Acesso em: 29 set 2019.
42. Derks J, Hakansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Larsson M, Berglundh T. Effectiveness of implant therapy analyzed in a swedish population: Early and late implant loss. *J Dent Res* 2015; 94:44S-51S.
43. Stein JM, Hammächer C, Said-Yekta Michael S. Combination of ultrasonic decontamination, soft tissue curettage and submucosal air polishing with povidone-

iodine application for non-surgical therapy of peri-implantitis: 12 months clinical outcomes. *J Periodontol* 2017; 15(9):1-13.

44. Derks J, Schaller D, Hakansson J, Wennstrom JL, Tomasi C, Berglundh T. Effectiveness of implant therapy analyzed in a swedish population: prevalence of peri-implantitis. *J Dent Res* 2016; 95:43-49.

45. American Academy of Periodontology. Parameter on periodontal maintenance. *J Periodontol* 2000; 71(5 Suppl):849-50.

46. Rocuzzo M, Layton DM, Rocuzzo A, Heitz-Mayfield LJ. Clinical outcomes of peri-implantitis treatment and supportive care: A systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2018; 29Suppl16:331-50.

47. Mombelli A. Maintenance therapy for teeth and implants. *Periodontol 2000* 2019; 79(1):190-9.

48. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: Current state and future directions. *Periodontol 2000* 2009; 50:52-64.

49. Kim JJ, Kim CJ, Camargo PM. Salivary biomarkers in the diagnosis of periodontal diseases. *J Calif Dent Assoc* 2013; 41(2):119-24.

50. Javaid MA, Ahmed AS, Durand R, Tran SD. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *J Oral Biol Craniofac Res* 2016; 6(1):66-75.

51. Yamuna Priya K, Muthu Prathibha K. Methods of collection of saliva - A review. *International Journal of Oral Health Dentistry* 2017; 3(3):149-153.

52. Kubala E, Strzelecka P, Grzegocka M, Lietz-Kijak D, Gronwald H, Skomro P, Kijak E. A review of selected studies that determine the physical and chemical properties of saliva in the field of dental treatment. *Biomed Res Int* 2018; 2018:6572381. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/6572381/>>. Acesso em: 29 set 2019.

53. Könönen E, Paju S, Pussinen PJ, Hyvönen M, Di Tella P, Suominen-Taipale L, Knuutila M. Population-based study of salivary carriage of periodontal pathogens in adults. *J Clin Microbiol* 2007; 45(8):2446-51.

54. Belstrøm D, Holmstrup P, Bardow A, Kokaras A, Fiehn NE, Paster BJ. Comparative analysis of bacterial profiles in unstimulated and stimulated saliva samples. *J Oral Microbiol* 2016; 8:30112. Disponível em: <<https://tandfonline.com/toc/zjom20/current>>. Acesso em: 29 set 2019.

55. Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol 2000* 2016; 70(1):80-92.

56. Gomar-Vercher S, Simón-Soro A, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM, Mira A. Stimulated and unstimulated saliva samples have significantly different bacterial profiles. *PLoS One* 2018; 13(6):e0198021. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0198021>>. Acesso em: 29 set 2019.
57. Navazesh M, Kumar SK. Measuring salivary flow: Challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc* 2008; 139 Suppl:35S-40S.
58. Srivastava N, Nayak PA, Rana S. Point of Care- A novel approach to periodontal diagnosis-A review. *J Clin Diagn Res* 2017; 11(8):ZE01-ZE06.
59. Pahwa N, Kumar A, Gupta S. Short term clinical effectiveness of a 0.07% cetylpyridinium chloride mouth rinse in patients undergoing fixed orthodontic appliance treatment. *Saudi Dent J* 2011; 23(3):135-41.
60. Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamine C. *J Periodontol* 1970; 41(1):41-3.
61. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21:533-51.
62. Quirynen M, Van Assche N. Microbial changes after full-mouth tooth extraction, followed by 2-stage implant placement. *J Clin Periodontol* 2011; 38(6):581-9.
63. Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Periodontal pathogens: a quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 45(2):191-9.
64. Saito T, Inagaki S, Sakurai K, Okuda K, Ishihara K. Exposure of *P. gingivalis* to noradrenaline reduces bacterial growth and elevates ArgX protease activity. *Arch Oral Biol* 2011; 56(3):244-50.
65. Park HK, Lee HJ, Jeong EG, Shin HS, Kim W. The *rgg* gene is a specific marker for *Streptococcus oralis*. *J Dent Res* 2010; 89(11):1299-303.

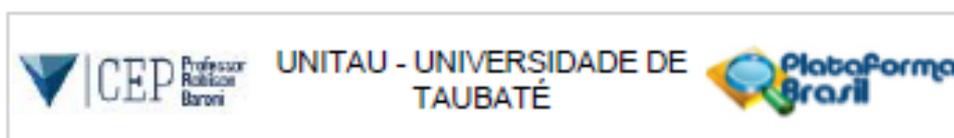
APÊNDICE

APÊNDICE A – Cronograma de coletas

Indivíduo		Saliva Dia 0		Biofilme subgengival Dia 0		Saliva Dia 7		Saliva Dia 90		Biofilme peri- implantar Dia 90	
I	LES	08.06.18	OK	08.06.18	OK	15.06.18	OK	06.09.18	OK	06.09.18	OK
II	DMSV	08.06.18	OK	08.06.18	OK	15.06.18	OK	06.09.18	OK	06.09.18	OK
III	CTJ	08.06.18	OK	08.06.18	OK	15.06.18	OK	06.09.18	OK	06.09.18	OK
IV	JDP	08.06.18	OK	08.06.18	OK	15.06.18	OK	06.09.18	OK	06.09.18	OK
V	OSA	03.08.18	OK	03.08.18	OK	10.08.18	OK	01.11.18	OK	01.11.18	OK
VI	EBA	07.07.18	OK	07.07.18	OK	14.07.18	OK	05.10.18	OK	05.10.18	OK
VII	WP	07.07.18	OK	07.07.18	OK	14.07.18	OK	05.10.18	OK	05.10.18	OK
VIII	VC	14.09.18	OK	14.09.18	OK	21.09.18	OK	13.12.18	OK	13.12.18	OK
IX	MAM	13.06.18	OK	13.06.18	OK	20.06.18	OK	11.09.18	OK	11.09.18	OK
X	ILG	13.06.18	OK	13.06.18	OK	20.06.18	OK	11.09.18	OK	11.09.18	OK
XI	FAS	22.08.18	OK	22.08.18	OK	29.08.18	OK	20.11.18	OK	20.11.18	OK
XII	WRM	22.08.18	OK	22.08.18	OK	29.08.18	OK	20.11.18	OK	20.11.18	OK
XIII	AMSA	22.08.18	OK	22.08.18	OK	29.08.18	OK	20.11.18	OK	20.11.18	OK
XIV	EM	22.08.18	OK	22.08.18	OK	29.08.18	OK	20.11.18	OK	20.11.18	OK
XV	DMVC	03.09.18	OK	03.09.18	OK	10.09.18	OK	03.12.18	OK	03.12.18	OK
XVI	CNC	25.06.18	OK	25.06.18	OK	02.07.18	OK	23.09.18	OK	23.09.18	OK
XVII	DPR	03.08.18	OK	03.08.18	OK	10.08.18	OK	01.11.18	OK	01.11.18	OK
XVIII	PRM	21.06.18	OK	21.06.18	OK	28.06.18	OK	19.09.18	OK	19.09.18	OK
XIX	DS	09.08.18	OK	09.08.18	OK	16.08.18	OK	07.11.18	OK	07.11.18	OK
XX	BFSP	09.08.18	OK	09.08.18	OK	16.08.18	OK	07.11.18	OK	07.11.18	OK

ANEXO

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DURANTE O PROCESSO DE REABILITAÇÃO COM IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS E PRÓTESE TIPO PROTOCOLO

Pesquisador: DANIELA SUSIN

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 83593318.7.0000.5501

Instituição Proponente: Universidade de Taubaté Departamento de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

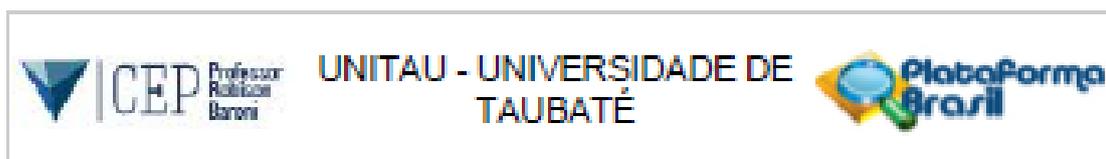
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.600.059

Apresentação do Projeto:

O estudo será desenvolvido com vinte participantes dentados parciais que serão submetidos a reabilitação total com sistema de implantes osseointegrados e prótese fixa tipo protocolo com carga tardia. Serão coletadas: a) amostras subgingivais do sítio periodontal com maior profundidade de sondagem; b) amostras implantares do sítio peri-implantar com maior profundidade de sondagem peri-implantar. As amostras dentárias serão coletadas uma vez, no dia da exodontia e instalação dos implantes osseointegrados (Dia 0) enquanto as amostras implantares serão coletadas trinta dias após a instalação de cicatrizadores (Dia 150) e trinta dias após a instalação da prótese tipo protocolo (Dia 240). As amostras de saliva serão obtidas no dia da exodontia e instalação dos implantes osseointegrados (Dia 0), no dia da remoção de sutura (Dia 7), trinta dias após a instalação de cicatrizadores (Dia 150) e trinta dias após a instalação da prótese tipo protocolo (Dia 240) peri-implantar mais profundo obtidas pela manhã, entre 09:00 e 11:00 horas com os participantes sentados na cadeira odontológica e com a cabeça ligeiramente inclinada. As amostras de biofilme e saliva serão processadas no laboratório da UNITAU, empregando detecção e quantificação microbiana de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Streptococcus oralis* por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real.

Endereço: Rua Visconde do Rio Branco, 210
 Bairro: Centro CEP: 12.020-040
 UF: SP Município: TAUBATÉ
 Telefone: (12)3635-1233 Fax: (12)3635-1233 E-mail: cepunitau@unitau.br



Continuação do Parecer: 2.000.059

Objetivo da Pesquisa:

Comparar longitudinalmente os níveis de periodontopatógenos observados antes das extrações dos dentes remanescentes, durante o período de osseointegração e após a reabilitação por prótese tipo protocolo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios foram considerados e incluídos no TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto bem delineado e cronograma adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram inseridos os termos de apresentação obrigatória.

Recomendações:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté recomenda a entrega do relatório final ao término da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O TCLE foi reformulado considerando as observações da relatoria anterior.

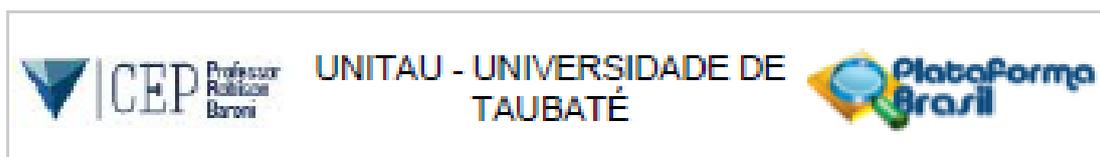
Considerações Finais e Relatório do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté, em reunião realizada no dia 13/04/2018, e no uso das competências definidas na Resolução CNS/MS 466/12, considerou o Projeto de Pesquisa: **APROVADO**.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PE_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1080265.pdf	23/03/2018 14:00:30		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.docx	23/03/2018 13:59:54	DANIELA SUSIN	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	23/03/2018 13:59:10	DANIELA SUSIN	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Pesquisador.pdf	23/02/2018 01:07:30	DANIELA SUSIN	Aceito
Declaração de	Infraestrutura.jpg	23/02/2018	DANIELA SUSIN	Aceito

Endereço: Rua Visconde do Rio Branco, 210
 Bairro: Centro CEP: 12.020-040
 UF: SP Município: TAUBATÉ
 Telefone: (12)3635-1233 Fax: (12)3635-1233 E-mail: cep@unitau.br



Continuação do Parecer: 2.600.059

Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.jpg	01:05:48	DANIELA SUSIN	Aceito
Folha de Rosto	Rosto.pdf	23/03/2018 01:04:50	DANIELA SUSIN	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

TAUBATÉ, 16 de Abril de 2018

Assinado por:
José Roberto Cortelli
(Coordenador)

Endereço: Rua Visconde do Rio Branco, 210
Bairro: Centro CEP: 12.030-040
UF: SP Município: TAUBATÉ
Telefone: (12)3635-1233 Fax: (12)3635-1233 E-mail: cepunitau@unitau.br

CUSTOS E FOMENTO

Os custos com o desenvolvimento da pesquisa foram subsidiados pelo próprio pesquisador referente a parte de pesquisa do projeto.

Já a instalação e reabilitação dos pacientes foi efetuado pelo curso de especialização onde serão coletadas as amostras.

Os exames complementares solicitados de acordo com cada planejamento foram realizados em clínicas particulares com os custos assumidos pelo paciente (exames de imagem, modelos de estudo, fotografias) e plano de tratamento.

Material para higiene bucal: escova de dentes, passa fio, creme dental e fio dental.

Material para a coleta de biofilme e saliva: minitubos tipo Eppendorf estéril, tubo de plástico tipo Falcon estéril, cone de papel absorvente estéril nº 30 (Tanari®, Presidente Figueredo, Manaus, Brasil), rolete de algodão, gaze, copo descartável, babador descartável, guardanapo, Parafilm® (Bemis NA, Neenah, Wisconsin, USA), luvas para procedimento, touca descartável, máscara descartável, instrumental para avaliação clínica bucal.

Exame laboratorial: exame detecção e quantificação microbiana (Real Time PCR - qPCR).

O valor estimado do projeto foi de R\$ 10.000,00 (Dez mil reais).

EXECUTORES DO PROJETO

Daniela Susin (mestranda; processo de consentimento, seleção e tratamento dos indivíduos; coleta de amostras e procedimentos laboratoriais).

Daniella Varzea Gracindo Marques (mestranda; tratamento dos indivíduos).

Taís Browne de Miranda (doutoranda; procedimentos laboratoriais).

José Roberto Cortelli (professor colaborador; desenho do estudo, interpretação e revisão dos dados).

Davi Romeiro Aquino (professor coorientador; desenho do estudo e análises laboratoriais).

Fernando de Oliveira Costa (professor colaborador; desenho do estudo e análise estatística dos dados).

Sheila Cavalca Cortelli (professora orientadora; desenho e concepção do estudo e supervisão geral).

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Daniela Susin

Taubaté, 23 de agosto de 2019.