

**JULIO CESAR DE PAULO CRAVINHOS  
CIRURGIÃO-DENTISTA**

**ANÁLISE *IN VITRO* DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA  
NA INTERFACE IMPLANTE/CONECTOR PROTÉTICO EM  
TRÊS SISTEMAS DE IMPLANTES ENDÓSSEOS.**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba – Universidade Estadual  
de Campinas para obtenção do  
título de Mestre em Clínica  
Odontológica – Área de  
Concentração Cirurgia e  
Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais

**PIRACICABA  
2003**

**JULIO CESAR DE PAULO CRAVINHOS  
CIRURGIÃO-DENTISTA**

**ANÁLISE *IN VITRO* DA CONTAMINAÇÃO BACTERIANA  
NA INTERFACE IMPLANTE/CONECTOR PROTÉTICO EM  
TRÊS SISTEMAS DE IMPLANTES ENDÓSSEOS.**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba – Universidade Estadual  
de Campinas para obtenção do  
título de Mestre em Clínica  
Odontológica – Área de  
Concentração Cirurgia e  
Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais

**Orientador: Prof. Dr. Renato Mazzonetto**

**Banca Examinadora:**

**Prof. Dr. Renato Mazzonetto  
Prof. Dr. Luis Augusto Passeri  
Prof. Dr. Walter Leal de Moura**

**PIRACICABA  
2003**

## DEDICATÓRIAS

À Deus,  
Que me deu a vida,  
Força de vontade,  
E o dom de amar.

À minha mãe, Ana Maria,  
Exemplo de persistência,  
Luta e dedicação,  
Obrigado por seu eterno Amor!

Ao Meu Pai, José Cravinhos,  
Por não ser somente um Pai,  
Mas um amigo Fiel,  
Que eu Sempre Pude Contar!

Aos meus Irmãos  
Mario e Marco Antônio  
Pelo amor e amizade

Aos Meus Tios,  
Pr. César e Clotilde,  
Ana Luiza,  
Luisinho e Isabel,  
Marcos e Elza,  
José Luís e Gaia,  
Euclides  
pela confiança, amor e apoio  
para esta realização

Aos meus avós  
Francisco de Paulo (*In Memoriam*)  
Eurico Cravinhos (*In Memoriam*)  
Conceição Cravinhos (*In Memoriam*)  
E minha doce Vovó Lela!

## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do Sr. Diretor Prof. Dr. **THALES ROCHA MATTOS FILHO** e do Sr. Ex-Diretor Prof. Dr. **ANTÔNIO WILSON SALLUM**, pela estrutura disponibilizada para o desenvolvimento do curso de mestrado e parte experimental do estudo.

Ao Professor Doutor **RENATO MAZZONETTO**, pela orientação, disponibilidade, paciência, amizade sincera demonstrada e pela valiosa contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Doutor **WALTER LEAL DE MOURA**, por ter me dado apoio e incentivo desde os meus primeiros passos na Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial. Meu agradecimento e admiração pelo docente dedicado e pela pessoa humana que és.

Ao Professor Doutor **JOSÉ RICARDO DE ALBERGARIA BARBOSA**, pela amizade sincera e incentivo para a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor **LUIS AUGUSTO PASSERI**, pela competência, dedicação, amizade e seriedade transmitidas.

Aos Professores Doutores **MÁRCIO DE MORAES** e **ROGER WILLIAM FERNANDES MOREIRA**, pela competência e trabalho.

Ao Professor Doutor **REGINALDO BRUNO GONÇALVES**, da Área de Microbiologia e Imunologia Oral da FOP-UNICAMP, pelas orientações, sugestões e valiosas contribuições para a realização deste trabalho

Ao aluno de graduação da FOP-UNICAMP e bolsista pesquisador do PIBIC-CNPq, **RAFAEL NÓBREGA STIPP**, pela ajuda e contribuição na parte experimental deste trabalho. Obrigado pela colaboração e pela amizade sincera demonstrada.

Aos Professores Doutores **MARCELO FERRAZ MESQUITA**, **MÁRCIO de MORAES** e **MÁRCIO ZAFALON CASATI**,

pelas valiosas contribuições para a melhoria deste trabalho no exame de qualificação.

À professora **GLÁUCIA AMBROSANO BOVI**, pela contribuição na análise estatística.

À Professora **CARMEM DOLORES VILARINHO SOARES DE MOURA**, pela amizade sincera, apoio e grande incentivo na minha vida profissional.

Ao professor **WAGNER LEAL SERRA E SILVA** e família, pelo incentivo e pela valiosa amizade demonstrada.

Aos Professores do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Piauí **CLÁUDIO MOREIRA DO RÊGO, JOSÉ RESENDE LEITE, LÚCIA ROSA REIS CARVALHO** e **PAULO VASCONCELOS**, pelos ensinamentos, amizade e incentivo.

Ao amigo **FABRÍCIO**, meus agradecimentos pela amizade sincera, apoio nos momentos difíceis, e pelo exemplo de pessoa e profissional que és.

Aos meus amigos do curso de mestrado, **ANDRÉ, Cmte. BOTELHO, GUSTAVO, LUCIANA, RODRYGO e PETRUS**. Obrigado pelo convívio e pela amizade construída nestes anos.

Aos meus amigos do curso de doutorado, **ADRIANO, ALEYSSON, JOSÉ IVO, NELSON, PAULO, RUBÃO, SANDRA e WAGNER**, meus agradecimentos pela amizade e ensinamentos.

Aos amigos **EIDER, LUISÃO, PAULINHO e LAUREANO**, pela amizade e incentivo.

Aos novos alunos de mestrado, **ANIBAL, BERNARDO, DELSON, FABRÍCIO, MARVIS e PAUL**.

Às funcionárias e amigas **DAIANA, EDILAINE (DIDI) e SUELI**, meus agradecimentos pelo convívio salutar que tivemos.

Aos estagiários de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOP-UNICAMP **DANIEL, GRAZIELA e OLIVIA**, pela disponibilidade e amizade.

Aos amigos de Teresina, **ALESSANDRA, AMANDA, CARLOS EDUARDO, DANIELA, EDGAR, EDSON, EDUARDO, GORETH, HENRIQUE, JOSÉ WELLINGTON, KÁVIO, MARCUS, NOÉ, RICARDO, SÉRGIO FREITAS, SÉRGIO PINHEIRO, TATIANA, VEUMACY e ZECA**, pelo incentivo e por entenderem que a distância não separa os amigos verdadeiros que Deus coloca em nosso caminho.

À Conexão Sistemas de Prótese, na pessoa do Sr. **DOUGLAS FIGUEIRA** e Dr. **RODOLFO CANDIA ALBA Jr.**, à Emfils Sistemas de Implantes, na pessoa do Dr. **ADOLFO EMBACHER**, e à Globtek Implantes, na pessoa da Dra. **JÔ**, pela doação do material utilizado para o desenvolvimento deste trabalho.

"Ora (dizeis) ouvir estrelas! Certo  
Perdeste o senso!" E eu vos direi, no entanto,  
Que, para ouvi-las, muita vez desperto(...)  
E eu vos direi : "Amai para entendê-las!  
Pois só quem ama pode ter ouvido  
Capaz de ouvir e de entender estrelas."

OLAVO BILAC

## SUMÁRIO

RESUMO	01
ABSTRACT	03
1. INTRODUÇÃO	05
2. REVISÃO DA LITERATURA	08
2.1. HISTÓRICO IMPLANTES	08
2.2. PROSERVAÇÃO CLÍNICA	10
2.3. COLONIZAÇÃO BACTERIANA	14
2.4. DOENÇA PERIIMPLANTAR	22
2.5. INTERFACE IMPLANTE / CONECTOR PROTÉTICO	25
3. PROPOSIÇÃO	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1. SELEÇÃO DAS AMOSTRAS	36
4.2. ATIVAÇÃO BACTERIANA	38
4.3. OBTENÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA	40
4.4. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	41
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA ENTRE OS GRUPOS	50
5. RESULTADOS	51
5.1. AMOSTRAS VIÁVEIS	51
5.2. CONTAMINAÇÃO BACTERIANA	53
5.3. RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
6. DISCUSSÃO	55
7. CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

## RESUMO

Este trabalho teve o propósito de avaliar a qualidade e a precisão da interface implante/conector protético em 3 sistemas de implantes de 2 estágios cirúrgicos, disponíveis no mercado brasileiro, por meio de uma avaliação microbiológica *in vitro*. Para isto, foram utilizados 30 implantes, divididos em 3 grupos de 10 unidades, sendo denominado grupo 1 os pertencentes ao sistema Colosso<sup>®</sup>, grupo 2 ao sistema Conect<sup>®</sup> e grupo 3 ao sistema Globtek<sup>®</sup>.

Após manipulação e abertura dos implantes em condições estéreis, inoculou-se 0,1 µL de uma solução contendo colônia da bactéria *Streptococcus sanguis* na superfície interna de cada implante e, logo após, o conector protético foi adaptado e parafusado com o auxílio de um torquímetro calibrado em 30 Ncm. A composição implante/conector protético foi, então, colocada em um recipiente contendo o meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion) e levada à uma estufa bacteriológica, mantida sob condições ideais durante 14 dias, sendo que a cada 24 horas, observou-se a presença ou não de contaminação visível.

Verificou-se que todos os sistemas de implantes empregados no estudo apresentaram microinfiltração bacteriana, sendo que não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os sistemas avaliados.

**Unitermos:** Implantes dentais, adaptação implante / conector protético, microinfiltração bacteriana.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the quality and the precision of the dental implant/abutment interface in 3 systems of 2 stage dental implants, available in the Brazilian market, and its respective connectors, through a *in vitro* microbiological evaluation. Thirty samples, divided in 3 groups of 10 units had been used, divided in group 1 (Colosso<sup>®</sup> System), group 2 (Conect<sup>®</sup> System) and group 3 (Globtek<sup>®</sup> System).

Under germ-free environment, 0.1 µL of a *Streptococcus sanguis* solution was inoculated in the internal surface of each implant, followed by adaptation of the prosthetic connector, screwed with 30 Ncm of torque. After this, the assemblies were placed in a container containing the way of culture BHI (Brain Heart Infusion) and taken to a bacteriological incubator kept under ideal conditions during 14 days, being that to each 24 hours, it was observed presence or not of visible contamination.

It was verified that all the implants evaluated showed bacteriological microinfiltration, being that statistical significant differences between the evaluated systems had not been observed.

**Uniterms:** Dental implants, microleakage implant/abutment, interface implant/abutment.

## 1. INTRODUÇÃO

A ausência parcial ou total de dentes resulta em deficiência funcional do sistema estomatognático, também influenciando negativamente na estética e no convívio social do indivíduo.

Desde épocas remotas, o homem procurou um substituto ideal para esta perda. Inicialmente, a preocupação foi meramente estética, sendo empregados diferentes materiais, como dentes extraídos de seres humanos e de animais, pedaços de marfim, pérolas e osso esculpido. Na Europa do século XVIII, uma prática bastante empregada foi o transplante dental homogêneo. No entanto, foi logo abolida, devido ao índice de insucesso elevado e à possibilidade de transmissão de doenças (SPIEKERMANN *et al.*, 1995).

BRÅNEMARK *et al.* (1969) divulgaram o conceito de osseointegração como sendo a possibilidade de ancoragem direta da estrutura do implante no osso, sem que haja a presença de tecido conjuntivo nesta interface. A osseointegração foi então definida como o contato direto, estrutural e funcional, entre o osso ordenado e

saudável com a superfície do implante, em nível de microscopia óptica, estável e capaz de suportar as forças mastigatórias.

O sucesso primário dos implantes se deve à comprovação desta osseointegração. No entanto, caso não exista uma perfeita adaptação entre o implante e seus componentes protéticos, pode haver um risco em potencial, uma vez que esta área torna-se favorável à colonização bacteriana, levando ao desenvolvimento de patologia perimucosal e periimplantar, causando comprometimento na manutenção da osseointegração (STEFLIK *et al.*, 1991; VIDIGAL Jr *et al.*, 1995; JANSEN *et al.*, 1997; GROSS *et al.*, 1999).

A ocorrência de infiltração bacteriana na superfície interna dos implantes, através da interface implante/conexão protética, é um dos parâmetros para analisar o grau de qualidade na confecção destas conexões. Observar este quesito em três sistemas de implantes é um fator de extrema importância, visto que podemos analisar se os sistemas de implantes comercializados e amplamente utilizados em nosso país têm uma satisfatória adaptação implante/conector protético, como é o objetivo deste trabalho.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO IMPLANTES

O conceito de osseointegração foi criado a partir de estudos de BRÅNEMARK *et al.* (1969) que sugeriram a possibilidade de ancoragem direta da estrutura do implante no osso, sem que houvesse a presença de tecido conjuntivo nessa interface. A osseointegração foi então definida como o contato direto, estrutural e funcional, entre o osso ordenado e saudável com a superfície do implante, em nível de microscopia óptica, estável e capaz de suportar as forças mastigatórias (BRÅNEMARK, 1985; ADELL *et al.*, 1986; ALBREKTSSON, 1988, 1991).

Os pré-requisitos para se alcançar a osseointegração primária, segundo BRÅNEMARK (1985), são: biocompatibilidade e apropriado desenho do implante, sua implantação através de uma técnica cirúrgica atraumática, uma precisa preparação do sítio receptor do implante e período de reparo livre de cargas.

BRÅNEMARK (1985) relatou que “a criação e manutenção da osseointegração depende, todavia, da compreensão da cicatrização tecidual, reparo e capacidade de remodelação. Um pré-requisito para se estabelecer a integração tecidual real e duradoura de uma prótese não biológica, com mínimo risco de ocorrerem reações teciduais adversas, consiste em detalhada compreensão do comportamento da resposta dos tecidos duros e moles altamente diferenciados, frente ao processo cirúrgico do sítio receptor e à instalação da prótese, bem como a adaptação do tecido a longo prazo frente às demandas funcionais do implante.”

ZARB & ALBREKTSSON (1991) sugeriram a definição de osseointegração baseada na estabilidade do implante: “Osseointegração é o processo pelo qual a fixação rígida e assintomática de um material aloplástico no osso é obtida e mantida durante a função”.

Os implantes possuem como objetivo primordial a restauração da funcionabilidade da cavidade bucal. Para isso, devem suportar as forças oclusais e dissipá-las para o osso adjacente de

forma a conservar a fisiologia do tecido em condições ideais. Essa transmissão de força em grande parte é dependente da formação de uma interface osseointegrada que estabilize o implante em um curto intervalo de tempo (3 a 6 meses). Uma vez estável, deve permanecer por um longo tempo (KONONEM *et al.*, 1992).

MEFFERT *et al.* (1992) emitiram o conceito de biointegração, que seria a união química do implante com o osso. Tal conceito foi desenvolvido com o uso de materiais, como a hidroxiapatita ou fosfato tricálcio, que não apresentavam espaços entre tecido calcificado e o material de implante, a nível de microscopia eletrônica de varredura.

## **2.2. PROSERVAÇÃO CLÍNICA**

Um relevante fator para o sucesso a longo prazo dos implantes é o efeito do desenho na remodelação óssea em volta do implante. A excessiva perda óssea não é aceitável, pois leva a um aumento no desenvolvimento de bolsas e de infecção nessa porção cervical do implante, comprometendo a implantação. A redução da

crista óssea tem sido vista em certo grau em quase todos os implantes usados correntemente, mas parece que há um limite para a extensão desta perda óssea. COX & ZARB (1987) afirmaram que essa perda é de cerca de 1,3 milímetros no primeiro ano, podendo ser de 0,1 milímetros por ano, nos anos subseqüentes. O estresse elevado que ocorre no osso próximo à porção cervical do implante seria a causa dessa perda inicial (BLOCK, 1994).

Não somente fatores como o trauma cirúrgico não controlado, dentre outros, devem ser considerados como causa do fracasso dos implantes. A longo prazo, outros fatores podem ser considerados na sobrevida dos implantes como, por exemplo, o papel dos microorganismos. Pacientes que apresentam formação excessiva de placa bacteriana têm apresentado inflamação gengival na região da interface do implante com sua respectiva conexão protética, resultando em fracasso por volta de 80% dos casos, quando instalada a doença periimplantar, o que comprova o efeito da contaminação microbiana sobre a manutenção da osseointegração (BECKER *et al.*, 1990).

As alterações nos tecidos periimplantares induzidas pela formação de placa bacteriana, constituem-se um problema que deve ser evitado para o sucesso duradouro dos implantes. BAUMAN *et al.* (1992), estudando leitões periimplantares e periodontais *in vivo*, afirmaram que a flora bacteriana presente é semelhante, tanto em leitões saudáveis como em comprometidos, em pacientes edentados parciais. No entanto, a flora difere quando o paciente é desdentado total. Pode-se verificar, então, o caráter migratório que os microorganismos possuem. Por isso, é certo que não se deve realizar a terapia por implantes, em pacientes periodontalmente comprometidos, sem antes haver a devolução adequada da saúde periodontal.

SALONEN *et al.* (1993) fizeram uma análise retrospectiva, de 5 anos, em 68 pacientes (26 homens e 42 mulheres) com idade variando entre 21 e 86 anos, que receberam um total de 204 implantes, de quatro sistemas distintos. Verificaram que 14 implantes foram perdidos por falhas na osseointegração e chegaram à conclusão de que os insucessos se devem a vários fatores, como idade

avançada, alterações sistêmicas, má higienização e doença periimplantar.

Uma grande atenção deve ser direcionada para pacientes candidatos a receber implantes, que apresentam história de doença periodontal. MOMBELLI *et al.* (1995) verificaram a presença de bactérias patógenas antes e após a colocação dos implantes, concluindo que os microorganismos associados à doença periodontal podem também estar associados à doença periimplantar.

LEONHARDT *et al.* (2002) realizaram um acompanhamento, durante dez anos, em 15 pacientes que receberam implantes protocolo Brånemark que apresentavam doença periodontal prévia. Todos os pacientes receberam os implantes após rigoroso tratamento da patologia pré-existente, mantendo uma preservação cuidadosa após este período. A média de sucesso dos implantes após 10 anos foi de 94,7%. A perda óssea, tendo como referência a junção implante / conector protético, foi de 1,7 mm. Dez anos antes, os pacientes haviam sido submetidos a exames microbiológicos, que detectaram as bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga*

*spp.* e *Campylobacter rectus*, presentes no sulco gengival dos dentes normalmente implantados. Após este período, as mesmas bactérias foram encontradas nos leitos periimplantares. Os resultados do estudo sugerem que a presença desses microorganismos nos referidos leitos não pode ser associada à patologia periimplantar, pois tais bactérias se acham presentes na microbiota de todos os indivíduos que fizeram parte da amostra. No entanto, foram encontradas também em sulcos periimplantares comprometidos.

### **2.3. COLONIZAÇÃO BACTERIANA**

Na superfície dos implantes também existe a formação de placa bacteriana como acontece na dentição natural. NAKAZATO *et al.* (1989) observaram a formação de película em cinco tipos de superfícies de implantes: cristal de alumina, policristal de alumina, policristal de zircônia, hidroxiapatita e titânio puro. *Streptococcus sp* foram encontrados nas primeiras 4 horas em todas as superfícies, sendo que, nas 48 horas subseqüentes, a população bacteriana consistiu basicamente em anaeróbios. Os autores concluíram que a

formação de placa bacteriana nos materiais de implantes é independente de sua superfície. No entanto, quanto mais rugosa, maior é a aderência bacteriana. Portanto, é necessário um rigoroso controle de placa bacteriana, a fim de prevenir falhas nos implantes, independente do tipo de superfície empregada.

WOLINSKY *et al.* (1989) avaliaram a aderência de *Streptococcus sanguis* G9-B e *Actinomyces viscosus* T14V à superfície de esmalte e à de titânio comercialmente puro, tratados com saliva. *Streptococcus sanguis* G9-B aderiu às duas superfícies em uma escala estatisticamente significativa quando comparada à *Actinomyces viscosus* T14V, em ambas superfícies. *Streptococcus sanguis* G9-B faz parte da flora indígena da cavidade bucal, estando associada ao mecanismo inicial de formação de placa bacteriana.

SANZ *et al.* (1990) realizaram um estudo onde verificaram os achados microbiológicos associados aos implantes de safira feitos em pacientes com edentulismo parcial. Trinta pacientes foram selecionados com o requisito de possuírem pelo menos um implante de safira com um dente natural adjacente. As amostras foram

colhidas do sulco periimplantar e do sulco gengival do dente adjacente. Verificaram que a microbiota em locais comprometidos era formada por bastonetes anaeróbios gram-negativos e bacterióides de pigmentação negra. Locais saudáveis possuíram uma pequena quantidade de cocos gram-positivos e bastonetes. A microbiota dos locais saudáveis e comprometidos foi muito similar. Concluíram que a flora associada com a doença periimplantar é muito similar à doença periodontal, em sua grande maioria formada por bastonetes anaeróbios gram-negativos.

KOKA *et al.* (1993), observando a colonização bacteriana associada à implantes em pacientes parcialmente desdentados, após o segundo estágio cirúrgico, verificaram que a colonização bacteriana supragengival ocorre em torno de 14 dias, e a colonização subgengival em 28 dias. Portanto, segundo os autores, pode haver uma população bacteriana potencialmente agressiva aos tecidos periimplantares após 14 dias da colocação do cicatrizador.

A identificação da microflora associada aos implantes é uma preocupação de vários pesquisadores. DHARMAR *et al.* (1994)

utilizaram um teste enzimático (kit SK-013, Periocheck) para identificar e comparar a população bacteriana no sulco gengival de dentes naturais e no sulco periimplantar de implantes do sistema Brånemark. O estudo incluiu 18 pacientes parcialmente edêntulos e 6 pacientes desdentados totais, sendo 8 homens e 16 mulheres, com idade de 24 a 81 anos (média de 54,1 anos). O número total de implantes foi de 64, e 22 dentes naturais serviram como grupo controle. As amostras foram coletadas do sulco gengival do grupo controle e do sulco periimplantar. Verificaram que a flora encontrada não diferiu entre os grupos, sendo constituída em sua maior parte por cocos, bastonetes móveis e não móveis, fusiformes e espiroquetas. Estas últimas bactérias não foram encontradas em pacientes edêntulos.

KOHAVI *et al.* (1994) investigaram a microbiota supra e subgengival associada à implantes osseointegrados saudáveis em 16 pacientes com edentulismo parcial. Em cada paciente, um (n=3) ou dois (n=13) implantes foram utilizados como grupo experimental e respectivamente, um ou dois locais de dentes adjacentes aos implantes foram utilizados como grupo controle, totalizando 58 locais. As amostras de placa supra e subgengival foram coletadas utilizando-

se uma cureta estéril. Os resultados obtidos demonstraram que, em relação à placa subgengival, a presença de anaeróbios fora a de maior incidência tanto no grupo controle quanto no experimental. Em relação à placa supragengival, verificou-se uma incidência maior de *Streptococcus mutans* no leito periimplantar e no grupo controle. Concluíram que não existe diferença significativa na flora subgengival entre dentes e implantes. No entanto, as amostras coletadas da placa supragengival demonstraram a presença de uma quantidade maior de bactérias consideradas como colonizadoras secundárias da superfície dental.

A adesão bacteriana em superfícies duras da cavidade oral é altamente influenciada pelo grau de rugosidade destas estruturas. Quanto mais rugosa a superfície, maior o número de colônias bacterianas formadas. BOLLEN *et al.* (1996) examinaram os efeitos desta rugosidade na adesão de bactérias em superfícies de implantes. Seis pacientes que faziam uso de *overdentures* foram selecionados, sendo que, de um lado o conector protético era altamente polido e do outro um conector protético padrão de titânio. A cada três meses foram realizadas análises microbiológicas da placa bacteriana

removida ao redor dos implantes. A análise dos resultados permitiu concluir que houve maior acúmulo no conector de superfície mais rugosa, no entanto as bactérias encontradas eram semelhantes em ambos os casos.

EDGERTON *et al.* (1996) estudaram a adesão de diferentes espécies de *Streptococcus* na superfície de titânio. Concluíram que a adesão das espécies *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus oralis* foi maior que as outras espécies estudadas. Em geral, as bactérias desta família habitam o leito periimplantar saudável. No entanto, acham-se associadas ao mecanismo inicial de formação de placa bacteriana na região, podendo favorecer a colonização secundária de outras espécies bacterianas, especialmente patógenas.

QUIRYNEN *et al.* (1996), avaliando a relação entre a superfície do conector protético e o acúmulo de placa bacteriana, verificaram que há maior acúmulo nas superfícies com grau de rugosidade acentuado, chegando a ser 25 vezes maior do que em superfícies lisas. No entanto, não houve diferença na população

bacteriana, tanto supra como subgengivalmente, em relação à rugosidade do conector protético.

RIMONDINE *et al.* (1997) analisaram a adesão bacteriana em 3 tipos de superfícies de titânio comercialmente puro. Oito voluntários foram selecionados para o estudo, que consistiu na colocação de 3 discos de titânio, com diferentes superfícies, na região posterior da mandíbula, sustentados por um aparato. Os discos de superfície lisa foram colocados no grupo A, e os demais discos formaram o grupo B, de rugosidade intermediária e grupo C, de alta rugosidade. Os voluntários foram orientados a suspender a higiene oral por 24 horas. A aderência bacteriana verificada por microscopia eletrônica de varredura, comprovou que os discos de superfície lisa apresentaram colonização bacteriana muito inferior aos demais, sendo que a população bacteriana era formada basicamente de cocos e bastonetes.

A observação em microscopia eletrônica de varredura de 45 implantes removidos indicou a presença de acúmulo de placa

bacteriana na interface implante/conector protético (CALLAN *et al.*, 1998).

LEE *et al.* (1999) realizaram um estudo onde examinaram 43 pacientes desdentados parciais que receberam 101 implantes, todos com sucesso clínico. Objetivaram identificar a microbiota periimplantar de acordo com o tipo de restauração protética, tipo de implante, histórico de doença periodontal / periimplantar. Os implantes foram colonizados principalmente por *Streptococcus*, *Capnocytophagae*, *Veillonella parvula*, *Peptostreptococcus micros* e *Fusobacterium nucleatum*. Concluíram que a presença ou não de restauração protética pouco influi na microbiota da região. Histórico de doença periodontal ou infecções periimplantares têm grande influência na microbiota, principalmente as bactérias *P. gingivalis* e *B. forsythus*. No entanto, apesar da presença destes microorganismos na região, os implantes achavam-se osseointegrados e funcionais.

A placa bacteriana acumula-se em áreas retentivas. O desenho de alguns implantes apresentam locais favoráveis ao acúmulo de placa bacteriana, geralmente na interface

implante/conector, interface prótese/conector protético, sobre a superfície do conector, no implante e na prótese. O tamanho da fenda implante/conector contribui para o acúmulo de placa e produz um meio ideal para a colonização bacteriana (O'MAHONY *et al.*, 2000).

## **2.4. DOENÇA PERIIMPLANTAR**

A doença periimplantar, assim como a periodontal, caracteriza-se pela perda progressiva do tecido ósseo de suporte. As possíveis etiologias dessa ocorrência são: falhas durante a execução da técnica cirúrgica; carga funcional excessiva e, por fim, inflamação dos tecidos periimplantares induzida pelo acúmulo de placa bacteriana na região.

A natureza microbiológica da infecção periimplantar é mista, ou seja, vários tipos de bactérias se acham envolvidas. BECKER *et al.* (1990), avaliando 36 implantes com doença periimplantar, encontraram a presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteróides intermedius* e *Bacterioides gingivalis*.

BAUMAN *et al.* (1992) afirmaram que a microflora ao redor de implantes sem alterações periimplantares é muito semelhante à que reside no sulco gengival saudável, formada basicamente de bactérias gram-positivas, cocos, espiroquetas e bactérias não-móveis. Já nos locais onde há envolvimento periimplantar, a flora residente possui grande quantidade de bactérias móveis, além de patógenos específicos como *Bacteriodes intermedius* e *Bacterioides gingivalis*.

As condições periodontais, dos pacientes que receberam o tratamento reabilitador por implantes osseointegrados, são um fator importante que pode estar associado à ocorrência da doença periimplantar. QUIRYNEN *et al.* (1996) estudaram parâmetros que influenciam a colonização intra-oral de conectores protéticos de titânio em 159 pacientes desdentados parciais que receberam implantes. Para tal, observaram a relação do dente natural com os implantes, a composição microbiana da placa bacteriana associada a esse dente e, finalmente, a frequência de bolsas periodontais nos dentes naturais. Os achados do estudo confirmaram a transmissão de microorganismos dos dentes aos implantes, razão pela qual, sempre

se deve manter uma saúde periodontal satisfatória quando esta alternativa de tratamento for empregada.

AUGTHUN *et al.* (1997) avaliaram os tipos de bactérias encontradas em defeitos ósseos periimplantares (> 5 mm). Utilizaram nesse estudo 12 pacientes edêntulos que possuíam 18 implantes ósseointegrados (sistema IMZ), que foram removidos de seus respectivos leitos. A análise microbiológica dos tecidos que envolviam os implantes indicou a presença em maior número de bactérias pertencentes à família Bacteroidacea (*Prevotella intermedia*, *Prevotella bucae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella denticola*); *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; *Fusobacterium nucleatum*; *Capnocytophaga ssp* e *Eikenella corrodens*. Segundo os autores, a flora encontrada é muito semelhante à encontrada em pacientes portadores de doença periodontal avançada.

No estudo de SALCETTI *et al.* (1997), os autores verificaram a presença dos microorganismos *Prevotella nigrescens*, *Prevotella micros*, *Fusobacterium nucleatum ss vicentii* e *Fusobacterium nucleatum ss nucleatum*, e de elevação do fluido clevicular gengival,

prostaglandinas E<sub>2</sub>, Interleucina 1 $\beta$  e fator de crescimento derivado da plaqueta em leitos periimplantares que apresentaram falhas, quando comparados a leitos saudáveis.

## **2.5 INTERFACE IMPLANTE / CONECTOR PROTÉTICO**

Uma vez que o sucesso depende de uma boa sustentação óssea, se a interface do implante com sua respectiva conexão protética não apresentar precisão e adaptação adequada, ela pode tornar-se fonte de problemas em potencial, visto que nesta área pode ocorrer crescimento bacteriano e comprometimento dos tecidos periodontais adjacentes, levando o tratamento ao fracasso (STEFLIK *et al.*, 1991).

O conector protético ou abutment é um pilar onde será adaptada a coroa que irá receber as cargas mastigatórias, transferindo-as ao implante. Ele é adaptado ao implante e fixado com um parafuso submetido a um torque ideal, e mantido na posição adequada. Também pode ser fixado através do uso de cimentação.

Este procedimento é de fundamental importância, uma vez que, se não ocorrer perfeita adaptação entre implante e conector, falhas na reabilitação protética são esperadas.

A existência de microfenda entre implante e conector protético é algo inevitável. No entanto, pode-se criar artifícios para que o significado clínico dessa fenda seja desprezível. A posição supracrestal da interface, o torque de adaptação do parafuso ao implante e o desenho do sistema são os principais achados que podem apresentar significância clínica.

A ausência de boa adaptação entre implante e conexão protética é um fator de risco, o qual levará a uma alteração nos parâmetros clínicos e microbiológicos dos tecidos periodontais. Por isso, muitos autores consideram de extrema importância obter perfeita adaptação da interface implante/conexão protética (MOMBELLI *et al.*, 1988; 1990; 1995).

SEWERIN (1989) comprovou através de exames radiográficos *in vitro* em conjuntos implante/conector protético, sistema

Brånemark, a presença dessa interface. Foram realizadas tomadas radiográficas em 4 ângulos, de 0° a 20°, com intervalo de 5°. No entanto, devido à grande variação nas imagens obtidas, o exame radiográfico não é o mais indicado para este tipo de investigação.

QUIRYNEN (1993) comprovou em estudo *in vivo* a infiltração bacteriana nos componentes internos do sistema Brånemark. Examinando a parte mais apical dos parafusos dos conectores protéticos submetidos à análise microbiológica após 3 meses, em 9 pacientes, o autor verificou a presença de bactérias em todas as amostras, sendo que 86,2% eram cocos, 12,3% bastonetes não-móveis e 1,5% restantes de espiroquetas e outros.

O desenho dos conectores protéticos influencia o acúmulo de placa bacteriana. MCCARTHY (1993) afirmou que os conectores angulados favorecem este acúmulo, uma vez que o orifício para a colocação do parafuso de conexão ao implante acha-se próximo à crista gengival. Uma alternativa para evitar esta ocorrência seria a obliteração deste orifício com cimento temporário à base de óxido de zinco e eugenol.

A fenda na interface implante/conector protético é encontrada em todos os sistemas de implantes estudados na literatura. O seu significado clínico é muitas vezes negligenciado pelos profissionais que utilizam os conectores sem o devido torque indicado pelo fabricante. GOHEEN *et al.* (1994) realizaram um estudo analisando o torque empregado para a colocação dos conectores protéticos, comparando o uso de um torquímetro calibrado e com o uso de torque manual. Verificaram que o torque manual é 3 vezes menor que o torque mecânico. Clinicamente, esta observação pode favorecer um aumento da interface implante / conector protético quando for usado o torque manual, permitindo assim troca de fluidos e bactérias entre a parte interna do implante e o meio bucal.

A falta de adaptação nesta interface é capaz de gerar alterações nos tecidos periimplantares, podendo ocorrer diferentes tipos de reações inflamatórias. ERICSSON *et al.* (1995) observaram em um modelo animal (cães) estas alterações. Cada cão recebeu 6 implantes, sendo que 4 receberam controle de placa bacteriana e dois não. Verificaram que todas as amostras que receberam rígido controle de placa bacteriana se encontravam clinicamente saudáveis, sendo

que o tecido conjuntivo do epitélio juncional estava livre de células inflamatórias. No entanto, no grupo onde não se realizou o controle, houve grande acúmulo de placa e cálculo nos implantes e conectores protéticos. A análise histológica revelou que o infiltrado de células inflamatórias se apresentaram em maior quantidade na interface implante / conector, nos dois grupos estudados.

VIDIGAL Jr. *et al.* (1995) estudaram, através da microscopia eletrônica, a interface implante/conexão protética de 5 sistemas de implantes de titânio (Brånemark System™, Screw-Vent, IMZ, TF e SR-Press) e observaram grande variação na interface de um sistema para outro, sendo aproximadamente 20 µm até 150 µm e concluíram que existe grande diferença de manufatura de um sistema para outro e que, em implantes sem boa adaptação entre os componentes, poderá ocorrer acúmulo de placa a longo prazo, causando periimplantite, a qual comprometerá a manutenção da osseointegração. Afirmaram ainda que dados na literatura mostram que um espaço entre o dente e uma restauração de 2 a 51 µm é considerado clinicamente aceitável, embora se saiba que uma bactéria tem em média cerca de 2 µm.

A maioria dos sistemas de implantes endósseos utilizados atualmente são cópias do sistema Brånemark. Sendo assim, é muito comum que componentes protéticos de diferentes sistemas sejam intercambiáveis, isto é, um implante de um sistema pode ser reabilitado com um conector protético de outro sistema distinto. DELLOW *et al.* (1997) avaliaram a interface implante / conector em 4 sistemas de implantes (Southern, Brånemark, Steri-Oss e Swed-Vent) que receberam diferentes conectores protéticos, sob microscopia eletrônica de varredura. Não foram verificadas diferenças significativas na interface implante / conector entre os sistemas.

JANSEN *et al.* (1997) realizaram uma análise microbiológica e por microscopia eletrônica de varredura de treze composições implante/conexão protética, com o intuito de verificar a presença de uma microfenda existente na interface implante/conector. A avaliação microbiológica foi feita através de um estudo *in vitro* onde foi inoculada uma solução contendo a bactéria *Escherichia coli* na porção mais apical da conexão protética e delicadamente adaptada ao implante. Cada composição foi colocada em um meio de cultura líquido, favorável ao crescimento da referida bactéria. Os autores também

realizaram a análise por microscopia eletrônica de varredura em todos os conjuntos. Verificaram que todas as composições apresentaram microfenda, sendo que esta era menor que 10 µm em todos os casos.

MAZZONETTO (1997) analisou a estrutura, a superfície e a adaptação da conexão protética de três implantes dentais endósseos, usando microscopia eletrônica de varredura, além da análise da composição química através de espectroscopia por dispersão de energia (EDS) e espectrometria de emissão atômica. A análise da interface implante/conector protético variou de acordo com o implante, mas de forma geral, todas as amostras apresentaram boa adaptação entre os componentes.

A perda da crista óssea associada com os implantes dentais possui um significado clínico bastante relevante. CALLAN *et al.* (1998) afirmaram que a localização da interface implante/conector protético é de fundamental importância na análise das causas da perda da crista óssea. Um estudo retrospectivo de 350 implantes, em 255 pacientes, indicou que existe relação direta entre a localização subgingival da interface implante/conexão protética e a perda óssea na região da

crista. Além desses achados, os autores também encontraram um acúmulo significativo de placa bacteriana na interface implante/conector protético em 45 implantes que falharam, analisados por microscopia eletrônica de varredura.

A microfenda, na interface implante/conector, pode ser capaz de causar odor desagradável, além de inflamação dos tecidos periimplantares. GROSS *et al.* (1999), comparando cinco sistemas de implantes (Brånemark System; Sulzer Calcitec; 3i; ITI e Steri-Oss), encontraram microfendas em todas as composições implante/conector protético. Os resultados indicaram que fluidos e pequenas moléculas são capazes de penetrar na estrutura interna de todas as composições analisadas, contribuindo em parte para os sinais clínicos de mal odor e periimplantite.

Um outro fator que pode interferir na interface implante/conector protético diz respeito ao torque empregado ao parafuso que retém o conector ao implante. Em geral, de acordo com o fabricante, os torques podem variar de 10N a 32 N. No entanto, durante a fase de confecção da coroa protética, pode ser necessária a retirada e

colocação do conector repetidas vezes. Tal operação pode alterar a superfície das roscas do parafuso e das roscas internas do implante, fazendo com que haja perda progressiva do torque ideal, favorecendo o aumento da interface conector protético / implante (WEISS, 2000).

BASTOS (2001) realizou uma análise química, microestrutural e da interface implante/conector protético de quatro sistemas de implantes dentários endósseos: Implamed, Master Screw, Titanium Fix e INP, divididos em grupos 1, 2, 3 e 4 respectivamente. A análise da interface implante/conector protético permitiu afirmar que os implantes do grupo 1 apresentaram melhor adaptação ( $2\mu\text{m}$ ). Na seqüência vieram o grupo 2 ( $5,77\mu\text{m}$ ), o grupo 4 ( $7,86\mu\text{m}$ ) e o grupo 3 ( $9,45\mu\text{m}$ ), tendo o tamanho da interface variado de  $1,2\mu\text{m}$  a  $14\mu\text{m}$ . Em geral, todos os sistemas de implantes avaliados apresentaram boa adaptação implante / conector protético.

HERMANN *et al.* (2001) estudaram as alterações que a microfenda pode gerar ao nível da crista óssea alveolar. Para tal, utilizaram um modelo animal (cão), onde foram instalados implantes na região mandibular. Verificaram que as alterações na crista óssea

alveolar ocorreram possivelmente por conta de movimentos dos conectores, sem que a fenda existente pudesse influenciar tal reabsorção da crista óssea alveolar.

PIATELLI *et al.* (2001) fizeram um estudo *in vitro* comparativo entre conectores parafusados (grupo 1) e cimentados (grupo 2), verificando a penetração de fluidos e bactérias na parte interna de 12 implantes. A análise por microscopia eletrônica de varredura comprovou a presença de microfenda entre implante e conector protético no grupo 1, que variou de 2 a 7 $\mu$ m. Já no grupo 2, a microfenda foi de 7 $\mu$ m; no entanto, ela estava sempre vedada por cimento. Em todos os implantes do grupo 1 houve presença de bactérias em sua porção interna. Em oposição, nenhum dos implantes do grupo 2 apresentou contaminação bacteriana. Os autores concluíram que os conectores protéticos cimentados oferecem melhores resultados em relação à penetração de fluidos e bactérias na parte interna dos implantes.

### **3. PROPOSIÇÃO**

Foi propósito do presente estudo avaliar a ocorrência ou não de infiltração bacteriana, através da interface implante/conector protético, em 3 sistemas de implantes disponíveis no mercado nacional, por meio de um estudo microbiológico *in vitro*.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

Para o presente estudo foram utilizados 30 implantes osseointegráveis de titânio e 30 conectores protéticos tipo “standart” de 3 marcas comerciais distintas. Os implantes foram divididos em 3 grupos com 10 unidades e 10 conectores protéticos, pertencentes a cada um dos sistemas Colosso<sup>®1</sup>, Conect<sup>®2</sup>, Globtek<sup>®3</sup> e recebendo a denominação de grupo 1, grupo 2 e grupo 3, respectivamente.

Os implantes do grupo 1 apresentavam 4 mm de diâmetro por 8,5 mm de altura (Fig. 01a). Os do grupo 2 de 4,3 mm de diâmetro por 10 mm de altura (Fig. 01b) e do grupo 3 de 3,75 mm de diâmetro por 10 mm de altura (Fig. 01c).

Os implantes foram recebidos dos fabricantes em amostras estéreis. Já os conectores protéticos dos grupos 1 e 2 foram acomodados individualmente em graus cirúrgicos e esterilizados em

---

<sup>1</sup> Emfils Implantes – Itu - Brasil

<sup>2</sup> Globtek System – Seoul - Korea

<sup>3</sup> Conexão Sistemas de Prótese – São Paulo - Brasil

autoclave à temperatura de 121°C durante 30 minutos. Os do grupo 3 foram recebidos lacrados e estéreis por irradiação gama.

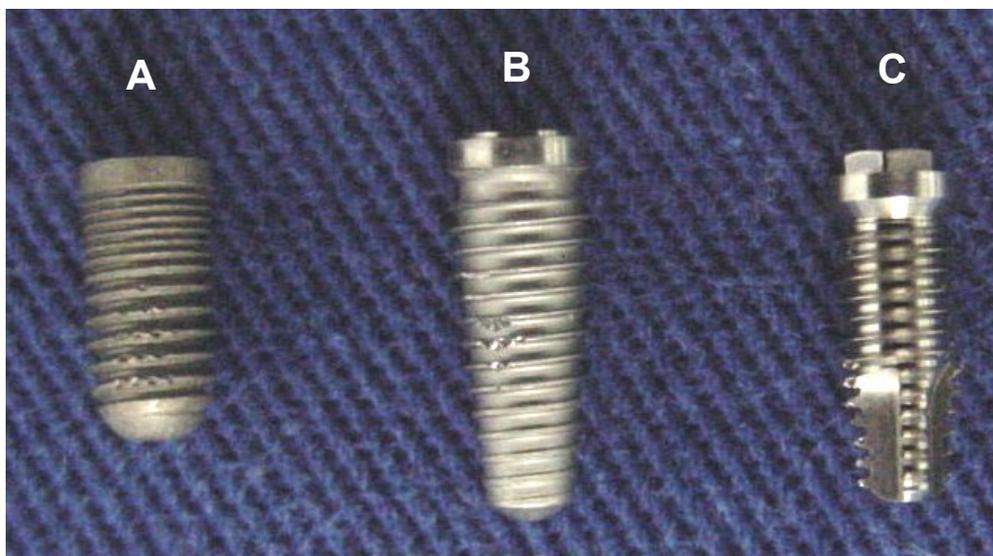


Figura 01 – a) Implante grupo 1 b) Implante grupo 2 c) Implante grupo 3

## 4.2. ATIVAÇÃO BACTERIANA

No presente experimento, foi empregada a bactéria *Streptococcus sanguis* ATCC 10556, cepa esta obtida do banco de microorganismos da Área de Microbiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp.

A bactéria foi ativada da seguinte maneira: 100 µl da cepa congelada foi depositada em 3 ml de caldo BHI<sup>4</sup> (Brain Heart Infusion). O cultivo foi feito em condições ideais (37°C / atmosfera de pCO<sub>2</sub> de 10%) por 24 horas em uma estufa bacteriológica padrão<sup>5</sup>.

A quantidade utilizada no experimento foi de 0,1µl de uma solução contendo a referida bactéria, para cada conjunto implante/conector protético. A fim de verificar se haveria o crescimento de *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 em quantidade tão ínfima, um estudo piloto foi realizado. A quantidade de 0,1µl da solução foi colocada em um tubo de ensaio<sup>6</sup> contendo o meio de cultura BHI (Fig. 02) e mantido por 24 h em estufa bacteriológica sob condições ideais.

---

<sup>4</sup> Merck GB - Germany

<sup>5</sup> Water-Jacked CO<sub>2</sub> Incubators/Cole Parmer Instruments - USA

Após este período de tempo, verificou-se a colonização bacteriana através do crescimento de colônias em uma placa de Petri<sup>6</sup> contendo o meio BHA<sup>7</sup> (Brain Heart Agar), comprovando a viabilidade do estudo (Fig. 03).



Figura 02 – Inoculação de 0,1µl da solução contendo *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 em caldo BHI.

---

<sup>6</sup> Pirex – São Paulo - Brasil

<sup>7</sup> Merck GB - Germany



Figura 03 – Colônias de *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 em placa de Petri contendo BHA, após cultivo por 24 h, em condições ideais.

#### **4.3. OBTENÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA**

Os meios de cultura utilizados no experimento foram o BHI (Brain Heart Infusion) e o BHA (Brain Heart Agar). O caldo foi obtido através da diluição de 37g do pó de BHI em 1l de água destilada, sendo então armazenado em autoclave e mantido por 15 minutos à 121°C. O BHA foi obtido de maneira similar, no entanto, a concentração foi de 52g/l de água destilada. Após a autoclavagem, a

solução obtida foi acondicionada em placas de Petri, quando atingiram a temperatura de 50°C.

#### **4.4. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA**

A manipulação dos implantes e conectores protéticos, bem como a inoculação das bactérias, foi realizada em condições favoráveis à mínima contaminação externa, no interior de uma capela microbiológica. Inicialmente, a área interna da capela foi iluminada durante 10 minutos por luz ultra-violeta e forrada com campo estéril. O experimento então foi realizado na zona reservada do interior da capela, na região asséptica do bico de Bunsen. Então, o operador, paramentado com luvas estéreis<sup>8</sup>, retirou do invólucro o implante. A fim de comprovar a esterilização do implante, um swab estéril foi utilizado (Fig.04), percorrendo todo o corpo do implante. Em seguida, o swab<sup>9</sup> foi acondicionado em um tubo Eppendorf<sup>10</sup> (Fig. 05), ao qual foi adicionado o meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion), sendo denominado swab 1(inicial).

---

<sup>8</sup> Madeitex – São Paulo - Brasil

<sup>9</sup> Swab – MS - 10379860005



Figura 04 – Swab estéril

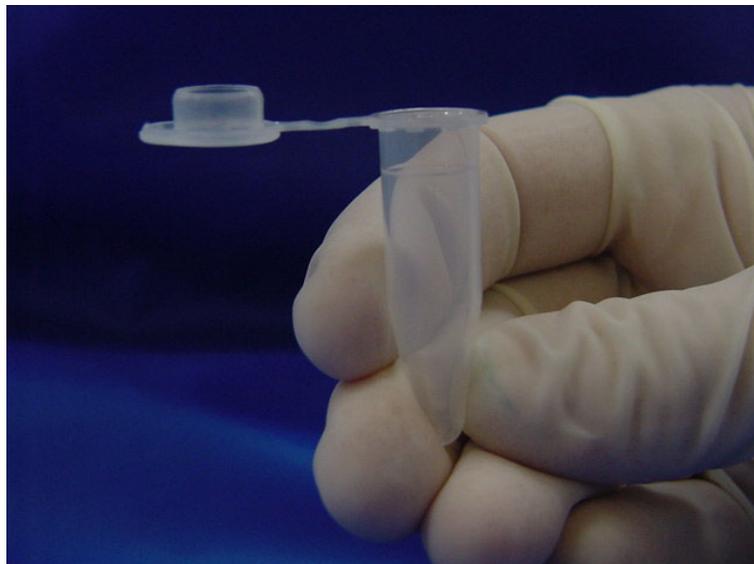


Figura 05 – Tubo Eppendorf®.

---

<sup>10</sup> Eppendorf AG – Hamburg - Germany

O implante foi apreendido com uma pinça para fio de aço<sup>11</sup> estéril e mantido na posição vertical (Fig.06). Com o auxílio de uma pipeta de precisão<sup>12</sup> calibrada em 0,1µl, de ponta estéril e descartável (Fig. 07 e 08), introduziu-se 0,1 µl de uma solução contendo *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 na parte interna do implante (Fig.09).



Figura 06 – Implante apreendido com uma pinça para fio de aço e mantido na posição vertical.

---

<sup>11</sup> Schobell – Rio Claro - Brasil

<sup>12</sup> Parker Instruments - USA



Figura 07 - Pipeta de precisão.

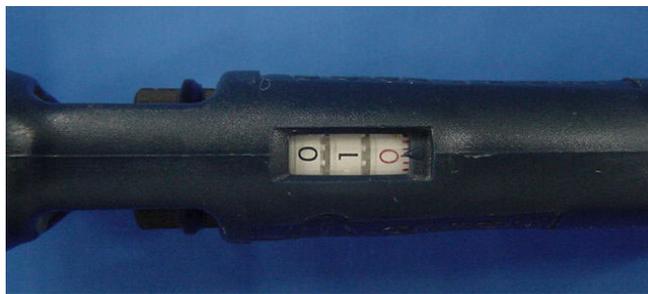


Figura 08 – Calibração em 0,1  $\mu$ l.



Figura 09 – Inoculação de 0,1  $\mu$ l da solução de *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 na parte interna do implante.

O conector protético foi então removido de seu invólucro, e adaptado ao implante. Uma chave de torque<sup>13</sup> (fig.10) foi adaptada ao parafuso do conector protético (Fig.11) e com o auxílio de um torquímetro<sup>14</sup> manual (Fig.12), rosqueado até que o torque de 30 Ncm fosse atingido, comprovado pela angulação final que a extremidade do torquímetro assumiu após essa etapa (Fig. 13).

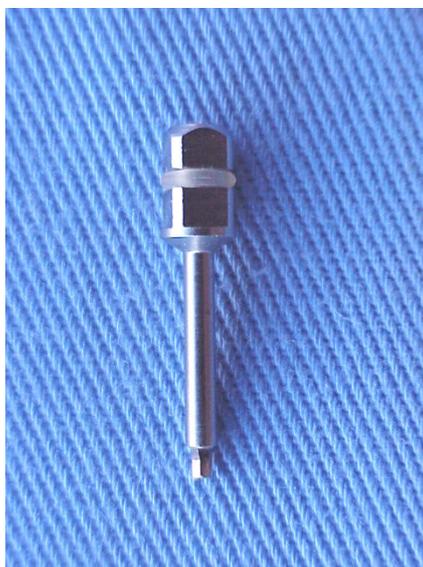


Figura 10 – Chave de Torque

---

<sup>13</sup> Conexão Sistemas de Prótese – São Paulo - Brasil

<sup>14</sup> Lifecore Biomedical Inc - USA

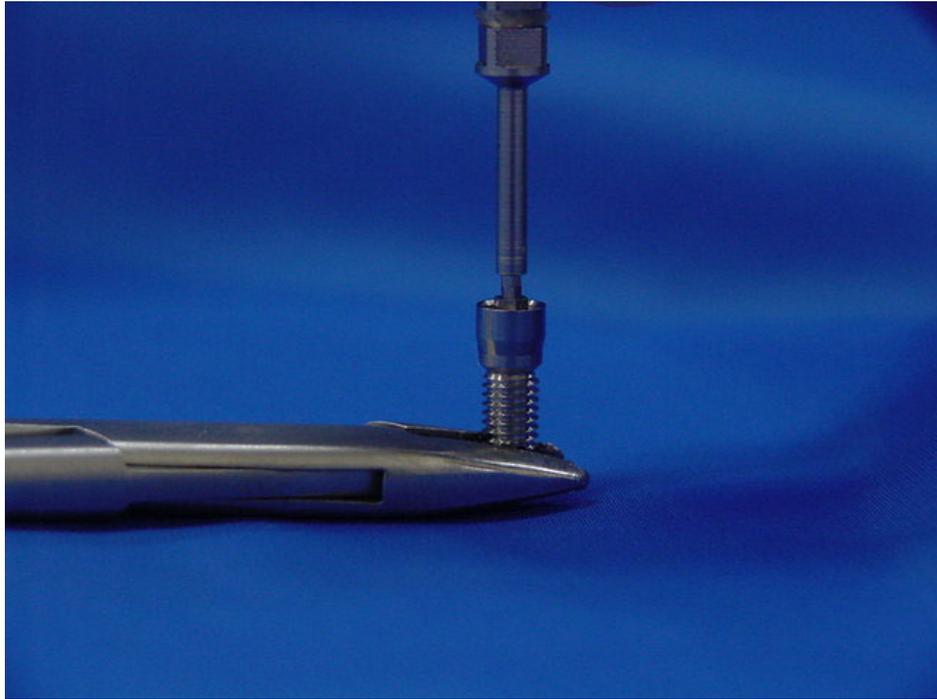


Figura 11 – Adaptação da chave de torque ao parafuso do conector protético



Figura 12 – Torquímetro



Figura 13 - Angulação assumida pelo torquímetro, quando o torque de 30 Ncm foi atingido.

O conjunto implante/conector protético foi submetido à nova inspeção com um swab estéril (Fig. 14), a fim de comprovar a ausência de contaminação externa durante o procedimento. Este swab foi colocado em um Eppendorf (Fig. 15) ao qual se adicionou o meio de cultura BHI, sendo denominado de swab 2(final). O conjunto implante/conector protético também foi introduzido cuidadosamente em um Eppendorf, ficando totalmente imerso em caldo BHI (Fig. 16 e 17). Cada implante foi identificado com uma etiqueta, sendo numerados de 1 a 10, e separados por grupos 1, 2 e 3.



Figura 14 – Inspeção após a inoculação da solução de *Streptococcus sanguis* ATCC 10556.

Os Eppendorfs contendo os implantes, o swabs inicial e o swab final foram então acondicionados em estojo próprio, mantidos na posição vertical e levados a uma estufa bacteriológica. O cultivo foi

feito em condições ideais por 14 dias, em estufa bacteriológica padrão. Estes procedimentos foram realizados para cada implante, sendo que o operador trocou de luvas a cada inoculação, bem como as pontas da pipeta. As amostras foram então observadas a cada 24 h, durante 14 dias. Observações a olho nu foram realizadas a fim de verificar a presença de contaminação visível. No caso de suspeita de contaminação do meio, uma amostra da solução contida no interior do Eppendorf foi colhida com uma alça microbiológica, espalhada em uma placa de Petri contendo BHA (Brain Heart Agar) e levada à estufa bacteriológica, a fim de se comprovar a contaminação.



Figura 15 – Colocação do swab 2 no interior do Eppendorf.



Figura 16 – Introdução do conjunto implante / conector protético no interior do Eppendorf.



Figura 17 - Caldo de BHI adicionado e vedamento do Eppendorf.

Quando houve contaminação do swab 1 e/ou 2, os referidos implantes de cada grupo foram excluídos da amostra.

#### **4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA ENTRE OS GRUPOS**

Os grupos 1, 2 e 3 foram submetidos à análise estatística, utilizando-se o teste de *Kruskal-Wallis* para a comparação entre os sistemas, no que diz respeito ao índice de contaminação.

## 5.RESULTADOS

### 5.1. AMOSTRAS VIÁVEIS

Conforme a metodologia aplicada, foram excluídas do estudo as amostras que apresentaram crescimento bacteriano nos swabs 1 e/ou 2. A tabela 01 representa as amostras viáveis, segundo cada grupo estudado. As tabelas 02, 03 e 04 mostram o comportamento de cada grupo em relação à seleção das amostras viáveis para o estudo.

	<i>GRUPO 1</i>	<i>GRUPO 2</i>	<i>GRUPO 3</i>
AMOSTRAS VIÁVEIS	8	8	7

TABELA 01: Amostras viáveis para a análise, por grupo de sistemas avaliados.

<i>AMOSTRA</i>	<i>SWAB 1</i>	<i>SWAB 2</i>
01	-	-
02	-	-
03	-	-
04	-	-
05	-	-
06	-	-
07	-	-
08	-	S. sanguis
09	-	-
10	-	S. sanguis

TABELA 02: Seleção das amostras viáveis, grupo 1.

<i>AMOSTRA</i>	<i>SWAB 1</i>	<i>SWAB 2</i>
01	-	-
02	-	-
03	-	-
04	x-externa	-
05	-	-
06	-	-
07	-	-
08	-	-
09	-	S. sanguis
10	-	-

TABELA 03 - Seleção das amostras viáveis, grupo 2.

<i>AMOSTRA</i>	<i>SWAB 1</i>	<i>SWAB 2</i>
01	-	-
02	-	S.sanguis
03	-	S.sanguis
04	-	-
05	-	-
06	-	-
07	-	-
08	-	-
09	-	-
10	-	S. sanguis

TABELA 04 - Seleção das amostras viáveis, grupo 3.

## 5.2. CONTAMINAÇÃO BACTERIANA

A tabela 05 demonstra a taxa em números percentuais dos grupos estudados, em relação à contaminação bacteriana. A média dos dias para contaminação, segundo cada grupo analisado, está expressa na tabela 06.

	<i>GRUPO 1</i>	<i>GRUPO 2</i>	<i>GRUPO 3</i>
CONTAMINAÇÃO (%)	87,5%	87,5%	71,43%

TABELA 05 - Percentual de contaminação, segundo cada grupo avaliado.

	<i>GRUPO 01</i>	<i>GRUPO 02</i>	<i>GRUPO 03</i>
MÉDIA (DIAS)	1,14	3	4,8

TABELA 06 - Média do número de dias para a verificação de contaminação bacteriana, segundo cada grupo avaliado.

### 5.3. RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

O resultado do teste estatístico de *Kruskal-Wallis* indicou que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0789$ ) entre os grupos estudados ( $p>0,05$ ).

## 6. DISCUSSÃO

Analisando os resultados obtidos, verificamos que todos os sistemas de implantes empregados neste estudo apresentaram evidências de infiltração bacteriana na interface implante/conector protético, assim como trabalho desenvolvido por JANSEN *et al.* (1997), onde foram observadas 13 composições de implantes/conectores protéticos dos sistemas Ankylos®, Astra®, Bonelit® com abutment cônico, Bonelit® com abutment Octa®, Brånemark®, Calcitek®, Frialit-2® com abutment tratado com silicone, Frialit-2 com abutment padrão, Ha-Ti com coroa base, Ha-Ti com pilar telescópico, IMZ com TIE, IMZ com inserção IMC e Semados. As composições foram submetidas a análise microbiológica que consistiu na contaminação da parte mais apical do parafuso do conector protético com a bactéria *Escherichia coli*. Os conectores foram então parafusados aos implantes e imersos em um caldo de crescimento bacteriano (BHI). Todos os sistemas apresentaram contaminação bacteriana visível, no entanto, o grupo Frialit –2, que apresentou conector protético tratado com silicone, apresentou uma taxa de contaminação inferior aos demais.

Comparando os grupos estudados em nosso trabalho, pudemos verificar que o grupo 3 apresentou uma taxa inferior aos demais grupos (Tabelas 05 e 06). No entanto, a análise estatística empregada não mostrou uma diferença significativa.

A bactéria empregada (*Streptococcus sanguis* ATCC 10556) apresenta tamanho variando entre 0,8 a 1,0  $\mu\text{m}$  em média. BASTOS (2001), analisando 4 sistemas de implantes de 2 estágios das marcas comerciais Implamed®, Master Screw®, Titanium Fix® e INP®, em relação ao tamanho da interface implante/conector protético, encontrou valores médios em  $\mu\text{m}$  de 2,0 ; 5,77 ; 9,45 e 7,86, respectivamente. VIDIGAL Jr *et al.*, (1995) encontraram valores na ordem de 20  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$  e 150  $\mu\text{m}$ . CALLAN *et al.*, (1998), entre 30  $\mu\text{m}$  e 135  $\mu\text{m}$  e DELLOW *et al.*, (1997) entre 0 e 7,15  $\mu\text{m}$ . Logo, é lícito afirmar que devido à existência da interface, a possibilidade de trocas de fluídos e microorganismos é bastante evidente.

Estudos *in vivo* comprovam esta possibilidade. QUYRINEM & STEENBERGHE (1993) verificaram a presença de microorganismos

na parte interna dos implantes, 3 meses após a colocação do pilar intermediário.

ORSINI *et al.* (2000) relataram um caso clínico de uma paciente de 72 anos de idade que recebeu 2 implantes osseointegrados, sendo que, após 5 meses, veio a falecer. Os autores retiraram o bloco ósseo que continha os implantes e verificaram, após análise histológica, que havia infiltrado inflamatório nos tecidos adjacentes à junção implante/conector protético. Observaram ainda a presença de bactérias na porção interna dos implantes. Em nosso estudo, comprovamos também esta microinfiltração. Segundo ORSINI *et al.* (2000), esta microinfiltração ocorre sempre em implantes de 2 estágios, como os utilizados em nosso trabalho.

O significado clínico da existência da interface é muitas vezes não observado pela maioria dos profissionais que realizam reabilitações por implantes osseointegrados. A perfeita adaptação entre o componente protético e o implante, bem como a localização da interface são fatores importantes para o sucesso a longo prazo do tratamento (STEFLIK *et al.*, 1991).

Outro fator que deve ser considerado é o torque empregado para a adaptação e estabilidade dos conectores protéticos. O torque utilizado em nosso estudo foi de 30 N, obtido com o uso de um torquímetro calibrado.

WEISS *et al.*, (2000) observaram que a remoção e recolocação dos conectores, por vezes repetidas, diminui o torque do conector protético no implante, aumentando teoricamente a interface. No entanto, verificamos que mesmo com o torque de 30 N, todos os sistemas apresentaram falhas neste parâmetro.

SCHULTE *et al.*,(1997) afirmaram que, para se obter máxima retenção do conector protético ao implante, este torque deve ser empregado. A microinfiltração bacteriana, de acordo com nossos resultados, não possui dependência em relação à quantidade de torque utilizado. Empregamos o torque de 30 N, em todas as unidades estudadas, conforme a orientação dos fabricantes e a fim de padronizar o estudo. No entanto, não nos parece coerente afirmar que a microinfiltração se deva a este parâmetro.

Observando o número de dias para a contaminação, os implantes do grupo 01 apresentaram uma taxa elevada de contaminação, sendo que 6 dos 8 implantes analisados apresentaram contaminação bacteriana nas primeiras 24 h. NAKAZATO *et al.*(1991) verificaram que em 4 h já existe formação de colônias bacterianas na superfície dos conectores protéticos estudados, logo, na interface implante/conector protético, existe tal possibilidade.

Durante 14 dias os implantes foram observados quanto à a possibilidade de contaminação, corroborando com KOKA *et al.* (1993), que verificaram a colonização bacteriana supragengival em torno desse mesmo intervalo de tempo. A bactéria que empregamos faz parte da formação da placa bacteriana inicial e, segundo este autor, em até 14 dias é capaz de permitir a colonização secundária subgengival, se permanecer nesse nicho.

Um fator bastante relevante é a localização desta interface em relação à crista alveolar. CALLAN *et al.* (1998) verificaram que a proximidade da interface implante / conector protético com a crista óssea alveolar aumenta a reabsorção óssea na região, devido essa

área possuir um acúmulo bacteriano intenso. Em nosso estudo, pudemos comprovar que colônias bacterianas desenvolvem-se na interface, advindas da parte interna dos implantes. No entanto, acreditamos que para o desenvolvimento de patologia periimplantar, este não seja o fator preponderante. Assim como na doença periodontal, os riscos de desenvolvimento da patologia periimplantar acham-se associados ao hospedeiro. Dieta, higiene oral, flora residente, histórico de doença periodontal, hábitos nocivos, como tabagismo, e alterações no equilíbrio hormonal são fatores de risco que devem ser considerados (QUIRYNEN *et al.* 2002).

Em relação ao desenho dos implantes utilizados no presente estudo, os implantes dos grupos 1 e 2 apresentaram hexágono interno e os do grupo 3, hexágono externo. Embora os últimos tenham demonstrado melhores resultados, não se pode afirmar que um tipo de desenho é superior a outro, visto que os resultados foram semelhantes e a amostra utilizada não foi suficiente para esta avaliação.

Vale ressaltar que é necessária a realização de novos estudos para que sejam encontradas formas de se evitar esta

microinfiltração, visto que, confrontando os dados da literatura com os resultados obtidos, os mesmos se acham semelhantes. Portanto, é licito afirmar que a existência de infiltração bacteriana pela interface implante/conector protético realmente existe, e a longo prazo, pode comprometer a estabilidade das implantações, associadas a outros fatores já mencionados (JANSEN *et al.*, 1997; GROSS *et al.*, 1999; PIATELLI *et al.*, 2001).

## 7.CONCLUSÃO

Nas condições experimentais do presente estudo, parece-nos lícito afirmar que:

1. Todos os sistemas de implantes avaliados apresentaram evidências de microinfiltração bacteriana através da interface implante/conector protético.
2. A troca de fluidos e bactérias por meio desta interface pode comprometer a estabilidade a longo prazo dos implantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADELL, R. *et al.* Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (I). A 3-year longitudinal prospective study. Int J Oral Maxillofac Surg, Copenhagen, v. 15, n.1, p. 39-52, 1986.
2. ALBREKTSSON, T. A multicenter report on osseointegrated oral implants. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.60, n.1, p. 75-84, 1988.
3. ALBREKTSSON, T.; SENNERBY, L. State of art in oral implants. J Clin Periodontol, Copenhagen, v.18, p. 474-480, 1991.
4. AUGTHUM, M.; CONRADS, G. Microbial findings of deep peri-implant bone defects. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.12, n.1, p. 106-112, 1997.
5. BASTOS, E.G. Análise química, microestrutural e da interface implante – pilar intermediário de quatro sistemas de implantes dentários endo-ósseos. Piracicaba, 2001. 113p. Tese (Doutorado em Clínica Odontológica – Área de Cirurgia Bucomaxilofacial). Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
6. BAUMAN, G.R. *et al.* Clinical parameters of evaluation during implant maintenance. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.7, n.2, p. 220-227, 1992a.
7. BAUMAN, G.R. *et al.* Plaque-induced inflammation around implants. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.7, n.3, p. 330-337, 1992b.
8. BAUMAN, G.R. *et al.* The peri-implant sulcus. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.8, n.3, p. 273-280, 1993.
9. BECKER, W. *et al.* Clinical and microbiological findings that may contribute to dental implant failure. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.5, n.1, p. 31-38, 1990.

10. BLOCK, M.S.; KENT, J.N. Long-term follow up on hydroxiapatite coated cylindrical dental implants: a comparision between developmental and recent periods. J Oral Maxillofac Surg, Philadelphia, v.52, p.937-943, 1994.
11. BRÅNEMARK, P.I. *et al.* Intra-osseous anchorage of dental protheses I. Experimental studies. Scand J Plast Reconstr Surg, Oslo, v.3, p. 81-100, 1969.
12. BRÅNEMARK, P.I. Introduction on osseointegration. *In*: BRÅNEMARK, P.I.; ZARB, G.A.; ALBREKTSSON, T. Tissue-integrated protheses: osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Quintessence Publishing, 1985. Cap.1, p.11-76.
13. BUSER, D. *et al.* Titanium implants with true periodontal ligament: an alternative to osseointegrated implants? Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.5, n.2, p. 113-116, 1990.
14. CALLAN, D.P.; O'MAHONY, A.; COBB, C.M. Loss of crestal bone around dental implants: a retrospective study. Implant Dent, v.7, n.4, p. 258-266, 1998.
15. COX, J.F.; ZARB, G.A. The longitudinal clinical efficacy of osseointegrated dental implants. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.2, n.1, p.92-100, 1987.
16. DELLOW, A.G.; DRIESSEN, C.H.; NEL, H.J.C. Scanning electron microscopy evaluation of the interfacial fit interchanged components of four dental implant systems. Int J Prosthodontic, Gothenburg, v.10, n.3, p. 216-221, Jun, 1997.
17. DHARMAR,S. *et al.* Subgengival microbial flora associated with brånemark implants. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.9 n.3, p. 314-318,1994.
18. EDGERTON, M.; LO, S.E.; SCANNAPIECO, F.A. Experimental salivary pellicles formed on titanium surfaces mediate adhesion of streptococci. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.11, n.4, p. 443-449, 1996.

19. ERICSSON, I. *et al.* Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. J Clin Periodontol, Copenhagen, v. 22, p. 255-261, 1995.
20. GOHEEN, K.L. *et al.* Torque generated by handheld screwdrivers and mechanical torquing devices for osseointegrated implants. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.9 n.2, p. 149-155, 1994.
21. GROSS, M.; ABRAMOVICH, I.; WEISS, E.I. Microleakage at abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.14 n.1, p.94-100, 1999.
22. HERMANN, J.S. *et al.* Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. J Periodontol, Chicago, v. 72, p. 1372-1383, 2001.
23. JAGGERS, A.; SIMONS, A.M.; BADR, S.E. Abutment selection for anterior single tooth replacement. A clinical report. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.69, n.2. p.133-135, 1993.
24. JANSEN, V.K.; CONRADS, G.; RICHTER, E.J. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.12 n.4, p.527-540, 1997.
25. KAISER, D.A.; JONES, J.D. New impression system for ITI solid abutment cementable restoration. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.83, n.3, p.276-278, 2000.
26. KASTEMBAUM, F. *et al.* The estheticone™ abutment: three-year results of a prospective multicenter investigation. Clin Oral Implants Res, Copenhagen, v.9, n.3, p. 178-184, 1998.
27. KOHAVI, D. *et al.* Subgingival and supragingival microbial flora around healthy osseointegrated implants in partially edentulous patients. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.9 n.6, p. 673-678, 1994.

28. KOKA, S. *et al.* Microbial colonization of dental implants in partially edentulous subjects. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.70, n.2, p. 141-144, 1993.
29. KONONEM, M. *et al.* Effect of surface processing on the attachment, orientation and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. J Biomed Mater Res, New York, v.26, p. 1325-1341, 1992.
30. LANG, L.A.; WANG, R.F.; MAY, K.B. The influence of abutment screw tightening on screw joint configuration. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.87, n.1, p. 74-79, 2002.
31. LEE, K.H.; MAIDEN, M.J.F.; WEBER, H.P. Successful osseointegrated dental implants. J Periodontol, Chicago, v.70, p. 131-138, 1999.
32. LEONHARDT A. *et al.* Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. Clin Oral Implants Res, Copenhagen, v.13, n.2, 2002.
33. LINDHE, J.; BERGLUND, T. The interface between the mucosa and the implant. Periodontology 2000, Copenhagen, v. 17, p. 47-54, 1998.
34. LISTGARDEN, M.A. Microorganisms and dental implants. Periodontol, Copenhagen, v.70, n.2, p. 220-221, 1999.
35. MAZZONETTO, R. Análise da estrutura, da superfície e da adaptação da conexão protética de três implantes dentários endósseos. Estudo *in vitro*. Araçatuba, 1997. 151p. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista.
36. MCCARTHY, G.R.; GUCKES, A.D. Preventing bacterial colonization associated with two types of implant abutments. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.70, n.3, p. 479, 1993.

37. MEFFERT, R.M.; LANGER, B.; FRITZ, M.E. Dental implants: a review. J Periodontol, Chicago, v.63, n.11, p.859-870, 1992.
38. MOMBELLI, A.; BUSER, D.; LANG,N.P. Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Oral Microbiol Immunol, Copenhagen, v.3, p. 113-20, 1988.
39. MOMBELLI, A.; MERICSKE-STERN, R. Microbiological features of stable osseointegrated implants used as abutment for overdentures. Clin Oral Implants Res, Copenhagen, v.1, p.1-17, 1990.
40. MOMBELLI, A. *et al.* The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. J Clin Periodontol, Copenhagen, v.22, p. 124-130, 1995.
41. NAKAZATO, G. *et al.* In vivo plaque formation on implant materials. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.4 n.4, p.321-325, 1989.
42. NORTON, M.R. Assessment of cold welding properties of internal conical interface of two commercially available implant systems. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.81, n.2, p. 159-166, 1999.
43. NORTON, M.R. In vitro evaluation of the strength of the conical implant-to-abutment joint in two commercially available implant systems. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.83, n.5, p. 567-571, 2000.
44. O'MAHONY A.; MACNEILL S.R.; COBB C.M. Design features that may influence bacterial plaque retention: a retrospective analysis of failed implants. Quintessence Int, Chicago, v.31, n.4, p. 249-256. 2000.
45. ORSINI, G. *et al.* Tissue reactions, fluids and bacterial infiltration in implants retrieved at autopsy: a case report. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.15, n.2, p. 32-42, 2000.

46. PIATELLI, A. *et al.* Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. J Periodontol, Chicago, v.72, p. 1146-1150, 2001.
47. QUIRYNEN, M.; van STEENBERGHE, D. Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants. An in vivo study. Clin Oral Implants Res, Copenhagen, v.4, n.3, p. 158-161, 1993.
48. QUIRYNEN, M. *et al.* The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.11, n.2, p. 169-178, 1996.
49. QUIRYNEN, M.; PAPAIOANNOU, W.; van STEENBERGHE, D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. J Periodontol, Chicago, v.67, p. 986-993, 1996.
50. QUIRYNEN, M.; de SOETE, M.; van STEENBERGHE. Infections risks for oral implants: a review of the literature. Clin Oral Implants Res, Copenhagen, v.13, n.1, p. 1-19, 2002.
51. RIMONDINI, L. *et al.* The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. J Periodontol, Chicago, v.68, p. 556-562, 1997.
52. SALCETTI, J.M. *et al.* The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.12, n.1, p. 32-42, 1997.
53. SALONEN, M.A.A. *et al.* Failures in the osseointegration of endosseous implants. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.8, n.1, p. 92-96, 1993.
54. SANZ, M. *et al.* Characterization of the subgingival microbial flora around endosteal sapphire dental implants in partially edentulous patients. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.5, n.3, p. 247-253, 1990.

55. SEWERIN, I.P. Radiographic control of fixture-abutment connection in Brånemark implant technique. Scand J Dent Res, Oslo, v.97, p. 559-64, 1989.
56. SPIEKERMANN, H. Historical Perspectives *In: SPIEKERMANN et al. Color Atlas of Dental Medicine - Implantology*. Stuttgart, Thieme Verlag, 1995, Cap.1, p.1-2.
57. STEFLIK, D.E. *et al.* Dental implants retrieved from humans: a diagnostic light microscopy review of the findings in seven cases of failure. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.6, n.2, p.147-153, 1991.
58. VIDIGAL Jr. *et al.* Evaluation of the implant-connection interface using scanning electron microscopy. Braz Dent J, Ribeirão Preto, v. 6, n.1, 1995.
59. VIGOLO, P.; MAJZOUB, Z; CORDIOLI, G. Measurement of the dimensions and abutment rotational freedom of gold-machine 3i UCLA-type abutments in the as-received condition, after coating with a noble metal alloy and porcelain firing. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.84, n.5, p. 548-553, 2000.
60. WEISS, E.I.; KOZAK, D.; GROSS, M.D. Effect of repeated closures on opening torque values in seven abutment-implant systems. J Prosthet Dent, Saint Louis, v.84, n.2, p. 194-199, 2000.
61. WOLLINSKY, L.F. *et al.* A study of in vitro attachment of *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus* to saliva-treated titanium. Int J Oral Maxillofac Implants, Lombard, v.4 n.1, p. 27-31, 1989.
62. ZARB, G.A.; ALBREKTSSON, T. Osseointegration: a requiem for the periodontal ligament? Int J Periodont Rest Dent. New Mexico, v.11, p.88-91, 1991.